

ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ



АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Сборник материалов Конгресса молодых ученых
24–25 мая 2018 г.



ТОМСК

ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Сборник материалов конгресса молодых ученых
24–25 мая 2018 г.

Издательство Томского университета
2018

ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

УДК: 616

ББК: 5

Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины: сборник материалов конгресса молодых ученых, 24–25 мая 2018 г. [Электронный ресурс] / под ред. Е.Л. Чойнзона, Э.В. Галажинского, С.В. Попова, Н.А. Бохана, В.А. Степанова, В.В. Жданова; Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томский государственный университет. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2018. – 516 с. – URL:http://tnimc.ru/upload/publications/proceedings/2018_young.pdf

ISBN 978-5-7511-2549-3

Сборник содержит материалы Конгресса молодых ученых «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины» и отражает основные достижения исследований молодых специалистов разных уровней, от студентов, практических врачей до докторов наук. Конференцию отличает междисциплинарный характер. В сборнике представлены научные статьи онкологов, кардиологов, медицинских генетиков, психиатров, фармакологов, радиологов, молекулярных биологов, химиков, физиков и специалистов смежных областей. Сборник материалов Конгресса молодых ученых предназначен для исследователей в области как фундаментальной, так и клинической медицины.

УДК: 616

ББК: 5

Рецензенты:

проф. Н.В. Чердынцева, к.б.н. М.А. Булдаков, д.м.н. В.В. Рябов,
д. м.н. Е.В. Гракова, проф. С.А. Иванова, проф. РАН И.Н. Лебедев,
к.б.н. С.А. Васильев, проф. В.В. Удут, проф. РАН Г.Н. Зюзьков

ISBN 978-5-7511-2549-3

©Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, 2018
© Томский государственный университет, 2018

©Tomsk National Research Medical Center
of the Russian Academy of Sciences
© National Research Tomsk State University

TOMSK NATIONAL RESEARCH MEDICAL CENTER
OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES
NATIONAL RESEARCH TOMSK STATE UNIVERSITY

PROCEEDINGS OF
THE CONFERENCE OF YOUNG SCIENTISTS

CURRENT ISSUES OF BASIC AND CLINICAL MEDICINE

24–25 MAY 2018

Publishing house of Tomsk University
2018

TOMSK NATIONAL RESEARCH MEDICAL CENTER OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES
NATIONAL RESEARCH TOMSK STATE UNIVERSITY

UDC: 616

LLC: 5

Current issues in basic and clinical medicine: proceedings of the conference of young scientists, May 24–25, 2018 [Electronic resource] / ed. by E. L. Choinzonov, E. V. Galazhinsky, S. V. Popov, N. A. Bohan, V. A. Stepanov, V. V. Zhdanov; Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk State University. - Tomsk: Publishing house of Tomsk University, 2018. – 516 p. – URL:http://tnimc.ru/upload/publications/proceedings/2018_young.pdf

ISBN 978-5-7511-2549-3

The Proceedings contain the papers presented at the Conference of Young Scientists and describe achievements of young researches in the field of basic and clinical medicine. The conference is distinguished by its interdisciplinary approach. The Proceeding provide the papers of oncologists, cardiologists, medical geneticists, psychiatrists, pharmacologists, radiologists, molecular biologists, chemists, physicists and specialists in related fields.

UDC: 616

LLC: 5

Reviewers:

prof. N. V. Cherdyntseva; M. A. Buldakov, PhD; V. V. Ryabov,
D.Sc.; E.V. Grakova, DSc; Prof. S.A. Ivanova; Prof. I. N. Lebedev;
S. A. Vasiliev, Ph.D ; Prof. V. V. Udut; Prof. G. N. Zyuzkov.

ISBN 978-5-7511-2549-3

©Tomsk National Research Medical Center of
the Russian Academy of Sciences,2018
© National Research Tomsk State University, 2018

КАРДИОЛОГИЯ

АНТИТРОМБОТИЧЕСКИЙ ШОВНЫЙ МАТЕРИАЛ В СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ

Т.Н. Акентьева

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний,
г. Кемерово, Россия

Аннотация

На отдаленные результаты хирургического вмешательства, в частности реконструктивные операции на сердце и сосудах, значительное влияние оказывает шовный материал. Несмотря на большой выбор шовного материала, на рынке отсутствуют нити с направленным антитромботическим действием. Для повышения тромбрезистентных свойств шовного материала наиболее перспективным способом является нанесение биodeградируемого покрытия на основе биополимера класса полиоксиданов и нефракционированного гепарина методом химического иницирования. Наиболее прочное и равномерное антитромботическое покрытие полипропиленовой нити обеспечивает многоступенчатая химическая реакция. Исследование полноты прививки гепарина к субстрату проводилось методом спектроскопии диффузного рассеяния, которое показало прочное и равномерное расположение гепарина на поверхности полимера.

Ключевые слова: шовный материал, тромбоз, антитромботическое покрытие, химическое иницирование, полимер, гепарин.

ANTITHROMBOTIC SUTURE MATERIAL IN CARDIOVASCULAR SURGERY

T.N. Akentyeva

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia

Abstract

Suture material has significant influence on long-term results of surgical interventions and, particularly, cardiovascular reconstructive surgeries. Despite the great choice of suture material presented on the market, there are no sutures with directional antithrombotic effect. In order to increase thromboresistant properties of suture material, the most promising method is to apply a biodegradable coating composed of bio-based polymer, polyhydroxyalkanoate, and unfractionated heparin, which have been substrated via initiated chemical process. The most durable and uniform antithrombotic coating of polypropylene suture is achieved through multi-stage chemical reaction. Completeness of heparin vaccinations to the substrate was assessed by the diffuse scattering spectroscopy, which has shown a strong and uniform location of heparin on the polymer surface.

Keywords: suture material, thrombosis, antithrombotic coating, chemical initiation, polymer, heparin.

Число реконструктивных операций на различных сосудистых бассейнах ежегодно увеличивается. Наиболее частым осложнением данных операций является тромбоз сосудистого протеза, одной из причин которого является шовный материал, выступающий в просвет сосуда и превращающий зону анастомоза в очаг тромбообразования [1–3]. Поэтому актуальным вопросом в сердечно-сосудистой хирургии является создание шовного материала, способного оказывать антитромботический эффект и тем самым снижать риск развития послеоперационных осложнений.

На сегодняшний день рынок шовных материалов богат и разнообразен, но при этом отсутствуют нити с направленным антитромботическим действием. Поэтому целью нашей работы стало создание шовного материала, способного оказывать выраженный антитромботический эффект.

Материал и методы. В работе использовали нить на основе полипропилена «Serapren 3,0», которая наиболее часто применяется в сердечно-сосудистой хирургии. Для последующей модификации на поверхность шовного материала наносили слой биodeградируемого полимера – 3-полигидрокибутиратоксивалериата (ПГБВ) с молекулярной массой 280 КДа, синтезированного в Институте биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН (г. Пушкино, Московская область). В качестве лекарственного вещества, оказывающего антитромботический эффект, использовали нефракционированный гепарин («Белмедпрепараты», Беларусь).

Модификацию шовного материала нефракционированным гепарином проводили в три стадии. На первой стадии проводили инициацию центров привитой сополимеризации на поверхности слоя биополимера методом озонирования. Второй этап был посвящен созданию дополнительного подслоя полиметакрилоилхлорида, имеющего в своем составе активные хлорангидридные группы, которые могут образовывать с гепарином прочные ковалентные связи. Затем проводилась химическая прививка гепарина на образованный подслоя из его раствора в бикарбонатном буфере при температуре 2–5 °С в течение 10 ч. Состоятельность химической прививки гепарина к поверхностному слою шовного материала проводили методом спектроскопии комбинационного рассеяния света (КРС) высокого пространственного разрешения («микро-Раман» или «микро-КРС» спектроскопии), с применением спектрометра «Horiba LabRam HR800» (Франция).

Результаты и обсуждение. При изучении поверхности модифицированного шовного материала методом микро-Раман спектроскопии было подтверждено наличие слоя гепарина, который располагался тонким равномерным слоем. Полученные спектры в диапазоне $100 \times 1800 \text{ см}^{-1}$ разнесены сверху вниз по мере заглубления каустики возбуждающего лазерного луча внутрь покрытия. Условная координата центра каустики по глубине в образце указана в микрометрах. Ноль микрометров соответствует поверхности образца.

Изучение полученных прибором спектров показало значительное количество пиков и спектральных полос неупругого рассеяния света, относимых к возбуждению набора колебаний для различных функциональных групп. В силу высокой прозрачности исследуемой системы на длине волны возбуждения часть этих спектральных компонент относится к полипропилену и ПГБВ, причем многие из них перекрываются с линиями в спектре гепарина. Достоверная деконволюция таких интегральных компонент в представленных спектрах не всегда возможна и эффективна. По этой причине мы ограничили ширину аналитической спектральной области узким диапазоном, равным $1000\text{--}1100 \text{ см}^{-1}$, в котором могут быть обнаружены линии, характерные для сульфогрупп в сульфатированных полисахаридах, присущих гепарину.

В результате было обнаружено постепенное исчезновение сигнала от сульфогрупп в области 1085 см^{-1} с ростом глубины возбуждения. Таким образом, спектральная оценка толщины слоя гепарина в модифицированном шовном материале дает значение около двух-трех микрометров. Все другие пики свидетельствуют о наличии полипропилена и биополимера в составе покрытия.

Результаты проведенных исследований показали, что разработанная методика модификации шовного материала при помощи многоступенчатой химической реакции позволяет закрепить антитромботическое покрытие на поверхности нити.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барбараш Л.С., Иванов С.В., Журавлева И.Ю., Ануфриев А.И., Казачек Я.В., Кудрявцева Ю.А., Зинец М.Г. 12-летний опыт использования биопротезов для замещения инфраингвинальных артерий. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2006; 12(3): 91–97.
2. Курьянов П.С., Разуваева А.С., Вавилов В.Н. Гиперплазия интимы в зоне сосудистого анастомоза. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2008; 14(4): 146–150.
3. Покровский А.В., Харазов А.Ф. Состояние сосудистой хирургии в России в 2010 году. Российское Общество ангиологов и сосудистых хирургов. 2011. 40.

УРОВЕНЬ ГЛИКЕМИИ И СОКРАТИТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА МИОКАРДА ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

О.В. Будникова

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Рассматривается сократительная способность изолированных фрагментов миокарда пациентов с ишемической болезнью сердца в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа. Анализируются амплитуда сокращений и степень нарушения углеводного обмена в плане влияния глюкозотоксичности на морфофункциональные изменения кардиомиоцитов. В процессе исследования обнаружено, что у пациентов с уровнем гликированного гемоглобина 7,74 % наблюдается кардиозащитный механизм по сравнению с пациентами, у которых гликированный гемоглобин составлял 9,5 % и которые получали инсулинотерапию.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, ишемическая болезнь сердца, сократимость миокарда, глюкозотоксичность, тест «Post-rest».

THE LEVEL OF GLYCEMIA AND CONTRACTILITY OF AN ISOLATED MYOCARDIAL DRUG IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS AND CORONARY HEART DISEASE

O.V. Budnikova

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The contractility of isolated fragments of the myocardium of patients with coronary heart disease in combination with type 2 diabetes mellitus is considered. The amplitude of contractions and the degree of disturbance of carbohydrate metabolism in terms of the effect of glucose toxicity on morphofunctional changes in cardiomyocytes are analyzed. During the investigation, it was found that patients with a glyated hemoglobin level of 7.74 % had a cardioprotective mechanism compared to patients in whom glyated hemoglobin was 9.5 % and who received insulin therapy.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, ischemic heart disease, myocardial contractility, glucose toxicity, Post-rest test.

Хорошо известно, что сахарный диабет 2-го типа (СД2) связан с ростом сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности. У пациентов с СД2 риск возникновения ишемической болезни сердца выше в 2–4 раза, в 1,5–3 раза чаще встречается инфаркт миокарда по сравнению с пациентами без нарушения углеводного обмена [1]. СД2 также является основным фактором риска сердечной недостаточности, макро- и микрососудистых осложнений, влияющих на качество жизни и ее продолжительность [2]. Сократимость миокарда представляет базисную характеристику насосной функции сердца, и ее определение при патологии представляет значительный интерес. В литературе нередко описывается снижение сократительной активности миокарда на фоне СД2, однако последние исследования *in vivo* на ишемизированном миокарде экспериментальной модели вносят сомнения в неопровержимость этого утверждения.

Цель – сравнить уровень гликемии и сократительную способность изолированного препарата миокарда пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и с ишемической болезнью сердца.

Препараты ушек правого предсердия были получены от пациентов с СД2 (n=21), которым была выполнена операция коронарного шунтирования. Пациенты с СД2 были выбраны на основании их клинического диагноза диабета 2-го типа с продолжительностью более 1 года. Уровень гликированного гемоглобина определялся в цельной крови человека при помощи коммерческого набора «Thermo SCIENTIFIC» для анализатора Konelab.

Для исследования сократительной активности (изометрический режим) были использованы мышечные полоски из ушка правого предсердия, иссекаемого при подключении аппарата искусственного кровообращения. Диаметр мышечных полосок составил 0,5–0,7 мм. Исследуемые образцы, помещенные в оксигенированный раствор Кребса – Хензеляйта на установке Standard system for muscle investigator (SH Heidelberg Germany) при 36,5°C стимулировали при базовой частоте 0,5 Гц.

Результаты. В ходе проведения теста «Post-rest» было определено, что мышечные трабекулы пациентов с уровнем гликированного гемоглобина выше 9,5 % (n=12) имели свой ритм. У пациентов с уровнем гликированного гемоглобина в 7,74 % (n=9) инотропная реакция характеризовалась тем, что амплитуда сокращений после периодов покоя либо превышала, либо оставалась на уровне базовых сокращений. Наши результаты показывают, что в миокарде правого предсердия у пациентов с диабетом 2-го типа, с ИБС на сократимость миокарда влияет уровень глюкозотоксичности. Полученные данные *ex vivo* согласуются с данными клинических исследований. В 10-летнем исследовании UKPDS говорится, что при небольшом стаже СД2 и интенсивном контроле гликемии снижалась частота развития микрососудистых осложнений, снижалась частота инфаркта миокарда и смертность от всех причин [3]. Однако эта схема интенсивного контроля мало применима для пациентов с уровнем гликированного гемоглобина 9,4 % и выше, с длительным СД2 (10 лет) и уже установленным сердечно-сосудистым риском, это подтверждают и исследования VADT, ACCORD и ADVANCE [4, 5, 6]. Эти исследования предостерегают и подчеркивают, насколько активная интенсификация гликемического контроля может нанести вред и привести к раннему увеличению смертности, особенно у пациентов с СД2 с ранее существовавшим сердечно-сосудистым заболеванием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шаронова Л.А., Вербовой, А.Ф. Особенности сердечно-сосудистой патологии и роль самоконтроля у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа. Медицинский совет. 2015 (11): 72–75
2. Bertoluci M.C., Rocha V.Z. Cardiovascular risk assessment in patients with diabetes. *Diabetology&MetabolicSyndrome*. 2017; 9: 25. doi:10.1186/s13098-017-0225-1.
3. 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: 1577–1589.
4. Duckworth W., Abraira C., Moritz T., Reda D., Emanuele N., Reaven P.D., Zieve F.J., Marks J., Davis S.N., Hayward R., Warren S.R., Goldman S., McCarren M., Vitek M.E., Henderson W.G., Huang G.D.; VADT Investigators. Glucose control and vascular complications in veterans with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2009; 360: 129–139.
5. ADVANCE Collaborative Group, Patel A., MacMahon S., Chalmers J., Neal B., Billot L., Woodward M., Marre M., Cooper M., Glasziou P., Grobbee D., Hamet P., Harrap S., Heller S., Liu L., Mancia G., Mogensen C.E., Pan C., Poultier N., Rodgers A., Williams B., Bompoint S., de Galan B.E., Joshi R., Travert F. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008; 358: 2560–2572.
6. Gerstein H.C., Miller M.E., Byington R.P., Goff D.C., Bigger J.T., Buse J.B., Cushman W.C., Genuth S., Ismail-Beigi F., Grimm R.H. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008; 358: 2545–2559.

ВЛИЯНИЕ ОЖИРЕНИЯ И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ НА РИСК РАЗВИТИЯ АРТЕРИАЛЬНЫХ ЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ

А.А. Горлова¹, О.Я. Васильцева¹, И.Н. Ворожцова¹, Т.Е. Малахова²

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Проведен сравнительный анализ влияния ожирения и артериальной гипертензии на развитие тромбоза артерий большого круга кровообращения.

Ключевые слова: эмболия, ожирение, сахарный диабет, атеросклеротический процесс.

THE INFLUENCE OF OBESITY AND HYPERTENSION ON THE RISK OF ARTERIAL EMBOLIC COMPLICATIONS

A. Gorlova¹, A.J. Vasil'tseva¹, I.N. Vorozhtsova¹, T.E. Malakhova²

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

National research Tomsk state University, Tomsk, Russia²

Abstract

A comparative analysis of the impact of obesity and hypertension on the development of thromboembolism of the arteries of the systemic circulation.

Keywords: embolism, obesity, diabetes, atherosclerotic process.

В настоящее время ожирение приобретает характер эпидемии и является одной из важных причин глобального бремени хронических заболеваний [1]. Считается, что сочетание ожирения и артериальной гипертензии (АГ) ассоциируется с высокой заболеваемостью и смертностью от сердечно-сосудистой патологии [2]. Однако в настоящее время нет точных данных о связи ожирения, артериальной гипертензии и эмболических артериальных осложнений.

Цель исследования – провести сравнительный анализ влияния ожирения и АГ на развитие тромбоза артерий большого круга кровообращения по материалам историй болезни и протоколам патологоанатомических вскрытий умерших в стационарах г. Томска в период с 01.01.2008 по 31.12.2016 г.

Материал и методы. Всего за исследуемый период умерло 10 254 больных, которые были подвергнуты вскрытию. Согласно протоколам патологоанатомических вскрытий, тромбоз эмболические осложнения выявлены у 335 умерших, в том числе эмболический ишемический инсульт (ЭИИ) выявлен у 228 умерших пациентов (68,1 %), тромбоз эмболии органов брюшной полости и забрюшинного пространства – у 107 человек (31,9 %). Источники эмболии во всех случаях были установлены при аутопсии.

Результаты. Согласно материалам историй болезни и протоколам патологоанатомических вскрытий, ЭИИ выявлен у 228 пациентов, госпитализированных в стационары г. Томска в период с 01.01.2008 по 31.12.2016 г. Средний возраст составил 68,8±13,5 (от 20 до 93) лет, 47 % – мужчины. Согласно показателям индекса массы тела (ИМТ), ожирение было выявлено у 50 человек (22 %), из них 1-ю степень имели 62 %, 2-ю степень – 22 %, 3-ю степень – 16 % пациентов. В группу 2 включены лица с эмболией органов брюшной полости и забрюшинного пространства (107 человек). Средний возраст в исследуемой группе составил 66,9±14,7 (от 30 до 90) года, среди них 59 (55 %) мужчин. ИМТ соответствовал

ожирению у 36 пациентов (33,7 %), причем 1-ю степень имели 56 %, 2-ю степень – 25 %, 3-ю степень – 19 % пациентов.

Предполагают, что одним из факторов в развитии и прогрессировании АГ является абдоминальный тип ожирения. Считается, что именно увеличение висцеральной жировой ткани способствует развитию нейрогормональных нарушений [1, 2]. Тем не менее жировая клетчатка скапливается не только интраабдоминально, но и подкожно. Учитывая, что подкожно-жировая клетчатка участвует в формировании объема талии, который является общепризнанным показателем для верификации метаболического синдрома, значение толщины подкожно-жирового слоя в области живота для сердечно-сосудистого риска еще предстоит изучить. Таким образом, нами проанализированы значения толщины подкожно-жирового слоя у лиц с ожирением в группе 1 и 2. Абсолютное значение толщины подкожно-жирового слоя в области живота в группе 2 у лиц с ожирением оказалось больше, чем у лиц с ожирением в группе 1 ($93 \pm 4,03$ мм против $44 \pm 4,2$ мм соответственно, $p=0,006$).

Согласно полученным данным, в группе с ЭИИ ($n=228$) пациенты с нормальной массой тела были старше пациентов с ожирением (соответственно $69,8 \pm 13,37$ и $65,4 \pm 13,28$ лет, $p=0,04$). В целом возраст пациентов с ожирением 1-й степени составил $67,3 \pm 15,56$, с ожирением 2-й степени – $62,7 \pm 13,47$ и с ожирением 3-й степени – $60,7 \pm 9,82$ года. В группе 2 ($n=107$) лица с нормальной массой также оказались моложе пациентов с ожирением, их возраст составил $66,6 \pm 13,9$ и $69,2 \pm 13,9$ года соответственно. Пациенты с ожирением 1-й степени в данной группе имели возраст $72,4 \pm 13,8$ года, а у лиц с ожирением 2-й степени – $68,0 \pm 14,2$ года, пациентов с ожирением 3-й степени – $61,6 \pm 14,3$ года.

У большинства пациентов обеих групп была гипертоническая болезнь (96 % и 94 % соответственно). В группе ЭИИ АГ 1-й степени была выявлена у 33,2 %, АГ 2-й степени – у 13,2 %, АГ 3-й степени – у 13,6 %. По данным историй болезни, синдромально на фоне тяжести состояния у 40 % лиц на момент госпитализации наблюдалась гипотония. В группе 2 (эмболии органов брюшной полости и забрюшинного пространства) АГ 1-й степени страдали 15,8 % пациентов, АГ 2-й степени – 1 %, АГ 3-й степени – 5 % пациентов. При этом, по данным историй болезни, в связи с тяжестью состояния у подавляющего большинства (78,2 %) на момент госпитализации зарегистрирован синдром гипотонии.

Известно, что процессы ремоделирования сердечно-сосудистой системы у лиц с гипертонической болезнью приводят к структурно-функциональным изменениям с развитием гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ) [3]. Нами были проанализированы значения толщины миокарда левого желудочка и масса сердца среди лиц с ожирением и без ожирения в обеих группах. Таким образом, в группе с ЭИИ у лиц с ожирением ($n=50$) абсолютные значения толщины стенки ЛЖ оказались больше и составили в среднем $17,3 \pm 2,7$ мм по сравнению с лицами без ожирения ($n=178$) – $16,8 \pm 2,7$ мм, однако не достигли статистически значимых различий. В то же время масса сердца существенно больше у лиц с ожирением по сравнению с лицами без ожирения ($474,3 \pm 151,5$ гр против $438,0 \pm 152,5$ гр ($p<0,001$)). В группе 2 у лиц с ожирением ($n=36$) толщина миокарда левого желудочка также оказалась больше, чем у лиц без ожирения ($17,2 \pm 2,7$ мм против $15,6 \pm 2,6$ мм, соответственно ($p=0,03$)). Однако в отношении показателя массы сердца и у лиц с ожирением и без в группе 2 статистически значимых отличий не получено ($575,8 \pm 152,9$ гр против $520,9 \pm 154,5$ гр соответственно).

Заключение. Описано множество механизмов связи ожирения с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Полагают, что ожирение является независимым фактором риска развития АГ и ГЛЖ [4,5]. В проведенном исследовании АГ и ожирение были выявлены в обеих группах лиц с артериальными эмболическими осложнениями. В группе с эмболиями органов брюшной полости и забрюшинного пространства у лиц с ожирением абсолютное значение толщины подкожно-жирового слоя в области живота оказалось больше в 2 раза, чем у лиц с ожирением в группе 1. В обеих исследуемых группах показатели толщины миокарда левого желудочка и массы сердца оказались выше среди лиц с ожирением. ГЛЖ является мощным фактором риска развития систолической/диастолической дисфункции левого желудочка. Как элемент сердечно-сосудистого континуума дисфункция левого желудочка, вероятно, связана с увеличением вязкости крови, развитием эндотелиальной дисфункции, гипоксии, активации симпатической нервной системы и застоем крови, что, в свою очередь, провоцирует тромбообразование с последующим развитием эмболических осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. DeMarco Vincent G., Aroor Annayya R., Sowers James R. The pathophysiology of hypertension in patients with obesity. *Nature Reviews Endocrinology*. 2014; 10(6): 364–376. doi: 10.1038/nrendo.2014.44.
2. Shukla A., Kumar K., Singh A. Association between Obesity and Selected Morbidities: A Study of BRICS Countries. *PLoS One*. 2014; 9(4): e94433. doi: 10.1371/journal.pone.0094433.

3. *European Society of Hypertension, European Society of Cardiology. Рекомендации по лечению артериальной гипертонии. Российский кардиологический журнал. 2014; 1 (105): 7–94.*

4. *Cuspidi C., Rescaldani M., Sala C., Grassi G. Left-ventricular hypertrophy and obesity: a systematic review and meta-analysis of echocardiographic studies. Journal of Hypertension. 2014; 32(1): 16–25. doi: 10.1097/HJH.0b013e328364fb58.*

5. *Лазуткина А.Ю., Горбунов В.В. Гипертрофия миокарда левого желудочка: вероятность развития и срок возникновения. Pacific Medical Journal. 2017; 1: 52–55. doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2017.1.52–55.*

ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭЛЕКТРОКАРДИОСТИМУЛЯЦИИ В ДЕТСКОЙ ПРАКТИКЕ. ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ КАРДИОСТИМУЛЯЦИИ

**Б.Н. Дамбаев, Л.И. Свинцова, О.Ю. Джаффарова, А.В. Сморгон,
С.Н. Криволапов, А.А. Лежнёв, И.В. Плотникова, А.М. Гуляев, И.В. Иванова**

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Приводится краткая история развития электрокардиостимуляции и внедрения данного метода лечения при брадиаритмиях в детской практике [1, 2]. Описаны осложнения, возникшие в период с 1994 г. по январь 2018 г. у детей, которым была имплантирована система ЭКС. Осложнения, развившиеся после имплантации системы ЭКС, подразделены нами на 4 группы: 1) нарушения гемодинамики; 2) электрод-обусловленные и связанные с ложем ЭКС; 3) инфекционные осложнения; 4) другие осложнения.

Ключевые слова: дети, электрокардиостимуляция, брадиаритмия, атриовентрикулярная блокада, синдром слабости синусового узла, осложнения, нарушения ритма сердца.

HISTORICAL ASPECTS OF ELECTROCARDIOSTIMULATION IN CHILDREN'S PRACTICE. COMPLICATIONS OF PACING

**B.N. Dambaev, L.I. Svinthova, O.Ya. Djaffarova, A.V. Smorgon,
S.N. Krivolapov, A.A. Lejnev, I.V. Plotnikova, A.M. Gulyaev, I.V. Ivanova**

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia

Abstract

It is given a brief history of the development of pacing and the introduction of this method of treatment in bradyarrhythmias in children's practice [1, 2]. The complications that occurred between 1994 and January 2018 in children who were implanted with the ECS system are described. The complications developed after the implantation of the ECS system are divided into 4 groups: 1) hemodynamic disorders; 2) electrode-conditioned and associated with the bed ECS; 3) infectious complications; 4) other complications.

Keywords: children, electrocardiostimulation, bradyarrhythmia, atrioventricular blockade, sinus node weakness syndrome, complications, heart rhythm disturbances.

Актуальность. В настоящее время нет чётких показаний к ЭКС. Имплантация ЭКС является основным методом интервенционного лечения брадикардий у детей, требующим значительной доработки и уточнения показаний к имплантации ЭКС в детском возрасте [3].

Материал и методы. Проведён ретроспективный анализ 242 детей с системой ЭКС от 0 до 20 лет, из которых 227 первичная имплантация ЭКС выполнялась в НИИ кардиологии г. Томска с 1994 г. по январь 2018 г. Средний возраст пациентов на момент первичной имплантации составил $6,39 \pm 0,08$ года. Пациенты были разделены на две группы: первая группа – дети с идиопатическими нарушениями ритма сердца, вторая группа – дети с нарушениями ритма сердца и скорректированными ВПС.

Результаты. Осложнения после первичной имплантации развились у 55 детей в среднем через $2,7 \pm 2,6$ года (от 0 до 12 лет). Все дети с осложнениями были отнесены к двум группам:

по наличию или отсутствию у них корригированных ВПС. Все осложнения, развившиеся после имплантации системы ЭКС, были подразделены нами на 4 группы: 1) нарушения гемодинамики; 2) электрод-обусловленные и связанные с ложем ЭКС; 3) инфекционные осложнения; 4) другие осложнения, не включённые в первые три группы (табл. 1).

Всего было выявлено 57 различных осложнений. К примеру, у пациента В. с первичной имплантацией эндокардиальных электродов в возрасте 6 лет развились следующие осложнения (спустя 9 лет после первичной имплантации ЭКС): диссинхрония межжелудочковой перегородки, снижение фракции выброса ЛЖ и окклюзия правой подключичной вены.

В целом оказалось, что в группе детей с корригированными ВПС на 15,78 % чаще развились осложнения по сравнению с детьми с идиопатическими брадиаритмиями.

Таблица 1

Осложнения после первичной имплантации ЭКС

Наличие ВПС	Нет	Есть
Общее количество детей	121	121
Общее количество детей с осложнениями 55 (100 %)	23 (41,82 %)	32 (58,18 %)
Осложнения		
Нарушения гемодинамики	7 (12,28 %)	12 (21,05 %)
Электрод-обусловленные и связанные с ложем ЭКС	9 (15,79 %)	10 (17,54 %)
Инфекционные	0 (0 %)	4 (7,02 %)
Другие	8 (14,04 %)	7 (12,28 %)
Всего: 57 осложнений (100 %)	24 (42,11 %)	33 (57,89 %)

Также в обеих группах детей проводился анализ развития осложнений в зависимости от способа имплантации ЭКС (табл. 2). При эпикардиальной стимуляции большему количеству осложнений были подвержены дети с ВПС, что может быть объяснено тем, что при некоторых сочетанных пороках изменяется не только конфигурация сердца, но и его гемодинамические функции, способствующие развитию осложнений при кардиостимуляции, в частности развитию межжелудочковой диссинхронии.

Таблица 2

Осложнения в зависимости от способа имплантации

Способ имплантации	Эпикардиальный		Эндокардиальный	
ВПС	–	+	–	+
Количество осложнений	6 (10,91 %)	26 (47,27 %)	17 (30,91 %)	6 (10,91 %)
Итого: 55 (100 %)	32 (58,18 %)		23 (41,82 %)	

Выводы. Существующие осложнения при ЭКС, несомненно, требуют поиска новых путей решения данной проблемы [4]. Таким образом, успешное проведение первичной имплантации ЭКС позволит снизить повторные оперативные вмешательства из-за возникших осложнений в раннем и отдаленном послеоперационном периоде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aquilina O. A brief history of cardiac pacing. *Images Paediatr Cardiol.* 2006 Apr-Jun; 8(2): 17–81
2. Школьниковой М.А., Ковалёва И.А., Леонтьевой И.В. Синкопальные состояния у детей. М.: Мегapolis, 2016. 284–297.
3. Braunwald E., Libby P., Bonow R.O., Mann D.L., Zipes D.L. Heart disease. A textbook of cardiovascular medicine. 2012; 2: 929–964
4. Janousek J., Kubus P. What's new in cardiac pacing in children? *Cardiology* 2014 Jan; 29 Issue 1: 76–82

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МИТРАЛЬНОГО КЛАПАНА ПРИ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

А.Ф. Канев¹, К.А. Смышляев¹, С.В. Диль²

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия²

Аннотация

Цель – оценить морфометрические показатели митрального клапана (МК) и контрактильность папиллярных мышц (ПМ) у больных обструктивной гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) и у пациентов с артериальной гипертензией (АГ) с гипертрофией левого желудочка (ГЛЖ). **Материал и методы.** Исследование выполнено у 38 больных ГКМП и у 17 пациентов с АГ и ГЛЖ. Всем лицам, включенным в исследование, выполнена чреспищеводная эхокардиография в трехмерном режиме в реальном времени с последующей трёхмерной реконструкцией МК и вычислением показателей фиброзного кольца (ФК) и створок МК. Контрактильность ПМ определена с позиции деформации с использованием технологии «след пятна» (Speckle Tracking Imaging – 2D Strain). **Результаты.** ФК МК имело седловидную форму как у больных ГКМП, так и у пациентов с АГ и ГЛЖ. Установлены большие значения высоты ФК, угла передней створки (ПС) и высоты тентинга створок при ГКМП по сравнению с пациентами с АГ и ГЛЖ. Выявлена взаимосвязь максимального градиента обструкции в выводном отделе (ВО) левого желудочка (ЛЖ) с длиной ПС МК, интертригональным расстоянием, скоростью смещения ФК, тентингом створок. Установлены корреляционные связи величины среднего градиента обструкции ВОЛЖ с длиной ПС МК, интертригональным расстоянием, длиной закрытия задней створки (ЗС) МК, скоростью смещения ФК МК. Анализ зависимости контрактильности ПМ выявил взаимосвязи деформации заднемедиальной ПМ с индексом сферичности, комиссуральным диаметром ФК, высотой тентинга створок, площадью передней и задней створки, углом ПС и длиной закрытия передней и задней створок МК. Деформация переднебоковой ПМ коррелировала с высотой тентинга створок МК. **Выводы.** Между больными ГКМП и пациентами с АГ и ГЛЖ установлены различия в морфометрических показателях МК. Градиент обструкции ВОЛЖ коррелирует с показателями геометрии МК у пациентов с ГКМП.

Ключевые слова: гипертрофическая кардиомиопатия, митральный клапан, трёхмерная визуализация митрального клапана, трехмерная количественная реконструкция митрального клапана.

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF MITRAL VALVE IN PATIENTS WITH HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY

A.F. Kanev¹, K.A. Smishlyayev¹, S.V. Dil²

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

Abstract

Aim: to evaluate morphometric parameters of mitral valve (MV) and papillary muscles' (PM) contractility in patients with hypertrophic obstructive cardiomyopathy (HCM) and patients with arterial hypertension (AH) and left ventricular hypertrophy (LVH). **Material and methods:** 38 patients with HCM and 17 with AH and LVH participated in the study. Participants underwent real-time three-dimensional transesophageal echocardiography (TEE) with post-processing quantitative mitral valve analysis. To assess PM contractility, we used speckle tracking imaging – 2D Strain. **Results:** both HCM and AH patients had saddle-shaped mitral annulus. Annular height, anterior leaflet area and tenting height values were significantly higher in HCM group. Correlation exists between maximum LV outflow tract (LVOT) gradient and anterior leaflet length, intertrigonal distance, mitral annulus excursion velocity and tenting, and between mean LVOT gradient and anterior leaflet length, intertrigonal distance, posterior leaflet closure length, mitral annulus excursion velocity. There were correlations between posterolateral PM strain and mitral annular sphericity index, commissural diameter, tenting height, anterior and posterior leaflet area, anterior leaflet angle and anterior and posterior closure line length. Anterolateral PM strain correlated with tenting height. **Conclusion:** There are differences in MV morphometric parameters between patients with HCM and AH with LVH. In patients with HCM, LVOT gradient correlates with MV morphometric parameters.

Keywords: Hypertrophic cardiomyopathy, mitral valve, three-dimensional visualization of mitral valve, three-dimensional quantitative reconstruction of mitral valve.

Актуальность. Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) – генетически обусловленное заболевание мышцы сердца, характеризующееся комплексом специфических морфофункциональных изменений и неуклонно прогрессирующим течением с высокой угрозой развития тяжелых, жизнеугрожающих аритмий и внезапной сердечной смерти [1]. Более чем в 60 %

случаев ГКМП сопровождается обструкцией выводного отдела (ВО) левого желудочка (ЛЖ) [1]. Важную роль в развитии обструкции ВОЛЖ играет движение передней створки (ПС) МК в сторону межжелудочковой перегородки во время систолы (SAM-синдром) [1]. По мнению ряда учёных, развитие SAM-синдрома можно связать с патологией аппарата МК [2, 3]. До настоящего времени накоплено недостаточно данных касательно изменений морфо-функциональных показателей МК при ГКМП.

Цель – оценить морфофункциональные показатели МК и контрактильность папиллярных мышц (ПМ) у пациентов с обструктивной ГКМП. **Материал и методы.** Исследование выполнено у 38 больных ГКМП старше 18 лет (средний возраст $53,36 \pm 13,14$ года), индексом массы миокарда ЛЖ (ИММЛЖ) $165 \pm 63,6$ г/м², максимальным градиентом обструкции ВОЛЖ $75,31 \pm 23,5$ мм рт.ст., средним градиентом $36 \pm 12,6$ мм рт.ст. Группу сравнения составили 17 пациентов (8 мужчин и 9 женщин) с артериальной гипертонией (АГ) и гипертрофией ЛЖ (ГЛЖ) в возрасте $53,34 \pm 8,68$ года с ИММЛЖ $158,28 \pm 42,75$ г/м².

Стандартная трансторакальная ЭхоКГ включала оценку конечного систолического и конечного диастолического объема ЛЖ (Simpson), ФВ ЛЖ, массы миокарда ЛЖ (ММЛЖ) по формуле Devereux R.B и градиента обструкции в ВОЛЖ. Трёхмерная чреспищеводная эхокардиография в реальном масштабе времени проведена с использованием датчика 6VT-D. Трёхмерная реконструкция МК с последующим количественным анализом выполнена в режиме off-line с применением опции “Valve” на Echopac. Анализировалось 29 морфо-функциональных показателей аппарата МК, что включало оценку фиброзного кольца (ФК), створок, аортально-митрального угла и динамических показателей МК.

Визуализация ПМ осуществлялась из трансторакального доступа с применением апикальных позиций. Заднемедиальную ПМ (ЗМ ПМ) визуализировали на уровне 5-камерной позиции, переднелатеральную ПМ (ПЛ ПМ) – из модифицированной 2- или 4-камерной позиции. В режиме off-line с помощью технологии «след пятна» (Speckle Tracking Imaging – 2D Strain) рассчитывали деформацию ($\text{Strain}_{\text{PM}}$), скорость деформации ($\text{Strain Rate}_{\text{PM}}$), время до пиковой деформации ($\text{Time to Peak Strain}_{\text{PM}}$) и пиковой скорости деформации ($\text{Time to Peak Systolic Strain Rate}_{\text{PM}}$).

Статистический анализ. Проверка гипотезы о нормальном распределении по критериям Колмогорова – Смирнова в форме Лиллиефорса и Шапиро – Уилка не подтвердила эту гипотезу, поэтому был использован тест Манна – Уитни. Оценка корреляционных связей между парами количественных признаков осуществлялась с использованием непараметрического рангового коэффициента Спирмена. Оценка связей между парами качественных признаков выполнялась с помощью анализа таблиц сопряженности с определением критерия χ^2 . Результаты представлены в виде $M \pm SD$, медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей и минимального и максимального значений. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимался равным 0,05.

Результаты. Седловидная форма ФК МК выявлена как у больных ГКМП, так и у пациентов с АГ и ГЛЖ. Установлены большие значения высоты ФК МК ($7,93 \pm 1,52$, Me=7,7 vs $5,98 \pm 2,55$ мм, Me=5,7 мм; $p=0,03$), угла ПС ($32,6 \pm 8,18$ мм, Me=30,5 мм vs $24,5 \pm 4,04$ мм, Me=24,0 мм; $p=0,029$) и высоты тентинга створок ($11,97 \pm 4,8$ мм, Me=11,23 мм vs $7,34 \pm 4,1$ мм, Me=7,0 мм; $p=0,0006$) при ГКМП по сравнению с пациентами АГ и ГЛЖ. Интертригональное расстояние ($2,25 \pm 0,5$ мм, Me=2,3 мм vs $2,75 \pm 0,27$ мм, Me=2,8 мм; $p=0,025$) было меньшим при ГКМП по сравнению с пациентами с АГ и ГЛЖ. Величины переднезаднего ($3,15 \pm 0,49$ мм, Me=3,18 мм vs $3,13 \pm 0,34$ мм, Me=3,1 мм; $p=0,848$) и латерального диаметров ($3,57 \pm 0,56$ мм, Me=3,63 мм vs $3,56 \pm 0,3$ мм, Me=3,5 мм; $p=0,971$), периметра ($11,44 \pm 1,56$ мм, Me=11,4 мм vs $11,2 \pm 1,54$ мм, Me=11,16 мм; $p=0,483$), площади ФК МК ($9,71 \pm 2,69$ мм, Me=9,8 мм vs $9,49 \pm 1,78$ мм, Me=9,17 мм; $p=0,838$), индекса сферичности ($0,93 \pm 0,3$ мм, Me=0,9 мм vs $0,89 \pm 1,78$ мм, Me=0,9 мм; $p=0,729$) и скорости движения ФК ($43,1 \pm 19,2$ мм, Me=39,3 мм vs $39,58 \pm 11,96$ мм, Me=39,3 мм; $p=0,846$) значимо не различались между группами.

У пациентов с ГКМП деформация (ПБПМ: $-7,55 \pm 10,73$, Me= $-10,78$ vs $-15,6 \pm 13,25$, Me= $-13,13$; $p=0,04$; ЗМПМ: $-2,62 \pm 13,76$ Me= $-7,42$ vs $-9,89 \pm 12,12$, Me= $-12,97$; $p=0,009$) и скорость деформации (ППМ: $-0,58 \pm 1,02$, Me= $-0,82$; vs $-1,25 \pm 0,85$, Me= $-1,18$; $p=0,01$; ЗМПМ: $-0,03 \pm 1,42$, Me= $-0,63$ vs $-0,72 \pm 1,04$, Me= $-0,73$; $p=0,04$) ПМ были ниже по сравнению с больными АГ и ГЛЖ. Анализ корреляционных связей между показателями трёхмерной реконструкции МК и значениями деформации ПМ у больных ГКМП выявил следующие взаимосвязи. Так, деформация ЗМПМ коррелировала с переднелатеральным-заднемедиальным диаметром ($r=0,61$; $p=0,01$), комиссуральным диаметром ($r=0,58$; $p=0,02$), индексом сферичности ($r=-0,65$; $p=0,009$) ФК МК. Выявлена зависимость деформации ЗМПМ с высотой

тентинга створок ($r=0,55$; $p=0,03$), площадями передней ($r=0,64$; $p=0,01$) и задней ($r=0,52$; $p=0,05$) створок, углом ПС ($r=0,94$; $p=0,005$), длиной закрытия передней ($p=0,67$; $p=0,006$) и задней ($r=0,59$; $p=0,02$) створок МК. Выявлена взаимосвязь между значениями скорости деформации ЗМ ПМ с индексом сферичности ($r=-0,55$; $p=0,03$) ФК МК и длиной закрытия ПС ($r=0,57$; $p=0,03$). Обнаружена взаимосвязь деформации ПБ ПМ с высотой тентинга створок ($r=-0,65$; $p=0,02$) и скорости деформации этой ПМ – с величиной аорто-митрального угла ($r=0,80$; $p=0,003$).

Выводы. Между больными ГКМП и пациентами с АГ и ГЛЖ установлены различия в морфометрических показателях МК. Градиент обструкции ВОЛЖ коррелирует с показателями геометрии МК у пациентов с ГКМП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Elliot P.M., Anastakis A., Borger M.A., Borggrefe M., Cecchi F., Charron P., Hagege A.A., Lafont A., Limongelli G., Mahrpldt H., McKenna W.J., Mogensen J., Nihoyannopoulos P., Nistri S., Pierper P.G., Pieske B., Rapezzi C., Rutten F.H., Tillmanns C., Watkins H. ESC guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: the task force for the diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy of the European society of cardiology (ESC). European Heart Journal. 2014 Oct 14; 35(39): 2733–79. doi: 10.1093/eurheartj/ehu284.
2. Jain P., Patel P.A., Fabbro M. Hypertrophic cardiomyopathy and left ventricular outflow tract obstruction: expecting the unexpected. Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia 2017 May 1; S1053-0770(17)30478-0. doi: 10.1053/j.jvca.2017.04.054
3. Maslow A.D., Regan M.M., Haering J.M., Johnson R.G., Levine R.A. Echocardiographic predictors of left ventricular outflow tract obstruction and systolic anterior motion of the mitral valve after mitral valve reconstruction for myxomatous valve disease. Journal of American College of Cardiology December 1, 1999; 34 (7); 2096–104. doi: 10.1016/S0735-1097(99)00464-7.

РОЛЬ МАРКЕРОВ SST2 И NTPROBNP В РАЗВИТИИ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА У ПАЦИЕНТОВ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА С ПОДЪЕМОМ СЕГМЕНТА ST

М.А. Керчева¹, Т.Р. Рябова¹, А.М. Гусакова¹, Т.Е. Сусллова¹, В.В. Рябов^{1,2,3}, Р.С. Карпов^{1,2}

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия²

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия³

Аннотация

Цель – оценить динамику сывороточных уровней стимулирующего фактора роста (sST2) и натрий-ретиического пептида (NTproBNP), их связь с развитием неблагоприятного ремоделирования левого желудочка (ЛЖР) у пациентов с передним инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (ИМспST) в течение 6 мес от начала заболевания. **Материал и методы.** В исследование включен 31 пациент с ИМспST (средний возраст 59 лет). Чрескожное коронарное вмешательство проведено всем пациентам в среднем в течение 8 ч от начала заболевания. Образцы сыворотки крови, а также параметры эхокардиографии были оценены на 1, 3, 7, 14-е сут, а также через 6 мес от начала заболевания. **Результаты.** Сывороточные уровни обоих маркеров (sST2, NTproBNP) снизились относительно 1-х сут к 6-месячному периоду наблюдения. Отмечено снижение сывороточного уровня sST2 в течение первых 7 сут от начала заболевания, уровень NTproBNP, напротив, снижался лишь с 7-х сут ($p<0,05$). В группе с развитием неблагоприятного ЛЖР к 6-месячному периоду наблюдения отмечено, что повышенный сывороточный уровень sST2 был связан с развитием раннего ЛЖР на 1, 3 и 7-е сут от начала заболевания ($r=0,8$; $r=0,6$, $r=0,9$, $p<0,05$). Отсутствие снижения сывороточного уровня NTproBNP до 125 мкг/мл к 7-м сут ($r=0,7$, $p<0,05$) было связано с развитием неблагоприятного ЛЖР к 6-месячному периоду наблюдения. **Выводы.** Сывороточные уровни sST2 и NTproBNP снижались до 6-месячного периода наблюдения. Значительное снижение сывороточного уровня sST2 отмечается в течение первых 7 суток начала заболевания, а уровня NTproBNP с 7-х сут. Повышенные уровни sST2 и NTproBNP на 7-е сут связаны с развитием неблагоприятного ремоделирования левого желудочка к 6-месячному периоду наблюдения.

Ключевые слова: sST2, NTproBNP, неблагоприятное ремоделирование левого желудочка, острый инфаркт миокарда.

ROLE SST2 AND NTPROBNP IN DEVELOPMENT OF ADVERSE LEFT VENTRICULAR REMODELING IN PATIENTS WITH ST-SEGMENT ELEVATION MYOCARDIAL INFARCTION

M.A. Kercheva¹, T.R. Ryabova¹, A.M. Gusakova¹, T.E. Suslova¹, V.V. Ryabov^{1,2,3}, R.S. Karpov^{1,2}

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia³

Abstract

Objective: To evaluate the dynamics of serum levels of soluble ST2 (sST2) and N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NTproBNP), its association with the development of adverse left ventricular remodeling (LVR) during the 6 months after primary ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI). **Methods and results.** We included 31 patients with STEMI (median age, 59 yr), who underwent percutaneous coronary intervention (PCI) during the first 8 h. from the onset of MI. Blood samples, parameters of echocardiography were assessed at days 1, 3, 7, 14, and 6 months after STEMI. Serum levels of sST2 decreased by 2.5-fold during the first 7 days. Serum levels of NTproBNP decreased by 2.0-fold from day 7 until 6 months after STEMI. High serum levels of sST2 were associated with the development of early LVR at the days 1, 3, 7 ($R=0,8$; $R=0,6$; $R=0,9$; $P<0,05$) in the group with a development of adverse LVR to 6 months after STEMI. The absence of decrease of the serum levels of NTproBNP to 125 pg/mL by the day 7 ($R=0,69$; $P<0,05$) were associated with the development of the adverse LVR at 6 months after STEMI.

Keywords: serum soluble ST2, NTproBNP, adverse left ventricular remodeling, acute myocardial infarction.

Введение. Несмотря на современные достижения в ведении пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (ИМсрST) и активное внедрение в клиническую практику фармако-инвазивного подхода, проблема развития неблагоприятного ремоделирования левого желудочка (ЛЖР) не теряет своей актуальности. В первую очередь это связано с наличием отсроченной реперфузии инфаркт-связанной коронарной артерии (ИСКА). Известно, что своевременная реперфузия ограничивает развитие неблагоприятного ЛЖР [1]. Однако, несмотря на это, ремоделирование ЛЖ может носить неблагоприятный характер даже в условиях своевременного и полного применения современных рекомендаций. Известно, что 20 % пациентов поступают в стационар в поздние сроки ИМ, когда реперфузионная терапия уже малоэффективна [2]. Являясь ведущей причиной ЛЖ дисфункции, декомпенсации ХСН, неблагоприятное ЛЖР достаточно изучено в современной кардиологии. В большинстве исследований данный процесс рассматривался в контексте изменений гемодинамики и топографии ЛЖ. К настоящему времени уже сформулирован основной паттерн развития ЛЖР, определены ключевые ультразвуковые маркеры, характеризующие его неблагоприятное течение [2]. Однако существует и другая парадигма развития неблагоприятного ЛЖР, в основе которой лежат ранние и отсроченные структурно-функциональные изменения метаболизма соединительной ткани в ответ на ИМ в условиях асептического воспаления [4]. Определение новых и уточнение существующих механизмов постинфарктного ЛЖР, определение новых потенциальных мишеней, способных обеспечить персонализированный контроль над процессами ЛЖР, являются актуальным направлением [2].

К настоящему времени в условиях экспериментальных исследований определен широкий спектр биомаркеров, ассоциированный с развитием неблагоприятного ЛЖР, позволяющих нам конкретизировать и структурировать последовательность механизмов, лежащих в основе этого процесса [4]. Однако поиск единственного маркера с наилучшими аналитическими характеристиками, объясняющими механизмы развития постинфарктного ЛЖР, вызывает большой интерес у исследователей.

Изучение роли нового маркера, стимулирующего фактора роста (sST2) в развитии неблагоприятного ЛЖР, является многообещающим направлением [5]. Член семейства рецепторов интерлейкина (ИЛ)-1, sST2, экспрессируется в кардиомиоцитах, эндотелиоцитах и фибробластах. Секреция его растворимой формы (sST2) увеличивается в ответ на повреждение

миокарда в течение первых недель от начала ИМ и связана с увеличением степени фиброза миокарда, развитием неблагоприятного ЛЖР и иных неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов [4]. Другим маркером гемодинамического стресса является натриуретический пептид (NT-proBNP) [5]. Он продуцируется в кардиомиоцитах желудочков в условиях повышенного напряжения стенки миокарда и уже активно используется в рутинной клинической практике у пациентов с ХСН. Однако он обладает низкой специфичностью, и на величину его уровня могут влиять такие параметры, как пол, возраст и индекс массы тела, ряд заболеваний. Изучение динамики сыровоточного уровня sST2 и его связей с параметрами эхокардиографии в сравнении с NTproBNP может приблизить нас к более точной оценке риска развития неблагоприятного ЛЖР в отсроченном периоде ИМ.

Цель исследования – оценить динамику уровней sST2 и NTproBNP, его корреляцию с развитием неблагоприятного ЛЖР у пациентов с острым первичным ИМспST в течение 6 мес от начала заболевания.

Материал и методы. В исследование включен 31 пациент с острым первичным передним ИМспST, поступивший в отделение неотложной кардиологии в течение 24 ч от начала заболевания. Чрескожное коронарное вмешательство проводилось в первые сутки. Критерии исключения: возраст >75 лет, тяжелые сопутствующие заболевания, острая сердечная недостаточность (СН) функционального класса (ФК) IV по Killip (кардиогенный шок), гипотония с артериальным давлением <90 мм рт. ст., не-Q-ИМ, синусовая брадикардия, постоянная форма фибрилляции предсердий, декомпенсированная хроническая СН (ХСН) (NYHA ФК III–IV), тяжелая клапанная патология, низкое качество данных визуализации. Инструментальные исследования, лабораторные исследования и лечение проводились в соответствии с национальными рекомендациями по лечению пациентов с ИМспST [1].

Стандартную трансторакальную эхокардиографию проводили на 3-й (Т2), 7-е (Т3), 14-е (Т4) сут и через 6 мес (Т5) от начала заболевания (Vivid E9, GE Healthcare) [6]. Сыровоточные уровни sST2 и NTproBNP, высокочувствительного С-реактивного белка (СРБ) определяли методом иммуноферментного анализа в те же сроки, а также на 1-е сут (Т1) от начала заболевания. Данные сравнивали с результатами, полученными у здоровых добровольцев.

Конечный диастолический объем левого желудочка (КДО ЛЖ), конечный систолический объем (КСО ЛЖ) и фракцию выброса (ФВ ЛЖ) определяли с помощью метода Симпсона. Критериями неблагоприятного ЛЖР являлись увеличение КДО (ΔКДО ЛЖ) и/или КСО ЛЖ (ΔКСО ЛЖ) более чем на 20 % через 6 мес от начала заболевания относительно исходных данных [3]. Критериями раннего ЛЖР служили увеличение КДО и/или КСО ЛЖ от начала заболевания к 14-м сут.

Анализ полученных данных проводился с использованием программного обеспечения STATISTICA 10. Результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение (M±SD) в случае нормального распределения, в случае ненормального распределения в качестве медианы (Me) и Me 25 и 75 % квартили (Q1; Q3). Различия считали достоверными при уровне $p < 0,05$. Для анализа данных в случае нормального распределения использовался t-тест Стьюдента с поправкой Бонферрони, тест Уилкоксона использовали в случае ненормального распределения, для количественных сравнений двух независимых групп использовали тест Манна – Уитни, метод Колмогорова – Смирнова. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена указывал на наличие ассоциаций между двумя переменными. В модель многомерного анализа были включены общепринятые маркеры развития неблагоприятного ЛЖР (время реперфузии, ФВ ЛЖ), а также предполагаемые маркеры развития неблагоприятного ЛЖР – sST2, NTproBNP и тропонин I [7].

Результаты. Пациенты были включены в исследование в период с 1 марта 2014 г. по 1 марта 2015 г. Основные клиническо-анамнестические данные представлены в табл. 1.

Таблица 1

Основные характеристики пациентов с ИМспST (N=31)

Показатели	M±SD, %
Возраст (годы)	58,6±8,5
Факторы риска ИБС: мужской пол	24 (77 %) / 17 (55 %) / 13 (42 %) / 24 (77 %) / 7 (23 %)
/курение/ожирение/АГ /СД/дислипидемия	23 (74 %)
Прединфарктная стенокардия	12 (39 %)
1, 2, 3 – сосудистое поражение КА	25 (81 %) / 5 (16 %) / 1 (3 %)
Тромболизис+ЧКВ/первичное ЧКВ/отсроченное ЧКВ	13 (41 %) / 12 (39 %) / 6 (20 %)

Время реперфузии/первые 3 ч	5,1±3,2 / 9 (29 %)
ОСН ФК по Killip (ФК II, III)	1 (3 %) / 2 (7 %)
Терапия на госпитальном этапе	
Аспирин + клопидогрел/аспирин+тикагрелор	21 (68 %) / 10 (32 %)
иАПФ/АРА/БАБ/петлевые диуретики/статины	13 (42 %), 1 (3 %) / 30 (97 %) / ±3 (9 %) / 27 (87 %)
Параметры стандартной эхокардиографии	
КДО ЛЖ, мл/Δ КДО ЛЖ (3-и сут, 6-й мес), %	105±24 / 16±26
КСО ЛЖ, мл/Δ КСО ЛЖ (3-и сут, 6-й мес), %	48±14 / 22±32
ФВ ЛЖ, %/Δ ФВ ЛЖ (3-и сутки, 6-й мес), %	54±9 / 3±8

Примечания: АГ – артериальная гипертония, АРА – антагонисты рецепторов альдостерона, БАБ – бета-адреноблокаторы, иАПФ – ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИСКА – инфаркт-связанная коронарная артерия, КДО – конечный диастолический объем, КСО – конечный систолический объем, ЛЖ – левый желудочек, ОСН – острая сердечная недостаточность, СД – сахарный диабет, ФВ – фракция выброса, ФК – функциональный класс, ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство.

Среди ранних осложнений наиболее часто встречались нарушения ритма сердца (32 % случаев), ОСН с ФК Killip II и более наблюдалась лишь в 7 % случаев. Среди поздних осложнений у 52 % пациентов выявлена ИБС ФК>II и у 31 % пациентов – ХСН ФК>I.

Сывороточные уровни sST2, NTproBNP снизились с временной точки T1 до временной точки T5 (рис. 1). Однако наиболее выраженная динамика была отмечена в течение первых 7 дней от начала заболевания. Уровень маркера постепенно снижался с временной точки T1 до T2, а затем от временной точки T2 до T3 ($p<0,05$).

Уровень sST2 снизился в 2,5 раза с 1-х сут до 6-месячного периода наблюдения [214 (28; 279) нг/мл, $p=0,000$; 87 (22; 113) нг/мл], однако с 7-х суток до 6-месячного периода наблюдения отмечено снижение данного маркера лишь в 0,04 раза [87 (22; 113) нг/мл, $p=0,85$; 83 (16; 54) нг/мл]. Повышенный уровень маркера sST2 отмечался лишь у 68 % пациентов к моменту поступления, однако к 6-месячному периоду наблюдения их количество составляло 12 %. Уровень же NTproBNP значительно снизился в 0,2 раза с временной точки T1 до T3 [483 (27; 1228) пг/мл, $p=0,33$; 472 (34; 1640) пг/мл], однако с временной точки T3 к точке T5 он уменьшился в 1,8 раза [472 (34; 1640) пг/мл, $p=0,000$; 164 (27; 536) пг/мл]. На момент поступления повышенный уровень же NTproBNP был выявлен у 64 % пациентов, к 7-м сут их количество составляло 76 %, а к моменту выписки – 65 %.

Затем мы проанализировали уровни СРБ (рис. 1). Его уровень снизился относительно временной точки T2 до T5 [10,5 (3,2; 12) мг/л, $p=0,003$; 2,6 (0,1; 8,5) мг/л], однако значимая динамика на госпитальном этапе была выявлена лишь с временной точки T3 к T4 [8,7 (1,1; 12,3) мг/л, $p=0,000$; 3,17 (1; 8,9) мг/л].

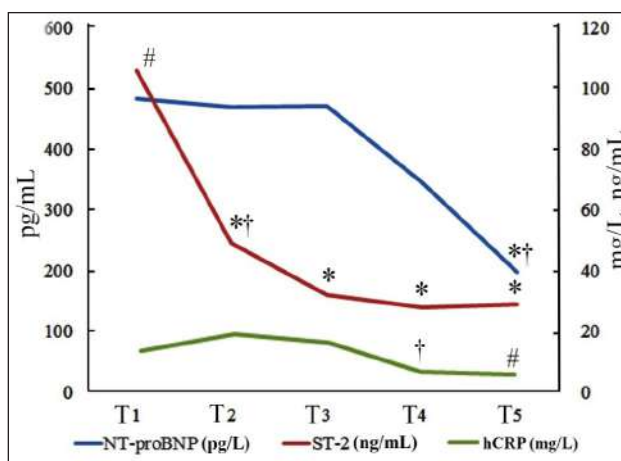


Рис 1. Динамика сывороточных уровней NTproBNP и sST2 в течение 6-месячного периода наблюдения у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST

Примечания: (N=31). * – $p<0,05$: значимое отличие между временной точкой T1 и другими временными точками, # – $p<0,05$: значимое отличие между временной точкой T2 и другими временными точками; † – $p<0,05$: значимое отличие между временной точкой T3 и другими временными точками. Обозначения: NTproBNP – натрийуретический пептид, sST2 – стимулирующий фактор роста; T1 – 1-е сутки, T2 – 3-и сутки, T3 – 7-е сутки, T4 – 14-е сутки, T5 – через 6 мес от начала заболевания.

Была выявлена прямая связь между величиной sST2 и сахарным диабетом ($r=0,39$, $p<0,05$), а также между величиной NTproBNP и гиподинамией ($r=0,44$, $p<0,05$).

Также выявлена связь между уровнем sST2 и маркером некроза миокарда тропонином I ($r=0,46$; $p<0,05$) при поступлении. Кроме того, обнаружена связь СРБ с sST2 на 7-е сут от начала заболевания ($r=0,5$, $p<0,05$).

Затем мы сравнили величину sST2 и NTproBNP, их динамику между группами с развитием неблагоприятного ЛЖР к 6-месячному периоду наблюдения (46 % пациентов) и без него (53 % пациентов) (табл. 2). Различий между группами по клинико-анамнестическим данным выявлено не было.

Таблица 2

Динамика сывороточных уровней NTproBNP, sST2 у пациентов с/без развития неблагоприятного ЛЖР к 6-месячному периоду наблюдения (N=31)

Показатель	T1	T2	T3	T4	T5
NTproBNP, пг/мл, ЛЖР+	218 (27; 577)	472 (232; 802)	397 (34; 898)	329 (80; 726)	222 (27; 439)
NTproBNP, пг/мл, ЛЖР-	556†# (90; 898)	470 (232; 802)	291# (105; 1630)	328† (60; 801)	128 (32; 294)
sST2, нг/мл, ЛЖР+	88†#β* (32; 279)	37†#* (22; 134)	28 (20; 44)	29 (21; 51)	27 (20; 54)
sST2, нг/мл, ЛЖР-	51†#β* (28; 262)	37†#* (19; 191)	26 (13; 113)	26 (20; 40)	27 (16; 53)

Примечание: значения представлены в виде средних (25 %; 75 % квантили). † – $p<0,05$ – значимое отличие относительно точки T5, # – $p<0,05$ – относительно точки T4, * – $p<0,05$ – относительно точки T3, β – $p<0,05$ – относительно точки T2. ЛЖР – ремоделирование левого желудочка; NTproBNP, натрийуретический пептид; sST2 – сывороточный уровень стимулирующего фактора роста. T1 – 1-е сут, T2 – 3-и сут, T3 – 7-е сут, T4 – 14-е сут, T5 – через 6 мес от начала заболевания.

Была выявлена связь между уровнями sST2 в сыворотке и развитием раннего ремоделирования ЛЖ ($r=0,6$; $r=0,7$; $p<0,05$) во временных точках T1, T2, T3 ($r=0,8$; $r=0,6$; $r=0,9$, $p<0,05$) в подгруппе с развитием неблагоприятного ЛЖР к 6-месячному периоду наблюдения. Развитие раннего ремоделирования ЛЖ было обнаружено у 67 % пациентов, оно осложнилось развитием неблагоприятного ЛЖР к 6-месячному периоду наблюдения у 80 % пациентов. Между уровнем NTproBNP и развитием раннего ЛЖР связи выявлено не было.

После деления выборки на группы относительно сывороточных уровней sST2 ($>$ и <35 нг/мл на момент поступления, а также относительно величины NTproBNP ($\geq$ или <125 мкг/мл) отмечено, что все эти группы не различались между собой по клинико-анамнестическим данным. Однако в группе с уровнем NTproBNP >125 мкг/мл была выявлена связь между развитием неблагоприятного ЛЖР к 6-месячному периоду наблюдения и уровнем NTproBNP на 7-е сут ($r=0,69$, $p<0,05$).

Несмотря на то, что по результатам корреляционного анализа не было выявлено наличия прямых связей между уровнем NTproBNP, sST2 и развитием неблагоприятного ЛЖР через 6 мес от начала заболевания, однако выявлено, что по данным многофакторного анализа неблагоприятное ЛЖР было связано с величиной ФВ ЛЖ ($p=0,03$) и с уровнем sST2 во временной точке T1 ($p=0,02$). В модель многофакторного анализа были включены такие показатели, как время реперфузии, величина ФВ ЛЖ и предполагаемые маркеры неблагоприятного ЛЖР, такие как sST2, NTproBNP и Troponin I.

Обсуждение. Процесс структурно-функциональной перестройки миокарда в результате перенесенного ИМ многогранен и включает в себя активацию как маркеров гемодинамического стресса, так и маркеров деградации межклеточного матрикса, субклинического воспаления [4]. К настоящему моменту обнаружено наличие связей между величиной этих биомаркеров и развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, включающих как летальные исходы, так и нефатальные сердечно-сосудистые осложнения, в том числе развитие неблагоприятного ЛЖР [4]. Однако существующие данные противоречивы, временные сроки определения этих маркеров размыты, референсные значения данных показателей для пациентов с ИМ не определены. Анализ динамики sST2, ее связи с клиническо-анамнестическими данными, параметрами эхокардиографии в сравнении с NTproBNP позволяет нам приблизиться к более точному пониманию роли sST2 в развитии неблагоприятного ЛЖР, оценить возможные преимущества данного маркера. Ремоделирование ЛЖ – процесс, который неизбежно возникает после ИМ, однако его неблагоприятное

течение наблюдается лишь в 30 % случаев у пациентов с ИМспST [2]. В настоящее время для оценки ЛЖР в клинической практике используются только инструментальные маркеры, а именно параметры эхокардиографии [2]. Увеличение КДО ЛЖ и/или КСО ЛЖ более чем на 20 % с первых суток к 6-месячному периоду наблюдения является критерием развития неблагоприятного ЛЖР [2]. Поиск наиболее чувствительного, специфичного и удобного в применении биомаркера неблагоприятного ЛЖР представляется интересным и перспективным направлением современной кардиологии.

Известно, что NTproBNP уже используется в клинической практике как маркер неблагоприятного прогноза у больных с ХСН, тогда как sST2 рекомендован только для дополнительной стратификации риска в соответствии с рекомендациями 2013 года от American College of Cardiology Foundation and American Heart Association [5]. Кроме того, маркер sST2 обладает прогностической ценностью в отношении оценки неблагоприятных исходов у больных с ОКС и ХСН [5]. Уровни этих маркеров увеличиваются в ответ на повышение напряжения стенки ЛЖ, сопровождающее развитие ИМ [4,5]. Однако, исходя из полученных нами данных, механизмы действия данных маркеров различны. Нами подтверждены результаты предыдущих исследований, указывающие на повышение уровней sST2 и NTproBNP в первые сутки ИМ [9]. Также подтверждается значимое снижение их уровня к 6-месячному периоду наблюдения, однако динамика этого снижения различна. Отмечено интенсивное снижение сывороточного уровня sST2 в течение первых 7 сут от начала заболевания, однако уровень NTproBNP наиболее интенсивно снижался с 7-х сут от начала заболевания. Подобная динамика sST2 может быть обусловлена воспалительной природой маркера, подобно динамике СРБ, уровень которого резко повышается в остром периоде ИМ [8]. Вероятно, уровень sST2 отражает количество поврежденной ткани и связан с некрозом и воспалительными событиями, тогда как NTproBNP связан с механическим стрессом стенки миокарда и показывает прямую связь с развитием ХСН в течение длительного периода после ИМспST в нашем исследовании, подобно данным других исследователей [4,8]. Эти данные подтверждаются наличием прямой связи между высоким уровнем sST2 в течение первых 7 сут с величиной СРБ. Высокие уровни sST2, вероятно, обусловлены развитием избыточного фиброза в ответ на ИМ [8]. Вероятно, такая динамика sST2 может быть результатом повреждения эндотелия в ходе острого периода ИМ, поскольку эти типы клеток в основном продуцируют этот маркер. Также нами была обнаружена связь между уровнем sST2 и тропонином I, однако существуют противоположные данные [9].

После деления нашей выборки на подгруппы относительно исходных величин sST2 NTproBNP (больше и меньше референсных значений, характеризующих развитие ХСН), для sST2 величина >35 нг/мл, для NTproBNP > 125 пг / мл, было выявлено, что уровни sST2, превышающие референсные значения, не были связаны с развитием раннего или неблагоприятного ЛЖР к 6-месячному периоду наблюдения. Однако величина NTproBNP > 25 мкг/мл при поступлении и отсутствие ее снижения к 7-м сут от начала заболевания были связаны с развитием неблагоприятного ЛЖР к 6-месячному периоду наблюдения. Из всего вышеперечисленного можно сделать вывод, что NTproBNP и sST2 принимают активное участие в развитии неблагоприятного ЛЖР. Наиболее информативным сроком для определения величины данных маркеров с прогностической целью в отношении развития неблагоприятного ЛЖР являются 7-е сут.

Выводы. Сывороточные уровни sST2 и NTproBNP снижались до 6-месячного периода наблюдения. Значительное снижение сывороточного уровня sST2 отмечается в течение первых 7 дней от начала заболевания, уровень NTproBNP снижается с 7-х сут. Повышенные уровни sST2 и NTproBNP на 7-е сут связаны с развитием неблагоприятного ЛЖР к 6-месячному периоду наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Roffi M., Patrono C., Collet J.P., Mueller C., Valgimigli M., Andreotti F., Bax J.J., Borger M.A., Brotons C., Chew D.P., Gencer B., Hasenfuss G., Kjeldsen S., Lancellotti P., Landmesser U., Mehilli J., Mukherjee D., Storey R.F., Windecker S. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2016; 37: 267–315.
2. Galli A., Lombardi F. Postinfarct Left Ventricular Remodeling: A Prevailing Cause of Heart Failure. *Cardiol Res Pract.* 2016;2016: 2579832. doi: 10.1155/2016/2579832.
3. Markov V.A., Ryabov V.V., Vyshlov E.V., Ryabova T.R., Shurupov V.S., Oyunarov E.O., Demyanov S.V., Maksimov I.V. Postinfarction heart remodeling after acute myocardial infarction and pharmacoinvasive reperfusion and enhanced external counterpulsation. *Tomsk: STT,* 2014: 244.
4. Wang J., Tan G.J., Han L.N., Bai Y.Y., He M., Liu H.B. Novel biomarkers for cardiovascular risk prediction. *J Geriatr Cardiol.* 2017 Feb; 14(2): 135–150.
5. Yancy C.W.I., Jessup M., Bozkurt B., Butler J., Casey D.E.Jr., Drazner M.H., Fonarow G.C., Geraci S.A., Horwich T., Januzzi J.L., Johnson M.R., Kasper E.K., Levy W.C., Masoudi F.A., McBride P.E., McMurray J.J., Mitchell J.E., Peterson P.N., Riegel B.,

Sam F., Stevenson L.W., Tang W.H., Tsai E.J., Wilkoff B.L. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: Executive summary: A report of the American College of Cardiology Foundation. American Heart Association Task Force on practice guidelines. Circulation. 2013; 128: 1810–1852.

6. Kercheva M., Ryabov V., Ryabova T., Karpov R. Dynamics in parameters of standard and 2D speckle tracking echocardiography in patients with acute primary anterior STEMI. Siberian Medical Journal. 2016; 29: 43–48.

7. Glanz S. Primer of biostatistics (5th Edition) Europe: McGraw-Hill Education. 2001. 496.

8. Marino R., Magrini L., Orsini F., Russo V., Cardelli P., Salerno G., Hur M., Di Somma S.; GREAT NETWORK. Comparison Between Soluble ST2 and High-Sensitivity Troponin I in Predicting Short-Term Mortality for Patients Presenting to the Emergency Department With Chest Pain. Ann Lab Med. 2017; 37: 137–146.

9. Barbarash O., Gruzdeva O., Uchasova E., Dyleva Y., Belik E., Akbasheva O., Karetnikova V., Shilov A. Prognostic value of soluble ST2 during hospitalization for ST-segment elevation myocardial infarction. Ann Lab Med. 2016; 36: 1–7.

ВЛИЯНИЕ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В КРОВИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА НА КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ ПОСТИНФАРКТНОГО ПЕРИОДА

М.А. Киргизова¹, М.А. Штатолкина¹, Т.Е. Сусллова^{1,3}, В.В. Рябов^{1,2,3}

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия²

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия³

Аннотация

Цель работы – определить значение циркулирующих в крови CD34⁺38⁻, CD133⁺, CD117⁺, CD90⁺34⁻ клеток костного мозга (ККМ) у больных острым первичным ИМ с подъемом сегмента ST на течение постинфарктного периода по данным долгосрочного наблюдения. **Материал и методы.** В открытое, проспективное исследование включено 19 пациентов, поступивших с первичным ОИМ в 2006–2007 гг. в НИИ кардиологии. Всем больным проведен забор цельной крови при поступлении (первые часы ОИМ), через сутки от начала заболевания и на 3-и сутки ОИМ с целью определения содержания CD117⁺, CD133⁺, CD34⁺38⁻, CD90⁺34⁻. Через 7,70±0,42 года после ОИМ проведено контрольное обследование, включающее физикальный осмотр, тест 6-минутной ходьбы, эхокардиографическое исследование. **Результаты.** Показано, что уже в первые сутки острого инфаркта миокарда количество циркулирующих в крови CD117⁺, CD133⁺, CD34⁺38⁻, CD90⁺34⁻ ККМ значительно увеличивается. Установлено, что у больных острым первичным ИМ с подъемом сегмента ST высокое содержание циркулирующих в крови CD117⁺, CD133⁺ ККМ в первые часы заболевания, ассоциировано с благоприятным течением постинфарктного периода, с меньшей частотой развития ХСН в отдаленные сроки после ОИМ. А высокий выброс CD34⁺38⁻ клеток в первые сутки заболевания тесно сопряжен с развитием клинически значимой ХСН.

Ключевые слова: стволовые клетки, клетки костного мозга, острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST.

THE IMPORTANCE OF CIRCULATING STEM CELLS IN THE CLINICAL COURSE OF THE POSTINFARCTIC PERIOD

М.А. Kirgizova¹, М.А. Shtatolkina¹, Т.Е. Souslova^{1,3}, V.V Ryabov^{1,2,3}

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

Siberian State Medical University, Cardiology Department at the Continuous Medical Education Faculty, Tomsk, Russia²

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia³

Abstract

The aim of the study was investigate the value of CD117⁺, CD133⁺, CD34⁺38⁻, CD90⁺34⁻ cells circulating in the blood in patients with primary ST-Elevation Myocardial Infarction (STEMI) for the post-infarction period. Methods and results: From 2006 to 2007, 19 patients with primary STEMI were included in an open prospective study. Plasma samples were collected to determine the serum levels of CD117⁺, CD133⁺, CD34⁺38⁻, CD90⁺34⁻ cells

bone marrow cells at admission (during the first hours of AMI), 1 day after the onset of the disease and on the 3rd day of AMI. Follow-up study was performed 7.70 ± 0.42 years after STEMI and consisted in physical examination, 6-min walking test, Echo exam. Results: The number of the blood-circulating CD117⁺, CD133⁺, CD34⁺38⁻, CD90⁺34⁻ cells significantly increased as early as within the first hours after AMI. It was found that in patients with STEMI, the high level of CD117⁺, CD133⁺ cells circulating in the blood, determined in the first hours of the disease, is associated with a favorable course of the post-infarction period, with a lower incidence of CHF in the long term after AMI. A high release of CD34⁺38⁻ cells in the first day of the disease is closely associated with the development of clinically significant CHF.

Keywords: stem cells, bone marrow cells, acute ST-segment elevation myocardial infarction.

Введение. Острый инфаркт миокарда (ИМ) остаётся основной причиной развития хронической сердечной недостаточности (ХСН), которая приводит к инвалидизации и смертности больных во всем мире. Несмотря на успехи современных консервативных и оперативных методов лечения, проблема развития и прогрессирования данной патологии сохраняется. Последние десятилетия во всем мире активно изучаются механизмы постинфарктной регенерации. Как известно, стволовые клетки (СК) человека, образующиеся в костном мозге (КМ), участвуют в процессах регенерации миокарда после ишемического повреждения сердца путем запуска кардиомиогенеза и неоангиогенеза и, как следствие, уменьшения образования рубцовой ткани, предупреждения неблагоприятного постинфарктного ремоделирования сердца. Причем количество СК в периферической крови при остром ИМ возрастает в течение 12 ч после возникновения симптомов и остается значительно более высоким по сравнению с пациентами со стабильной стенокардией и здоровыми лицами [1, 2], среди которых вырабатываются CD133⁺, CD117⁺ клеток костного мозга (ККМ), относящиеся к незрелым гематопоэтическим СК (ГСК) и эндотелиальным клетками-предшественниками костномозгового происхождения. Они способны мигрировать в различные органы эктодермального, мезодермального и энтодермального происхождения (т.е. в мозг, мышцы, сердце), проявляя, таким образом, плюрипотентный репопуляционный и дифференциальный потенциал. Они способны давать начало эндотелиальным клеткам *in vitro* и могут улучшать сердечную функцию после ИМ путем неоваскуляризации *in vivo* [3]. CD34⁺38⁻ клетки являются фенотипически чистой популяцией ГСК, обладающей способностью дифференцироваться в различные типы клеток (клеток крови, кардиомиоциты) в зависимости от микроокружения [4, 5]. А CD90⁺34⁻ клетки относятся к мезенхимальным СК и клеткам - предшественникам лимфоцитов [5].

Цель работы – определить значение циркулирующих в крови CD133⁺, CD117⁺, CD34⁺38⁻, CD90⁺34⁻ клеток у больных острым первичным ИМ с подъемом сегмента ST на течение постинфарктного периода по данным долгосрочного наблюдения.

Материал и методы. В открытое, проспективное исследование включено 19 пациентов (из которых 14 (74 %) мужчин и 5 (26 %) женщин в возрасте 58 ± 20 лет) с острым первичным передним крупноочаговым ИМ. Диагноз ОИМ устанавливали в стационаре на основе критериев ВОЗ. Все пациенты получали лечение ОИМ согласно национальным рекомендациям, проводилась тромболитическая терапия, чрескожное коронарное вмешательство, кроме того, назначалась стандартная медикаментозная терапия. Среднее время реканализации составило 5,0 (4,4;6,0) ч.

Всем больным проведен забор цельной крови в количестве 2 мл, взятой с ЭДТА из локтевой вены в день поступления, в 1-е, 3-и сут острого ИМ с целью определения CD34⁺38⁻, CD133⁺, CD117⁺, CD90⁺34⁻ клеток методом проточной цитофлуориметрии на приборе FACSCalibur (Becton Dickinson, USA). Подсчитывали абсолютное содержание клеток.

Через $7,70 \pm 0,42$ года после ОИМ оценено клиническое состояние пациентов, течение болезни, определена толерантность к физической нагрузке с помощью теста 6-минутной ходьбы (ТШХ), выполнена эхокардиография на ультразвуковой системе «VIVID 7, GE Vingmed Ultrasound, Norway». Оценивали показатели глобальной систолической функции левого желудочка (ЛЖ): конечный диастолический объем (КДО), конечный систолический объем (КСО) и фракцию выброса (ФВ) ЛЖ.

Конечными точками определены следующие события: смерть, повторный инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, стенокардия напряжения II и более функционального класса (ФК), ХСН II и более ФК, острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК).

Для статистической обработки использовали пакет прикладных программ «STATISTICA for Windows ver 10.0». Данные представляли в виде средней величины (М) и стандартного отклонения (SD), средней величины (М) и 95 % доверительного интервала [CI], медианы

(Me) и межквартильного размаха (Q25Q75 – 25-й и 75-й процентиля). Для исследования взаимосвязей между переменными применяли корреляционный анализ с расчетом коэффициентов ранговой корреляции Спирмена, Кендалла и Гамма. Критический уровень значимости p принимали равным 0,05.

Результаты. Мы изучили динамику содержания CD34⁺38⁻, CD133⁺, CD117⁺, CD90⁺34⁻ в периферической крови в день поступления, на 1-е, 3-и сутки ОИМ, результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Динамика содержания клеток костного мозга различных фенотипов

Клетки костного мозга различных фенотипов	Абсолютное число в 1 мкл, M±SD, n=19
CD 117 ⁺ исходно	712,7±315,5
CD 117 ⁺ 1-е сут	478,6±177,9
CD 117 ⁺ 3-и сут	548,7±244,1
CD 133 ⁺ исходно	645,7±253,6
CD 133 ⁺ 1-е сут	699,9±542,9
CD 133 ⁺ 3-и сут	651,8±513,1
CD 34 ⁺ 38 ⁻ исходно	1013,8±356,7
CD 34 ⁺ 38 ⁻ 1-е сут	1196,4±673,2
CD 34 ⁺ 38 ⁻ 3-и сут	1252,9±659,1
CD 90 ⁺ 34 ⁻ исходно	486,1±101,8
CD 90 ⁺ 34 ⁻ 1-е сут	782,1±247,4
CD 90 ⁺ 34 ⁻ 3-и сут	680,1±348,6

Обнаружена разнонаправленная динамика содержания ККМ, однако значимых различий по абсолютным значениям ККМ не установлено, отмечался пик выработки CD 117⁺ в первые часы ОИМ, прирост содержания CD 133⁺ на первые сутки после ЧКВ и CD 34⁺38⁻ к третьим суткам после ЧКВ.

Согласно протоколу исследования, все пациенты прошли 7-летний период наблюдения. Получена информация о жизненном статусе 19 пациентов (100 %). В течение 7,70±0,42 года наблюдения 7 больных (36 %) умерло.

Частота неблагоприятных событий в течение 7,70±0,42 года после первичного ОИМ представлена в табл. 1. Зарегистрировано 2 случая повторного ИМ (10 %), причем оба оказались фатальными. Нестабильная стенокардия была диагностирована у 6 пациентов (31 %). Пациенты показывали удовлетворительную ТФН, по данным ТШХ – 468,3±83,3 м. Среди обследованных пациентов преобладала стенокардия напряжения и ХСН I ФК. ХСН II ФК и более в отдаленные сроки у 6 пациентов (31 %), ХСН IIА и IIБ стадии наблюдалась у 7 пациентов (37 %). По данным эхокардиографического исследования у пациентов в среднем были повышенные объемные показатели ЛЖ: КДО (140,8±50,6) мл, КСО (86,0±43,6) мл, а фракция выброса ЛЖ была умеренно снижена: ФВ (В) 41,5±11,6 %.

Таблица 2

Конечные точки и показатели безопасности

Показатели	M [CI], n (%) (n=19)
Пациенты с известным жизненным статусом	8 (89)
Смерть по поводу ССЗ	4 (21)
Смерть, не связанная с ССЗ	2 (10)
Причина смерти неизвестна	1 (5)
Общая летальность	7 (36)
Количество госпитализаций по поводу ССЗ	2,2 [1,84,4]
Количество госпитализаций по поводу НС	0,8 [0,61,5]
Повторные ИМ	2 (10)
Нестабильная стенокардия	6 (31)
ОНМК	–
ХСН II ФК и более	6 (31)
ХСН II А ст. и более	7 (37)
Стенокардия напряжения II ФК и более	2 (10)
Плановое ЧКВ	2 (10)

Аневризмэктомия	—
Имплантация ЭКС	—
Коррекция клапанной патологии	—
АКШ	1 (5)
Новые НРС	2 (10)

Примечание: ССЗ – сердечно-сосудистое заболевание; НС – нестабильная стенокардия; ИМ – инфаркт миокарда; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство; АКШ – аортокоронарное шунтирование; НРС – нарушения ритма сердца.

Проведен корреляционный анализ между абсолютным числом ККМ в периферической крови и развитием конечных точек. Установлены статистически достоверные отрицательные корреляционные связи ($R = -0,9$; $p \leq 0,05$) между содержанием $CD\ 133^+$ ККМ в первые часы ОИМ и развитием клинически значимой ХСН ($ХСН \geq \text{IIA}$ стадии, $ХСН \geq \text{II}$ ФК), а также отрицательные корреляционные связи ($R = -0,9$; $p \leq 0,05$) между абсолютным числом $CD\ 117^+$ ККМ в первые часы заболевания и развитием клинически значимой ХСН ($ХСН \geq \text{IIA}$ стадии, $ХСН \geq \text{II}$ ФК). Установленные корреляционные связи свидетельствуют о благоприятном влиянии относительно высоких сывороточных концентраций клеток данного фенотипа на клиническое течение постинфарктного периода.

Кроме того, в нашем исследовании установлены сильные положительные корреляционные связи ($R = 0,8$; $p \leq 0,05$) между содержанием $CD\ 34^+38^-$ ККМ в первые часы заболевания и развитием клинически значимой ХСН ($ХСН \geq \text{IIA}$ стадии, $ХСН \geq \text{II}$ ФК), следовательно, высокий выброс $CD34^+38^-$ ККМ в кровь тесно сопряжен с развитием клинически значимой ХСН. Корреляционных связей между абсолютным числом $CD90^+34^-$ ККМ и диагностикой клинически значимой ХСН в отдаленном периоде не выявлено.

Заключение. Таким образом, по результатам нашего исследования с учетом выявленных корреляционных взаимосвязей установлено, что у больных острым первичным ИМ с подъемом сегмента ST высокое содержание циркулирующих в крови $CD117^+$, $CD133^+$ ККМ, определенное в первые часы заболевания, ассоциировано с благоприятным течением постинфарктного периода, в частности, меньшей частотой развития ХСН в отдаленные сроки после ОИМ. А высокий выброс $CD34^+38^-$ ККМ в первые сутки заболевания тесно сопряжен с развитием клинически значимой ХСН. Безусловно, клинические исследования с большим количеством пациентов в этом направлении являются перспективными. Понимание механизмов постинфарктной регенерации и выявление факторов, оказывающих влияние на этот процесс, являются основой для развития современных клеточных технологий в кардиологии, что в будущем позволит усовершенствовать традиционные методы лечения острого инфаркта миокарда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wojakowski W., Tendera M., Michalowska A., Majka M., Kucia M., Maślankiewicz K., Ratajczak M.Z. Mobilization of $CD34/CXCR4^+$, $CD34/CD117^+$, c-met⁺ Stem Cells, and Mononuclear Cells Expressing Early Cardiac, Muscle, and Endothelial Markers Into Peripheral Blood in Patients With Acute Myocardial Infarction. *Circulation*. 2004; 110: 3213–3220.
2. Madonna R., Van Laake L.W., Davidson S.M., Engel F.B., Hausenloy D.J., Lecour S., Landmesser U. Position Paper of the European Society of Cardiology Working Group Cellular Biology of the Heart: cell-based therapies for myocardial repair and regeneration in ischemic heart disease and heart failure. *Eur. Heart J.* 2016; 37(23): 1789–1798.
3. Смолянинов А.Б. Клеточные и генные технологии в кардиологии. СПб.: СпецЛит, 2009. 175.
4. Theise N.D., Badve S., Saxena R., Henegariu O., Sell S., Crawford J.M., Krause D.S. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology*. 2010; 31(1): 235–240.
5. Глузман Д.Ф., Склярченко Л.М., Надгорная В.А., Климинок Г.И., Морозова В.Т. Стволовые клетки и их структурно-функциональные отношения с соединительной тканью. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2010; (1): 5560.

МИОКАРДИАЛЬНЫЕ ИНТЕРЛЕЙКИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ – ЧЛЕНЫ СЕМЕЙСТВА ST2 КАК МИШЕНЬ ДЛЯ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С СОХРАНЕННОЙ ФРАКЦИЕЙ ВЫБРОСА

К.В. Копьева

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Цель – оценить влияние патогенетической терапии β-адреноблокаторами и статинами на прогностическую значимость сывороточных уровней sST2 и изучить роль миокардиальных рецепторов ST2 в качестве мишени для патогенетической терапии больных хронической сердечной недостаточностью с сохраненной ФВ, перенесших коронарную реваскуляризацию. **Материал и методы.** Обследовано 72 пациента (59 мужчин и 13 женщин в возрасте 62 (56; 69) года) ИБС с ХСН I–III ФК (по NYHA) с медианой ФВ 63 (54; 65) %. Всем пациентам была выполнена коронарная реваскуляризация. Содержание sST2 в плазме крови определяли иммуноферментным методом до проведения коронарной реваскуляризации. **Результаты.** Особенности клинического течения ХСН рассматривались с учетом базового состояния экспрессии sST2: 1-я группа (n=35, ST2 >35 нг/мл) и 2-я группа (n=37, ST2 ≤35 нг/мл). Концентрация растворимой изоформы ST2 в сыворотке крови была выше на 45,3 % в 1-й группе и составила 46,78 (38,77; 62,52) нг/мл, а во 2-й – 25,60 (22,65; 29,1) нг/мл (p < 0,000001). С учетом достигнутой эквивалентной дозы β-адреноблокатора метопролола сукцината пациенты были разделены на подгруппы: A≤50 мг/сутки или B>50 мг/сутки. Чаще всего неблагоприятные сердечно-сосудистые события (ССС) в течение года регистрировались в 1А (n=19) подгруппе – 15 (78,9 %) пациентов, при этом в 2В подгруппе (n=20) не развивались неблагоприятные СССР, в 2А подгруппе (n=17) неблагоприятное течение ХСН регистрировалось в 2 (10,0 %) случаях, а в 1В подгруппе (n=16) – у 10 (62, 5%) больных. Через 12 мес проспективного наблюдения только в подгруппе 1В уровень sST2 статистически значимо снижался (p=0,003) на 36,5 % (p=0,003) с 44,05 (38,68; 52,26) нг/мл до 27,96 (20,29; 30,17) нг/мл, в остальных подгруппах выявлена тенденция к снижению сывороточных уровней sST2. В зависимости от получаемой на момент госпитализации гиполипидемической терапии пациенты были разделены на 3 группы. В 1-ю группу включили 50 пациентов (69,4 %), получающих аторвастатин в средней дозе 20 (20; 20) мг, во 2-ю – пациентов на терапии розувастатином (n=7; 9,7 %) в средней дозе 10 (10; 15) мг, в 3-ю группы вошли пациенты (n=15; 20,8 %), по различным причинам не принимавшие статины. Исходно уровень sST2 у пациентов, получавших аторвастатин, составил 29,26 (22,13; 40,67) нг/мл., а розувастатин – 24,7 (16,16; 35,75) нг/мл, у больных без гиполипидемической терапии – 34,55 (31,61; 41,61) нг/мл и статистически значимо не различался (p=0,118). При сравнении групп пациентов, получавших и не принимавших статины, также не было установлено статистически значимых различий (p=0,117) между уровнями sST2. **Заключение.** Таким образом, установлена важная роль миокардиальных рецепторов ST2 в качестве мишени для терапии β-адреноблокаторами у больных с СНсФВ. Взаимосвязи между приемом статинов в низкодозовом режиме и уровнем ST2 не обнаружено. Продолжается набор материала.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, прогнозирование, sST2, неблагоприятные сердечно-сосудистые события.

MYOCARDIAL INTERLEUKIN RECEPTORS - MEMBERS OF ST2 FAMILY AS A TARGET FOR PATHOGENETIC THERAPY IN PATIENTS WITH HEART FAILURE WITH PRESERVED EJECTION FRACTION

K.V. Kopeva

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Objective. To assess the effect of pathogenetic therapy with β -blockers and statins on the prognostic significance of serum sST2 levels and to study the role of myocardial ST2 receptors as a target for pathogenetic therapy in patients with chronic heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) underwent coronary revascularization. **Materials and methods.** A total of 72 patients (59 men and 13 women aged 62 (56, 69) years) with ischemic HF of NYHA class I-III with baseline EF 63 (54; 65) % were enrolled. All patients underwent coronary revascularization. Serum levels of sST2 were measured using ELISA before myocardial revascularization. **Results.** Depending on sST2 expression, all patients were divided into 2 groups: group 1 ($n = 35$, $ST2 > 35$ ng/mL) and group 2 ($n=37$, $ST2 \leq 35$ ng/mL). The concentration of ST2 in group 1 was higher by 45.3 % and it was 46.78 (38.77; 62.52) ng/mL, and in group 2 – 25.60 (22.65; 29.1) ng/mL ($p < 0.000001$). Depending on achieved equivalent dose of β -blocker metoprolol succinate patients were divided into 2 subgroups: A ≤ 50 mg or B > 50 mg. For 12 months adverse cardiovascular events (ACEs) were registered in subgroup 1A ($n=19$) in 15 (78,9 %) patients, in subgroup 2B ($n=20$) ACE did not develop, in subgroup 2A ($n=17$) ACEs were developed in 2 (10.0 %) cases, and in subgroup 1B ($n = 16$) in 10 (62.5 %) patients. After 12 months of prospective follow-up only in subgroup 1B, tsST2 level were significantly decreased ($p = 0.003$) by 36.5 % ($p = 0.003$) from 44.05 (38.68; 52.26) ng/mL to 27.96 (20.29; 30,17) ng/mL. There was a tendency to decrease serum levels sST2 in others. Depending on lipid-lowering therapy at admission, patients were divided into 3 groups. The group 1 included 50 patients (69.4 %) receiving atorvastatin with average dose of 20 [20; 20] mg, in group 2 – patients on rosuvastatin ($n=7$; 9.7 %) with average dose of 10 (10; 15) mg, group 3 included patients ($n=15$, 20.8 %) not taking statins for various reasons. Baseline, sST2 levels in patients receiving atorvastatin was 29.26 (22.13; 40,67) ng/mL, and rosuvastatin – 24,7 (16,16; 35,75) ng/mL, in patients without lipid-lowering therapy – 34.55 (31.61; 41.61) ng/mL and sST2 levels did not differ significantly ($p=0.118$). There were no significant differences between patients who received and not statins ($p=0.117$). **Conclusion.** Our data suggest the important role of myocardial ST2 receptors as a target for therapy with β -blockers in patients with HFpEF. The relationship between low-dose statin regime and sST2 levels did not found.

Keywords: heart failure, prognosis, sST2, adverse cardiovascular events.

Актуальность. В настоящее время ST2 представляет собой новый биомаркер, наряду с натрийуретическими пептидами, играющий важную роль в патофизиологии сердечно-сосудистых заболеваний (дезадаптивное ремоделирование сердца, дисфункция и апоптоз миокарда, сердечная недостаточность (СН), аритмогенез, внезапная сердечная смерть) [1–3]. У пациентов с повышенным уровнем в крови sST2 прослеживается постоянная взаимосвязь с аутоиммунными и воспалительными заболеваниями с ответными реакциями Т-хелперных клеток 2 типа [4]. Установлено, что оптимальная патогенетическая терапия ХСН с использованием β -адреноблокаторов, ингибиторов АПФ, блокаторов рецепторов к ангиотензину II и блокаторов минералокортикоидных рецепторов обеспечивает регресс ремоделирования ЛЖ, и, тем самым, улучшает отдаленный прогноз [2, 3, 5]. Вместе с тем на сегодняшний день существует мало данных, касающихся потенциальной взаимосвязи между эффективностью патогенетической терапии ХСН, регрессом ремоделирования миокарда, антиаритмической эффективностью и уровнем экспрессии sST2 у пациентов с сохраненной фракцией выброса левого желудочка (СНсФВ).

Цель – оценка влияния патогенетической терапии β -адреноблокаторами и статинами на прогностическую значимость сывороточных уровней sST2 и изучение роли миокардиальных рецепторов ST2 в качестве мишени для патогенетической терапии больных с СНсФВ, перенесших коронарную реваскуляризацию.

Материал и методы. Протокол исследования был одобрен Локальным этическим комитетом. Все пациенты дали свое письменное информированное согласие на включение в исследование, ангиографическую процедуру, реваскуляризацию миокарда, использование результатов и длительное проспективное наблюдение.

В исследование включено 72 пациента (59 мужчин и 13 женщин) с ИБС с ХСН I–III ФК (по NYHA) с сохраненной и умеренно сниженной фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) 63 (54; 65) %, в среднем возрасте 62 (56; 69) года. Всем пациентам была выполнена коронарная реваскуляризация. Содержание sST2 в плазме крови определяли иммуноферментным методом до проведения коронарной реваскуляризации.

Критерии неблагоприятного течения ХСН: общая и сердечно-сосудистая смертность, повторные инфаркты миокарда, а также острое нарушение мозгового кровообращения, коронарная реваскуляризация (хирургическая, эндоваскулярная) в связи с рестенозированием первично имплантированного стента или стенозированием нативных коронарных артерий,

рецидивы стенокардии, прогрессирование ХСН (на 1 и более ФК по NYHA по результатам ТШХ), госпитализация по поводу коронарных событий, выявление ЖЭС IV и V градаций по Lown, фибрилляции предсердий.

Результаты. Особенности клинического течения ХСН, стратификация факторов риска развития кардиоваскулярных событий рассматривались с учетом базового состояния экспрессии sST2: 1-я группа (n=35, ST2 >35 нг/мл) и 2-я группа (n=37, ST2 ≤35 нг/мл) и с учетом достигнутой дозы β-адреноблокатора метопролола сукцината (подгруппа А ≤50 мг/сутки или В >50 мг/сутки). Все суточные дозы каждого конкретного β-адреноблокатора конвертировали в общую суточную дозу, эквивалентную высвобождению метопролола сукцината (в соответствии с данными исследования PROTECT) в следующем соотношении: карведилол – 4, бисопролол – 20, пропранолол – 0,83, соталол – 1,2 [5]. Концентрация растворимой изоформы ST2 в сыворотке крови была выше на 45,3 % в 1-й группе и составила 46,78 (38,77; 62,52) нг/мл, а во 2-й – 25,60 (22,65; 29,1) нг/мл (p<0,000001). Установлено, что частота наступления неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в подгруппах статистически значимо различалась (p<0,000001). Чаще всего неблагоприятные сердечно-сосудистые события (ССС) в течение года регистрировались в 1А (n=19) подгруппе – 15 (78,9 %) пациентов, при этом в 2В подгруппе (n=20) не развивались неблагоприятные СССР, в 2А подгруппе (n=17) неблагоприятное течение ХСН регистрировалось в 2 (10,0 %) случаях, а в 1В подгруппе (n=16) – у 10 (62,5 %) больных. Через 12 мес проспективного наблюдения только в подгруппе 1В уровень sST2 статистически значимо снижался (p=0,003) на 36,5 % (p=0,003) – с 44,05 (38,68; 52,26) нг/мл до 27,96 (20,29; 30,17) нг/мл, в остальных подгруппах выявлена тенденция к снижению сывороточных уровней sST2. При межгрупповом сравнении уровней sST2 выявлены статистически значимые различия как в исходном (p<0,00001) периоде, так и через 12 мес проспективного наблюдения (p=0,012). Через 12 мес проспективного наблюдения в 1В подгруппе (sST2>35 нг/мл и доза β-блокатора >50 мг) уровень sST2 статистически значимо снижался (p=0,003) на 36,5 % (p=0,003) – с 44,05 (38,68; 52,26) нг/мл до 27,96 (20,29; 30,17) нг/мл. В остальных подгруппах пациентов, получавших β-блокаторы, выявлена тенденция к снижению уровней sST2 в сравнении с исходными значениями. В данное исследование не была включена, но отдельно была проанализирована динамика показателей 15 больных с ИБС и ХСН, которым в соответствии с настоящими рекомендациями не требовалась терапия β-блокаторами (стабильная ИБС без ИМ в анамнезе, целевая ЧСС без терапии β-блокаторами). В данной группе больных имела тенденция к увеличению уровней sST2 через 12 мес, так, исходный уровень sST2 был на 3,9 % (p=0,241) меньше в сравнении с уровнем экспрессии sST2 через 12 мес, составив 34,95 (25,84; 61,48) и 38,85 (22,13; 54,05) нг/мл соответственно, при этом неблагоприятные СССР в данной группе зарегистрированы в 8 (53,3 %) случаях.

С целью оценки влияния терапии статинами на концентрации sST2, в зависимости от получаемой на момент госпитализации гиполипидемической терапии, пациенты были разделены на 3 группы. В 1-ю группу включили 50 пациентов (69,4 %), получавших аторвастатин в средней дозе 20 (20; 20) мг, во 2-ю – пациентов на терапии розувастатином (n=7; 9,7 %) в средней дозе 10 (10; 15) мг, в 3-ю группы вошли пациенты (n=15; 20,8 %), по различным причинам не принимавшие статины. Исходно уровень sST2 у пациентов, получающих аторвастатин, составил 29,26 (22,13; 40,67) нг/мл, а розувастатин – 24,7 (16,16; 35,75) нг/мл, у больных без гиполипидемической терапии – 34,55 (31,61; 41,61) нг/мл и статистически значимо не различался (p=0,118). При сравнении групп пациентов, получавших и не принимавших статины, также не было установлено статистически значимых различий (p=0,117) между уровнями sST2.

Заключение. Таким образом, установлена роль миокардиальных рецепторов ST2 в качестве мишени для терапии β-адреноблокаторами у больных ХСН с сохраненной фракцией выброса. Взаимосвязи между приемом статинов в низкодозовом режиме и уровнем ST2 не обнаружено. Продолжается набор материала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pascual-Figal D.A., Lax A., Perez-Martinez M.T., del Carmen Asensio-Lopez M., Sanchez-Mas J.; GREAT Network. Clinical relevance of sST2 in cardiac disease. Clin Chem Lab Med. 2016 Jan; 54(1): 29–35. doi: 10.1515/cclm-2015-0074.
2. Boisot S., Beede J., Isakson S., Chiu A., Clopton P., Januzzi J., Maisel A.S., Fitzgerald R.L. Serial sampling of ST2 predicts 90-day mortality following destabilized heart failure. J Card Fail 2008; 14: 732–738.
3. Weir R.A., Miller A.M., Murphy G.E., Clements S., Steedman T., Connell J.M., McInnes I.B., Dargie H.J., McMurray J.J. Serum soluble ST2: a potential novel mediator in left ventricular and infarct remodeling after acute myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 2010; 55: 243–250.
4. Kakkar R., Lee R.T. The IL-33/ST2 pathway: therapeutic target and novel biomarker. Nat Rev Drug Discov. 2008; 7(10): 827–40.
5. Gaggin H.K., Motiwala S., Bhardwaj A., Parks K.A., Januzzi. Soluble Concentrations of the Interleukin Receptor Family Member ST2 and b-Blocker Therapy in Chronic Heart Failure. Circ Heart Fail. 2013; 6: 1206–1213.

ЭКСПРЕССИЯ ММП-2 В КАРДИОМИОЦИТАХ КРЫС В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ АНТРАЦИКЛИНОВОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

Н.А. Листвягова

Институт молекулярной патологии и патоморфологии, г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Экспериментально исследована локализация матриксной металлопротеиназы-2 (ММП-2) в миокарде крыс-самцов Вистар после введения сублетальной (7 мг/кг) дозы доксорубина гидрохлорида методом иммуногистохимии. Экспрессия ММП-2 регистрировалась преимущественно в ядрах кардиомиоцитов. Индекс ММП-2-положительных ядер увеличился в 2,6 раза с развитием антрациклиновой кардиомиопатии. К 14-му дню эксперимента ММП-2 обнаруживалась и в саркоплазме кардиомиоцитов.

Ключевые слова: антрациклиновая кардиомиопатия, матриксная металлопротеиназа-2, кардиомиоциты, иммуногистохимия.

THE EXPRESSION OF MMP-2 IN RAT CARDIOMYOCYTES DURING THE DEVELOPMENT OF ANTHRACYCLINE CARDIOMYOPATHY

N.A. Listvyagova

Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Novosibirsk, Russia

Abstract

Localization of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in the myocardium of male Vistar rats after sublethal (7 mg/kg) injection of doxorubicin hydrochloride was experimentally studied by immunohistochemistry. MMP-2 expression was registered predominantly in the cardiomyocyte nuclei. A 2.6-fold increase of MMP-2 positive nuclei index was observed during the progression of anthracycline cardiomyopathy. By the 14th day of the experiment, MMP-2 had been exhibited in cardiomyocyte sarcoplasm as well.

Keywords: anthracycline cardiomyopathy, matrix metalloproteinase-2, cardiomyocytes, immunohistochemistry.

Негативные побочные эффекты противоопухолевой терапии являются не менее серьезной проблемой, чем сам неопластический процесс. Одним из наиболее эффективных и широко используемых в химиотерапевтических схемах препаратов является антрациклиновый антибиотик доксорубин [1], обладающий дозозависимым кумулятивным кардиотоксическим действием. Молекулярные механизмы антрациклин-зависимого ремоделирования миокарда до конца не выяснены, что ограничивает разработку и применение терапевтических средств. В частности, важное значение имеет исследование механизмов протеолиза структурных белков кардиомиоцитов, обуславливающих развитие сердечной недостаточности. Например, развивающиеся дисфункции миокарда часто ассоциируются с изменениями активности некоторых матриксных металлопротеиназ (ММП-2 и ММП-9), обнаруживаемых как во внеклеточном матриксе миокарда, так и в кардиомиоцитах [2–4]. Показано, что ММП-2 экспрессируется в кардиомиоцитах в процессе их пролиферации; в саркомерах миофибриллярных пучков и в ядрах кардиомиоцитов при развитии окислительного стресса [5, 6]. Таким образом, обнаружение внутриклеточных локализаций ММП-2 и установление интенсивности ее экспрессии в миокарде при различных патологических и физиологических состояниях могут быть использованы в изучении молекулярно-клеточных основ развития сердечной дисфункции.

Цель работы – изучить локализацию и характер экспрессии ММП-2 в миокарде крыс при использовании сублетальной дозы доксорубина в эксперименте.

Материал и методы. Антрациклиновую кардиомиопатию моделировали у крыс-самцов Вистар (n=28) однократным внутрибрюшинным введением доксорубина гидрохлорида

(ДОК) (Фармахеми Б.В., Нидерланды) в дозе 7 мг/кг в растворе 0,9 % NaCl. Контрольным животным одновременно с опытными внутривенно вводили физиологический раствор в объеме, соответствующем их массе тела. Животных выводили из эксперимента декапитацией через 3 и 14 сут после введения ДОК. Образцы миокарда фиксировали в 10 % растворе нейтрального забуференного формалина, заливали в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Экспрессию ММП-2 в миокарде оценивали иммуногистохимически с помощью поликлональных кроличьих антител к ММП-2 в разведении 1:100 (E18012, SpringBioscience, США).

Подсчет ММП-2-позитивных ядер кардиомиоцитов проводили в универсальном микроскопе «Leica DM 4000B», с использованием компьютерной программы «Leica QWinV3» при увеличении в 1000 раз в 20 непересекающихся полях зрения с последующим вычислением индекса ММП-2-позитивных ядер (ММП-2⁺).

Гистологический анализ срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, показал, что миокард контрольных животных преимущественно был представлен плотно упакованными мышечными волокнами; в тонких соединительнотканых прослойках различались кровеносные капилляры. В миокарде присутствовали отдельные кардиомиоциты с контрактурными повреждениями I и II степени, а также единичные клетки с литически поврежденной саркоплазмой. Экспрессия ММП-2 в кардиомиоцитах контрольных крыс наблюдалась преимущественно в ядрах и характеризовалась умеренной интенсивностью.

Через 3 сут после введения ДОК в миокарде появлялась мозаичность в окрашивании саркоплазмы кардиомиоцитов эозином. Регистрировались небольшие группы кардиомиоцитов с контрактурными повреждениями миофибрилл и отдельные кардиомиоциты с признаками лизиса саркоплазмы. Отмечался выраженный аннзокариоз с изменением формы ядер кардиомиоцитов, нередко их смещение в подсарколеммальную зону. Умеренный отек стромы миокарда сопровождался венозным и капиллярным полнокровием, лимфостазом.

В этот срок наблюдения количество ММП-2⁺ кардиомиоцитов возрастало, усиливалась интенсивность их иммуногистохимического окрашивания. Индекс ММП-2⁺ достоверно ($p < 0,001$) увеличивался в 2,1 раза по сравнению с контролем (рис. 1). В единичных случаях позитивное окрашивание выявлялось в виде незначительной зернистости участков саркоплазмы между полосами сокращения. В саркоплазме и ядрах кардиомиоцитов с контрактурными повреждениями экспрессия ММП-2 не выявлялась.

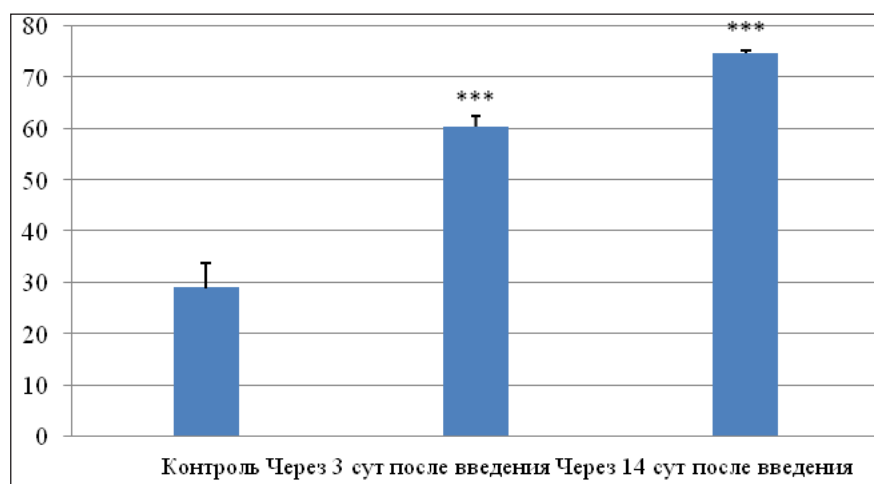


Рис. 1. Количественная оценка ММП-2-позитивных ядер кардиомиоцитов после введения доксорубина, *** – $p < 0,001$ по сравнению с контролем.

Через 14 сут после введения сублетальной дозы доксорубина деструктивные изменения в миокарде крыс усиливались. Нередко регистрировались более крупные, по сравнению с предыдущим сроком, очаги некролиза кардиомиоцитов, инфильтрированные мононуклеарными клетками. Развивался диффузный кардиосклероз. Гемодинамические нарушения сохранялись. В этот срок при проведении иммуногистохимического исследования возрастала интенсивность окрашивания саркоплазмы кардиомиоцитов, но локализация ММП-2 существенно не менялась. Достоверно ($p < 0,001$) в 2,6 раза по сравнению с контролем возрастал индекс ММП-2⁺ кардиомиоцитов (рис. 1); в кардиомиоцитах с контрактурными повреждениями иммуногистохимического окрашивания не наблюдалось.

Таким образом, иммуногистохимическое исследование выявило преимущественно ядерную экспрессию MMP-2 в миокарде как контрольных, так и подвергнутых действию сублетальной дозы доxorубина крыс. По мере развития антрациклиновой кардиомиопатии и усиления литических повреждений кардиомиоцитов достоверно увеличивался индекс MMP-2⁺ кардиомиоцитов, что сопровождалось появлением продуктов иммуногистохимической реакции в саркоплазме кардиомиоцитов. В контрактурно измененных кардиомиоцитах MMP-2 не регистрировалась. Можно предположить, что MMP-2 вносит вклад в развитие литических изменений кардиомиоцитов. Оценка характера и выраженности экспрессии MMP-2 в миокарде при введении антрациклиновых антибиотиков может способствовать разработке критериев повреждения миокарда при цитотоксических воздействиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mitry M.A., Edwards J.G. Doxorubicin induced heart failure: Phenotype and molecular mechanisms. *Int. J. Cardiol. Heart Vasc.* 2016 Mar; 10: 17–24. doi: 10.1016/j.ijcha.2015.11.004.
2. Baghirova S., Hughes B.G., Poirier M., Kondo M.Y., Schulz R. Nuclear matrix metalloproteinase-2 in the cardiomyocyte and the ischemic-reperfused heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2016 May; 94: 153–61. doi: 10.1016/j.yjmcc.2016.04.004.
3. Ali M.A., Fan X., Schulz R. Cardiac sarcomeric proteins: Novel intracellular targets of matrix metalloproteinase-2 in heart disease. *Trends Cardiovasc. Med.* 2011; 21(4): 112–8. doi: 10.1016/j.tcm.2012.03.008.
4. Fan X., Hughes B.G., Ali M.A., Chan B.Y., Launier K., Schulz R. Matrix metalloproteinase-2 in oncostatin M-induced sarcomere degeneration in cardiomyocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2016 Jul; 311(1): H183–9. doi: 10.1152/ajpheart.00229.2016
5. Chow A.K., Cena J., Schulz R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature. *British J. Pharmacology.* 2007 Sep; 152(2): 189–205. doi: 10.1038/sj.bjp.0707344.
6. Басаргина Е.Н., Гасанов А.Г., Бершова Т.В., Баканов М.И., Иванов А.П., Куприянова О.О. Состояние матриксных металлопротеиназ и их роль в формировании хронической сердечной недостаточности у детей с дилатационной кардиомиопатией. *Педиатрическая фармакология.* 2009; 6(3): 84–88.

ОЦЕНКА ДИНАМИКИ УРОВНЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЦИТОКИНА ФНО- α У БОЛЬНЫХ С РЕЗИСТЕНТНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ РЕНАЛЬНОЙ ДЕНЕРВАЦИИ

В.А. Личикаки, В.Ф. Мордовин, С.Е. Пекарский, Т.М. Рипп,
А.Ю. Фальковская, А.Е. Баев

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Фактор некроза опухоли альфа является первичным медиатором воспаления и одним из дополнительных факторов риска эссенциальной артериальной гипертензией (АГ). **Цель исследования** – оценка динамики уровня фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) у больных с АГ, резистентной к медикаментозной терапии, до и после ренальной денервации. В исследование включено 63 пациента, средний возраст 54,1 $\pm$ 11,2 года. После проведения ренальной денервации отмечается выраженное снижение уровня офисных и среднесуточных цифр артериального давления (АД) на – 30,6 $\pm$ 31,9/–14,4 $\pm$ 20,9 мм рт.ст. ($p<0,001$) и –13,6 $\pm$ 18,3/–8,2 $\pm$ 10,6 мм рт.ст. ($p<0,001$) соответственно. Отмечается значимое снижение уровня ФНО- α в сравнении с исходными показателями ($p<0,004$). Выявлена прямая зависимость между динамикой снижения уровня среднесуточного систолического АД по данным мониторинга и исходным уровнем исследуемого провоспалительного цитокина ($r=0,36$, $p=0,0055$), что может свидетельствовать о противовоспалительном действии денервации.

Ключевые слова: ФНО- α , ренальная денервация, артериальная гипертензия.

ASSESSMENT OF THE LEVEL OF PROINFLAMMATORY CYTOKINE TNF- α IN PATIENTS WITH RESISTANT HYPERTENSION UNDER THE INFLUENCE OF RENAL DENERVATION

V.A. Lichikaki, V.F. Mordovin, S.E. Pekarskiy, T.M. Ripp, A.Yu. Falkovskaya, A.E. Baev

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Tumor necrosis factor alpha is the primary mediator of inflammation and one of the additional risk factors for essential hypertension. Objective: to assess the dynamics of the level of tumor necrosis factor alpha (FNO- α) in patients with hypertension resistant to drug therapy, before and after renal denervation. The study included 63 patients, mean age 54.1 $\pm$ 11.2 years. After the renal denervation marked decrease in the level of office blood pressure on -30,6 $\pm$ 31,9/-14,4 $\pm$ 20,9 mmHg (p <0,001) and average daily level of blood pressure on -13,6 $\pm$ 18,3/-8,2 $\pm$ 10,6 mmHg (p <0,001). It is noted a significant decrease in levels of TNF- α in comparison with the original parameters (p <0,004). A direct relationship between the dynamics of reducing the average daily systolic blood pressure according to monitoring and the initial level of the studied proinflammatory cytokine (r =0.36, p =0.0055) was revealed, which may indicate an antiinflammatory effect of denervation.

Keywords: FNO- α , renal denervation, arterial hypertension.

Введение. Проблема лечения артериальной гипертензии (АГ) последнее время становится всё более актуальной, поскольку происходит неуклонный рост заболеваемости населения данной патологией, что подтверждается результатами ряда исследований [1]. Одновременно происходит рост резистентной формы АГ, характеризующейся отсутствием адекватного снижения уровня артериального давления (АД) на фоне приема комбинированной антигипертензивной терапии, включающей диуретик. Сохраняющийся в течение длительного времени высокий уровень АД повышает риск развития нежелательных сердечно-сосудистых катастроф. По данным литературы, в патогенезе гипертонической болезни, наряду с модифицируемыми факторами, немаловажную роль играет неспецифическое воспаление, обусловленное иммунной реакцией организма на хроническое субклиническое воспаление и активацией провоспалительных цитокинов, приводящее к формированию эндотелиальной дисфункции, атеросклерозу и возникновению кардио-васкулярных осложнений [2,3]. Фактор некроза опухоли альфа является первичным медиатором воспаления и одним из дополнительных факторов риска эссенциальной АГ и ишемической болезни сердца [4]. Проведение ренальной денервации почечных артерий, действующей на локальную симпатическую систему почек, способствует выраженному антигипертензивному эффекту [5], однако остается недостаточно изученным вопрос динамики провоспалительных цитокинов после данного вида лечения АГ. Таким образом, целью нашего исследования является оценка динамики уровня фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) у больных с АГ, резистентной к медикаментозной терапии, до и после ренальной денервации.

Материал и методы. В исследование включено 63 пациента, из них 37 женщин и 26 мужчин (средний возраст 54,1 $\pm$ 11,2 года) с АГ, резистентной к медикаментозной терапии. Критерием исключения явился бессимптомический характер гипертензии, выраженный атеросклероз/кальцификация почечных артерий, тяжелые сопутствующие заболевания. Всем пациентам проводилось офисное измерение артериального давления, суточное мониторирование АД, эхокардиографическое исследование сердца с расчетом показателя массы миокарда левого желудочка (ММЛЖ), биохимическое определение уровня ФНО- α исходно и через 12 мес после ренальной денервации. Количество постоянно принимаемых антигипертензивных препаратов на протяжении всего исследования не изменялось 4,0 $\pm$ 1,9.

Результаты. Исходный уровень офисного АД в среднем по группе составил 172,8 $\pm$ 22,4/95,1 $\pm$ 19,3 мм рт.ст., среднесуточного АД 159,9 $\pm$ 16,5/88,0 $\pm$ 16,1 мм рт.ст. Показатель ММЛЖ до проведения ренальной денервации составил 264,1 $\pm$ 83,5 г/м², уровень ФНО- α 5,2 $\pm$ 3,9 пг/мл. После проведения ренальной денервации отмечается выраженное снижение

уровня офисных и среднесуточных цифр АД на $-30,6 \pm 31,9 / -14,4 \pm 20,9$ мм рт.ст. ($p < 0,001$) и $-13,6 \pm 18,3 / -8,2 \pm 10,6$ мм рт.ст. ($p < 0,001$) соответственно. Достоверного уменьшения ММЛЖ через 12 мес после аблации в данном случае не выявлено. Отмечается значимое снижение уровня ФНО- α в сравнении с исходными показателями до $4,2 \pm 3,5$ пг/мл ($p < 0,004$). Выявлена прямая зависимость между динамикой снижения уровня среднесуточного систолического АД по данным мониторинга и исходным уровнем исследуемого провоспалительного цитокина ($r = 0,36$, $p = 0,0055$). Взаимосвязи между степенью выраженности и снижения гипертрофии левого желудочка с показателем ФНО- α обнаружено не было.

Выводы. Антигипертензивный эффект ренальной денервации почечных артерий, проводимой пациентам с АГ, резистентной к медикаментозной терапии, проявляется выраженным снижением офисных и среднесуточных цифр АД через 12 мес после вмешательства. Через 1 год после денервации выявлено значимое снижение уровня ФНО- α , исходный уровень которого коррелирует с динамикой снижения среднесуточного систолического АД, что может свидетельствовать о противовоспалительном действии денервации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kearney P.M., Whelton M., Reynolds K., Muntner P., Whelton P.K., He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005 Jan 15; 365(9455): 217–23.
2. Новикова Д.С., Попкова Т.В., Мач Э.С., Насонов Е.Л. Ригидность артерий: интегральный показатель сердечно-сосудистого риска у больных ревматоидным артритом. *Научно-практическая ревматология*. 2009; 5: 38–47.
3. Барсуков А.В., Таланцева М.С., Коровин А.Е., Мирохина М.А., Дыдышко В.Т., Васильев В.Н. Эссенциальная гипертензия и воспаление. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2013; 4 (44): 229–236.
4. Туев А.В., Карпунина Н.С. Маркеры воспаления при артериальной гипертензии и некоторых формах ишемической болезни сердца: клиническая и прогностическая значимость. *Артериальная гипертензия*. 2011. 17(6): 551–554.
5. Мордовин В.Ф., Пекарский С.Е., Семке Г.В., Рупп Т.М., Фальковская А.Ю., Ситкова Е.С., Личикаки В.А., Трисс С.В. Использование современных медицинских технологий для диагностики и лечения больных артериальной гипертензией. *Сибирский медицинский журнал*. 2015. 30(2): 29–35.

ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ НОВОГО МЕТОДА ЭНДОСКОПИЧЕСКОГО ВЫДЕЛЕНИЯ БОЛЬШОЙ ПОДКОЖНОЙ ВЕНЫ ПРИ АОРТОКОРОНАРНОМ ШУНТИРОВАНИИ

Д.В. Манвелян

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Актуальность. Большая подкожная вена продолжает оставаться наиболее востребованным кондуитом для коронарного шунтирования, однако традиционное выделение увеличивает риск осложнений на нижних конечностях и ухудшает качество жизни. Благодаря появлению эндоскопических методов выделение снизилась частота подобных осложнений. Несмотря на эти преимущества, сохраняются опасения относительно его пагубного воздействия на проходимость шунтов и клинические результаты. **Цель работы** – клиническая оценка и обоснование применения нового метода эндоскопического выделение большой подкожной вены. **Материал и методы.** В НИИ кардиологии был разработан способ эндоскопического выделение вены по методике «no-touch» без использования углекислого газа (патент № 2561001). Открытый метод выделение проводился у 125 пациентов (1-я группа), а эндоскопическое выделение у 123 пациентов (2-я группа). Оценивались осложнения в послеоперационном периоде и морфологические изменения фрагментов вен обоих способов выделение. Результаты. Возобновление стенокардии составило 1,6 % в 1-й группе и 1,65 % во 2-й группе, инфарктов миокарда не встречалось. В то же время пациенты отличались по количеству осложнений на нижних конечностях. В первой группе значительно чаще отмечались случаи лимфореи, гематомы, расхождения швов (22,3 %) по сравнению со второй группой пациентов (3,5 %). При морфологическом исследовании не выявлено данных о травматичности нового метода. **Заключение.** Новый метод эндоскопического выделение вены клинически эффективен и безопасен для применения, морфологически не травматичен для кондуита.

Ключевые слова: большая подкожная вена, коронарное шунтирование, малоинвазивная хирургия, эндоскопия.

FIRST RESULTS OF THE NEW METHOD ENDOSCOPIC HARVESTING OF A LARGE SAPHENOUS VEIN WITH CABG

D.V. Manvelyan

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Relevance. The large saphenous vein continues to be the most popular conduit for coronary artery bypass grafting, however, traditional isolation increases the risk of complications in the lower extremities and worsens the quality of life. Due to the appearance of endoscopic methods of isolation, the frequency of such complications decreased. Despite these advantages, concerns remain about its deleterious effect on shunt patency and clinical outcomes. **Objective.** Clinical evaluation and substantiation of the application of a new method of endoscopic isolation of the large saphenous vein. **Material and methods.** In the Institute of Cardiology, a method for the endoscopic isolation of veins was developed using the «no-touch» method without the use of carbon dioxide (patent No. 2561001). An open isolation method was performed in 125 patients (group 1), and endoscopic excretion in 123 patients (group 2). Complications in the postoperative period and morphological changes of vein fragments of both methods of isolation were assessed. Results. Renal angina pectoris was 1.6 % in Group 1 and 1.65 % in Group 2, myocardial infarction did not occur. At the same time, patients differed in the number of complications on the lower limbs. In the first group, cases of lymphorrhea, hematomas, seam divisions (22.3 %) were significantly more frequent compared with the second group of patients (3.5 %). Morphological examination revealed no evidence of the traumatic nature of the new method. **Conclusion.** The new method of endoscopic venous isolation is clinically effective and safe for use, morphologically not traumatic for conduit.

Keywords: great saphenous vein, coronary bypass surgery, minimally invasive surgery, endoscopy.

Введение. Основным хирургическим лечением пациентов с многососудистым поражением коронарного русла остается коронарное шунтирование [1]. Внутренняя грудная артерия является «золотым стандартом» для коронарного шунтирования, отличающимся высокими показателями проходимости в отдаленном послеоперационном периоде. Несмотря на это, большая подкожная вена остается наиболее востребованным кондуитом, обеспечивающим достаточный объем материала для шунтирования нескольких коронарных артерий. Традиционное выделение большой подкожной вены подразумевает рассечение мягких тканей на протяжении всей длины забираемого аутовенозного трансплантата. В некоторых случаях длина разреза может достигать 60 см [2]. Большая раневая поверхность, возникающая при этом, увеличивает риск осложнений, снижает косметический результат и удовлетворенность пациентов. Травматичность традиционного метода выделения большой подкожной вены является причиной длительного болевого синдрома. Неблагоприятным моментом являются и случаи нарушения кожной иннервации и невралгии нижней конечности, частота которых составляет от 90 % сразу после вмешательства и снижается до 10 % к 14–18 мес после операции [2].

С целью снижения частоты раневых осложнений в области выделения большой подкожной вены, повышения удовлетворенности пациентов были разработаны мини-инвазивные методы выделения большой подкожной вены. В 1996 г. в клиническую практику был введен эндоскопический метод выделения вены, описаны первые клинические результаты его применения.

Для эндоскопического выделения вены используются специальные наборы хирургических инструментов, объединенные в системы. В настоящее время используются несколько одноразовых и многоразовых систем с инсуффляцией диоксида углерода или без него. Различают открытые и закрытые системы. К закрытым системам относятся наборы инструментов фирмы Maquet («Vasovjew», Германия) и Terumo («VirtuoSaph», Япония), а к открытым системам – наборы инструментов «Karl Storz» (Германия), Sorin («VascuClear», Италия), Ethicon Endo-Surgery (США).

Различные типы эндоскопических систем имеют свои отличительные особенности. В закрытых системах для разделения тканей и формирования тоннеля над большой подкожной веной проводится инсуффляция углекислого газа, а выделение венозного кондуита выполняется при помощи биполярных ножниц. Такие системы также подразумевают до-

полнительный разрез в области паха и/или дистальной трети голени протяженностью 1–1,5 см для лигирования и отсечения вены. Инсуффляция углекислого газа может использоваться и в открытых системах для лучшей визуализации. Однако чаще всего выполняется механическое проведение ретрактора. Открытые эндоскопические системы включают в набор эндоскопические клиппикаторы и ножницы, благодаря чему нет необходимости в дополнительных разрезах, но при этом выделение вены проводится путем селективной обработки коллатералей с последующим клипированием и отсечением.

Внедрение в клиническую практику эндоскопического способа выделения БПВ позволило снизить частоту раневых инфекций на нижних конечностях до 4,3 %, уменьшить травматичность и значительно улучшить косметический результат. Несмотря на положительные результаты использования эндоскопических методик в рутинной практике многих клиник, встречаются публикации с неблагоприятными результатами применения эндоскопии в подготовке БПВ. В первую очередь у некоторых исследователей возникает опасение в возможной несостоятельности эндоскопически выделенных шунтов. Так, по данным Zenati и др. (2011 г.), количество нефункционирующих шунтов через 1 год составило 41,3 %. (3) Другие авторы также отмечают большое количество (42,6 %) несостоятельных шунтов из БПВ, подготовленных эндоскопическим путем, через 3 года после операции. Данные находки сопровождались возобновлением стенокардии, рецидивирующими инфарктами миокарда и повторными реваскуляризациями (4).

Подобные литературные данные стимулируют поиски путей оптимизации эндоскопического забора вены

Материал и методы. В исследование включено 248 пациентов, нуждающихся в плановой операции изолированного аортокоронарного шунтирования. Открытый метод выделения БПВ выполнен у 125 пациентов (1-я группа), а эндоскопическое выделение у 123 пациентов (2-я группа). Группы были сопоставимы по возрасту, полу, клиническим характеристикам и факторам риска раневых осложнений (сахарный диабет, атеросклероз сосудов нижних конечностей, курение, ожирение высоких градаций). Для исключения влияния исходного состояния вен на результаты всем пациентам проводилось ультразвуковое исследование вен нижних конечностей, исключались пациенты с варикозным расширением и большим диаметром (более 5 мм). У всех пациентов оценивались осложнения в послеоперационном периоде в сроки 13±2,5 дня после операции КШ. Прежде всего, оценивалась клиника ишемической болезни сердца (возврат стенокардии и случаи повторных инфарктов миокарда), осложнения на нижних конечностях (лимфорея, гематома, расхождение швов) и частота вторичных хирургических обработок. В качестве интегрального показателя оценивались сроки пребывания пациентов в стационаре. Помимо клинической оценки осложнений, образцы фрагментов обоих методов выделения подвергались сравнительному морфологическому исследованию для оценки травматичности обоих способов для кондуита. Забор вены на морфологическое исследование осуществлялся из смежных анатомических областей.

В данной работе использовалась эндоскопическая система компании Karl Storz, ретрактор (Freiburg model FDZ) со встроенным эндоскопом с оптикой HOPKINS Forward-Oblique Telescope 45° (49205 FA), клип-аппликатором (LUTZ Clip Fpplicator 49205 L), ножницы (LUTZ Scissors 38461 MW длиной 43 см.), а также биполярный электродиссектор Ligasure (Valleylab). Разработан способ эндоскопического выделения вены по методике «no-touch» без использования углекислого газа. Данный способ защищен патентом РФ на изобретение № 2561001.

Подготовка аутовенозных трансплантатов. Забор вены в исследуемой группе осуществляется с использованием открытой эндоскопической системы и электро-диссектора Ligasure. Выполняется поперечный разрез кожи на внутренней поверхности нижней конечности на уровне коленного сустава в месте прохождения большой подкожной вены длиной до 3 см. В этой области выполняется выделение сегмента большой подкожной вены от окружающих тканей и формирование карманов в дистальном и проксимально направленных. В сформированный карман устанавливается ретрактор со встроенным эндоскопом и оптикой HOPKINS Forward-Oblique Telescope 45°, а также заводится инструмент с функцией биполярной коагуляции и диссекции LigaSure (Valleylab) в дистальном направлении. Далее с помощью биполярного коагулятора-диссектора продолжается формирование лоскута большой подкожной вены со слоем окружающих тканей без выделения коллатералей (методика no-touch) с последующим созданием тоннеля над большой подкожной веной для дальнейшего движения ретрактора с эндоскопом. Тоннель в подкожно-жировой клетчатке может достигать в проксимальном направлении места впадения большой подкожной вены в

бедренную вену в паховой области, а в дистальном направлении – лодыжки. Использование LigaSure (Valleylab) позволяет коагулировать сосуды диаметром до 7 мм, и в то же время конструкция диссектора обеспечивает минимальное распространение тепла (со снижением термического воздействия на стенку будущего аутовенозного шунта). По окончании выделения вена лигируется клип-аппликатором (LUTZ Clip Applicator, Karl Storz) и отсекается ножницами (LUTZ Scissors, Karl Storz).

В 1-й группе применялся стандартный открытый способ выделения, который осуществлялся разрезом по Маделунгу на протяжении всей длины забираемого сосуда с выделением сосуда из окружающей клетчатки, клипированием боковых коллатералей и последующим послойным ушиванием раны.

Результаты. Возобновление стенокардии напряжения в раннем послеоперационном периоде встречалось редко и составило 1,6 % в 1-й группе и 1,65 % во 2-й группе ($p < 0,05$). Повторных инфарктов миокарда у пациентов не встречалось. В то же время пациенты значительно отличались по количеству осложнений на нижних конечностях в области выделения большой подкожной вены (27,2 % в 1-й группе и 6,4 % во 2-й группе, $p = 0,131$). В первой группе значительно чаще отмечались случаи лимфореи, гематомы, расхождения швов (22,3 %) по сравнению со второй группой пациентов (3,5 %) ($p = 0,167$). В 10,6 % случаев требовалась вторичная хирургическая обработка ран у пациентов после открытого выделения, и лишь в одном случае в группе эндоскопического выделения. В конечном счёте сроки пребывания пациентов в стационаре у пациентов 1-й группы значительно увеличились ($15 \pm 4,5$ сут) по сравнению со 2-й группой ($8 \pm 1,1$ сут) ($p = 0,361$).

При морфологическом исследовании не получено данных о губительным влиянии эндоскопического выделения на венозный кондуит. Целостность эндотелия, ориентация гладкомышечных клеток сохранялись в обеих группах, а число дискретных микроразрывов было одинаковым в обеих группах. В венозных кондуитах, выделенных открытым способом, отмечалась менее выраженная tunica adventicia.

Обсуждение. Свобода манипуляций во время эндоскопического выделения большой подкожной вены весьма ограничена по сравнению с открытым методом, что сопровождается частыми случаями повреждения коллатералей и сосудистой стенки будущего шунта. Селективная обработка притоков с множественным их клипированием, использующаяся в открытых системах, увеличивает риск подобных осложнений. Это представляет непосредственную угрозу для целостности кондуита и ставит под сомнение дальнейшую функциональность шунта.

Немаловажное значение имеет инсуффляция углекислого газа, использующаяся преимущественно в закрытых системах. Некоторые исследователи сообщают о значительном снижении функции эндотелия при использовании закрытой эндоскопической системы с инсуффляцией углекислого газа. Rousou L.J. et al. [5] сообщают о значительном снижении функции эндотелия при использовании закрытой системы с инсуффляцией углекислого газа (снижение продукции оксида азота и мобилизации кальция, что в конечном итоге приводит к нарушению вазомоторной функции эндотелия). Также в литературе опубликованы случаи эмболии углекислым газом у пациентов при непрерывной его инсуффляции во время эндоскопического выделения вены. Значительная газовая эмболия может привести к падению гемодинамики, снижению сатурации и увеличению содержания углекислого газа в выдыхаемой газовой смеси, что является причиной немедленной остановки процедуры.

В данной работе оптимизирована методика забора вены в открытой системе благодаря внедрению в методику инструментов с функцией биполярной электрокоагуляции и диссекции (Valleylab Ligasure), позволяющих исключить непосредственный механический и термический контакт с основным стволом и коллатеральями большой подкожной вены. В новом методе вена выделяется единым поскутом с окружающими тканями (no-touch), что благоприятствует дальнейшей функции аутовенозного шунта и является «золотым стандартом» при коронарном шунтировании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Windecker S., Kolh P., Alfonso F. Guidelines on myocardial revascularization. European Heart Journal 2014; 35: 2541–2619 doi:10.1093/eurheartj/ehu278.
2. Vechersky Y.Y., Zatolokin V.V., Petlin K.A., Shipulin V.M. Endoscopic harvesting of great saphenous vein for coronary artery bypass grafting. Khirurgiia (Mosk). 2016(5): 86–90. doi: 10.17116/hirurgia2016586-90.
3. Zenati M.A., Shroyer A.L., Collins J.F., Hattler B., Ota T., Almassi G.H., Sonel A.F. Impact of endoscopic versus open saphenous vein harvest technique on late coronary artery bypass grafting patient outcomes in the ROOBY (Randomized On/Off Bypass) Trial. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2011; 2(141): 338–344.

4. Lopes R.D., Hafley G.E., Allen K.B., Ferguson T.B., Peterson E.D., Harrington R.A., Califf R.M. Endoscopic versus Open Vein-Graft Harvesting in Coronary-Artery Bypass Surgery. *N Engl J. Med.* 2009; 361: 235–244.
5. Rousou L.J., Taylor K.B., Lu X.G., Healey N., Crittenden M.D., Khuri S.F., Thatte H.S. Saphenous Vein Conduits Harvested by Endoscopic Technique Exhibit Structural and Function Damage. *Ann Thorac Surg.* 2009; 87: 62–70.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ РИТМА СЕРДЦА У БОЛЬНЫХ С НЕЙРОГЕННЫМИ ОБМОРОКАМИ

И.Д. Мартынов

Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний, г. Новокузнецк, Россия

Аннотация

У больных с нейрогенными обмороками оценивалась вегетативная реактивность на ортостатическую нагрузку с использованием различных способов анализа variability ритма сердца. Определены наиболее информативные маркеры нарушений регуляции системы кровообращения, компенсаторные механизмы поддержания адекватной гемодинамики. Показано, что у больных с нейрогенными обмороками уже в молодом возрасте нарушается симпатическая вазомоторная регуляция, еще до возникновения ортостатической гипотензии.

Ключевые слова: нейрогенные обмороки, variability ритма сердца, система кровообращения.

THE STUDY OF HEART RATE VARIABILITY IN THE PATIENTS WITH NEUROGENIC SYNCOPE

I.D. Martynov

Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Novokuznetsk, Russia

Abstract

There was shown the informative content of spectral analysis of heart rate variability in the assessment of the regulatory impacts on the systemic hemodynamics during orthostatic test. It was observed that the patients who suffer from neurogenic syncope already at a young age had had a decrease in low frequency oscillations, as well as a decrease in peripheral vascular resistance during the test. It allows us to make a conclusion about the sympathetic vasomotor regulation dysfunction, even before the symptoms of orthostatic hypotension were evident.

Keywords: neurogenic fainting, heart rate variability, circulatory system.

Введение. О высокой распространенности обмороков в популяции свидетельствуют данные фремингемского исследования. Наиболее часто встречаются нейрогенные обмороки (НО), которые у лиц до 40 лет диагностируются в 51 % случаев [1–2]. Высокий процент обмороков, причина которых остается неясной, указывает на необходимость разработки новых стратегий для оценки механизмов их возникновения.

Активная ортостатическая проба физиологична и, в отличие от тилт-теста, не требует дополнительного оборудования, что обеспечивает ее доступность. К недостаткам метода можно отнести низкую информативность. Variability ритма сердца (ВРС) хорошо отражает степень напряжения регуляторных систем при любом стрессовом воздействии, реакцию симпатoadренальной системы. Целью исследования являлось изучение особенностей регуляции системной гемодинамики на пробу с активным ортостазом у больных с НО с использованием спектрального анализа ВРС.

Материал и методы. Были обследованы 48 пациентов молодого возраста с НО в анамнезе, а также 30 здоровых добровольцев для группы сравнения. Средний возраст 24,2 (0,85) и 23 (0,7) года соответственно.

На компьютерном электрокардиографе «Нейрософт-Полиспектр 8Е» выполнялась запись пятиминутных участков кардиоритма с последующей спектральной обработкой методом

быстрого преобразования Фурье и выделением волн в частотных диапазонах: Very Low Frequency (VLF) – диапазон очень низкой частоты 0,004–0,08 Гц; Low Frequency (LF) – диапазон низкой частоты 0,09–0,16 Гц; High Frequency (HF) – высокочастотные колебания 0,17–0,5 Гц. Измеряли систолическое и диастолическое артериальное давление (САД и ДАД, мм рт. ст.), а также частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд./мин) при помощи автоматического тонометра. Для оценки параметров системной гемодинамики рассчитывались пульсовое давление (ПД) как разность САД и ДАД. Систолический объем (СО) рассчитывался по формуле Стара, минутный объем крови (МОК=СО×ЧСС); по формуле Пуайзеля рассчитывалось периферическое сосудистое сопротивление (ПСС).

В положении лежа на спине регистрировались участок кардиоритма, АД и ЧСС. Затем испытуемые самостоятельно быстро переходили в положение стоя, в течение 5 мин регистрировалась ВРС. Гемодинамические параметры фиксировались в первые 30 сек от начала ортостаза.

Данные были обработаны с использованием пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 20. Различия признаков между группами оценивали с помощью U-критерия Манна – Уитни, значимость изменений показателей в каждой из исследуемых групп во время пробы определяли критерием Уилкоксона.

Результаты и обсуждение. У обследуемых из группы здоровых и группы больных с НО исходно в положении лежа показатели гемодинамики и спектрального анализа ВРС не различались и соответствовали возрастной норме. После перехода в положение стоя у больных с НО наблюдалось снижение мощности колебаний ВРС во всех частотных диапазонах ($p < 0,05$). Снижение показателей VLF и LF происходило более чем на 50 %, HF – более чем на 90 %.

Снижение ВРС описано у больных с вегетативной нейропатией, в частности при сахарном диабете. Отсутствие прироста LF-компонента при вставании отражает нарушение реакции симпатического звена. У обследованных нами больных с НО в ортостазе наблюдалось статистически значимое снижение ПСС.

При денервации сердца преимущественную роль в регуляции сердечной деятельности приобретает реагирование миокарда на котехоламины. Ранее было установлено, что у больных с НО снижен уровень содержания норадреналина в плазме крови. Выявлена корреляционная связь между мощностью низкочастотных (LF) колебаний ВРС и уровнем норадреналина в плазме крови. У обследуемых нами пациентов также снижалась мощность VLF-колебаний, связанных с активностью надсегментарных вегетативных центров и нейрогуморальными влияниями на сердечную деятельность.

Снижение парасимпатического показателя HF в ортостазе можно расценивать как приспособительный ответ через автономный контур регуляции. У больных с обмороками МОК компенсировался за счет увеличения ЧСС, возникающего на фоне снижения тонического вагального влияния на сердце.

Важным условием возникновения НО является повышение частоты сокращений желудочков сердца в ответ на снижение преднагрузки в условиях ортостаза. При интенсивном сокращении опорожненного левого желудочка чрезмерная активация рецепторов его деформации запускает рефлекс Бецоляда – Яриша. Избыточный поток афферентных импульсов от механорецепторов левого желудочка приводит к торможению сосудосуживающего центра, вызывая резкое падение симпатического тонуса сосудов и артериальную гипотензию.

Выводы. У больных с нейрогенными обмороками нарушена симпатическая вазомоторная регуляция уже в молодом возрасте [3]. Использование спектрального анализа ВРС во время активной ортостатической пробы у пациентов с обмороками может быть более полезно для выявления начальных расстройств вегетативной регуляции по сравнению с распространенным тилт-тестом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Головина Г.А., Сысункова Е.В., Глухова В.Л., Дупляков Д.В. Динамика variability ритма сердца в ходе тилт-теста у пациентов с вазовагальными синкопами. Функциональная диагностика. 2009; 1: 8–13.
2. Погодина А.В., Долгих В.В., Велявская О.В. Электрокардиологическая характеристика тилт-индуцированных кардиоингибиторных обмороков у детей и подростков. Российский кардиологический журнал. 2012; 2(94): 49–54.
3. Мартынов И.Д., Флейшман А.Н. Автономная дисрегуляция ортостатических нарушений у лиц молодого возраста, занимающихся физическим трудом. Медицина труда и промышленная экология. 2016; 5: 28–31.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ДИНАМИЧЕСКОЙ ОФЭКТ В ОЦЕНКЕ РЕЗЕРВА МИОКАРДИАЛЬНОГО КРОВотоКА У ПАЦИЕНТОВ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

**А.В. Мочула, К.В. Завадовский, С.Л. Андреев, А.Л. Крылов,
Ю.Б. Лишманов**

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Показана диагностическая информативность динамической однофотонной эмиссионной компьютерной томографии с определением показателя резерва миокардиального кровотока в оценке степени в оценке нарушений макро- и микроциркуляции коронарных артерий.

Ключевые слова: динамическая однофотонная эмиссионная компьютерная томография, резерв миокардиального кровотока, поражение коронарных артерий.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF DYNAMIC SPECT IN ASSESSMENT OF MYOCARDIAL FLOW RESERVE IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY ATHEROSCLEROSIS

A.V. Mochula, K.V. Zavadovsky, S.L. Andreev, A.L. Krylov, Yu.B. Lishmanov

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Determined diagnostic significance of dynamic single photon emission computed tomography with the assessment of myocardial flow reserve in the estimate of macro- and microcirculation disorders of the coronary arteries.

Keywords: dynamic single-photon emission computer tomography, myocardial flow reserve, lesion of coronary arteries.

По оценкам Всемирной организации здравоохранения, ишемическая болезнь сердца является ведущей причиной инвалидизации и смертности среди всех заболеваний сердечно-сосудистой системы [1]. Согласно современным рекомендациям по реваскуляризации миокарда, именно гемодинамическая значимость стеноза коронарной артерии (КА) является показанием для выполнения данного вида лечения. Одним из подходов к определению гемодинамической значимости атеросклеротического поражения КА является оценка миокардиального резерва (МР). Разработка новых методов неинвазивной оценки миокардиального резерва является на сегодняшний день актуальной проблемой современной кардиологии и лучевой диагностики [2].

Цель нашей работы – определить диагностическую информативность определения резерва миокардиального кровотока с помощью динамической однофотонной эмиссионной компьютерной томографии на гамма-камере с кадмий-цинк теллурическими детекторами.

Материал и методы. На базе НИИ кардиологии Томского НИМЦ (г. Томск) были обследованы 42 больных ишемической болезнью сердца. По данным инвазивной коронарной ангиографии все пациенты были подразделены на две группы. В первую группу были включены 12 пациентов (8 мужчин, 4 женщины) со стабильной ишемической болезнью сердца (стенокардия напряжения функциональный класс I–II) и наличием стенозов 50–70 % в одном или двух коронарных артериях (КА). Вторую группу составили больные (22 мужчины, 8 женщин) с многососудистым (наличие стенозов >70 % в двух и более КА) атеросклероти-

ческим поражением сосудов сердца: ИБС стенокардия напряжения функциональный класс II–III. Средний возраст пациентов в обеих группах достоверно не отличался: $61,5 \pm 3,8$ года и $60,1 \pm 4,3$ года соответственно. Всем пациентам была проведена инвазивная коронарная ангиография, динамическая однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) сердца с определением резерва миокардиального кровотока и перфузионная скintiграфия миокарда (ПСМ) [3,4,5]. В группе пациентов с одно- и двухсосудистым поражением коронарных во время проведения инвазивной ангиографии была выполнена оценка фракционного коронарного резерва.

Результаты. При сравнении результатов ПСМ между исследуемыми группами не было выявлено достоверных различий ни по одному показателю. Этот факт может быть связан с так называемым феноменом сбалансированной ишемии, который наблюдается при многососудистом поражении КА и является следствием глобального равномерного снижения перфузии миокарда левого желудочка. Проведенный ROC-анализ показал, что при значении глобального резерва миокардиального кровотока $<1,42$ чувствительность и специфичность динамической ОФЭКТ в идентификации многососудистого атеросклероза коронарных артерий составляет 68 % и 86,4 %, ($AUC=0,808$; $p<0,05$), тогда как у ПСМ данные значения составляют: 39,1 % и 86,4 % ($AUC=0,655$; $p<0,05$) соответственно («золотой» стандарт – инвазивная КАГ). При проведении сравнения площадей под ROC-кривыми между SSS и глобального РМК были выявлены значимые различия между ними. Чувствительность и специфичность показателя РМК в оценке гемодинамической значимости стенозов коронарных артерий при его значении $<1,33$ составили 100 % («золотой» стандарт ФРК). Более вероятно такие высокие значения чувствительности и специфичности в данном случае связаны с малым количеством пациентов с истинно значимыми стенозами КА.

Заключение. Выполнение стандартной ПСМ в сочетании с методикой определения резерва миокардиального кровотока позволяет повысить диагностическую значимость скintiграфического подхода в оценке нарушений миокардиальной микроциркуляции при многососудистом поражении коронарных артерий. Определение резерва миокардиального кровотока с помощью динамической ОФЭКТ является перспективным методом неинвазивной оценки гемодинамической значимости стенозов коронарных артерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fihn S.D., Blankenship J.C., Alexander K.P., Bittl J.A., Byrne J.G., Fletcher B.J., Fonarow G.C., Lange R.A., Levine G.N., Maddox T.M., Naidu S.S., Ohman E.M., Smith P.K., Anderson J.L., Halperin J.L., Albert N.M., Bozkurt B., Brindis R.G., Curtis L.H., DeMets D., Guyton R.A., Hochman J.S., Kovacs R.J., Ohman E.M., Pressler S.J., Sellke F.W., Shen W.K.; American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; American Association for Thoracic Surgery; Preventive Cardiovascular Nurses Association; Society for Cardiovascular Angiography and Interventions; Society of Thoracic Surgeons. 2014 ACC/AHA/ AATS/PCNA/SCAI/STS Focused Update of the Guideline for the Diagnosis and Management of Patients With Stable Ischemic Heart Disease. *Circulation*. 2014; 130: 1749–1767.
2. Kolh P., Windecker S., Alfonso F., Collet J.P., Cremer J., Falk V., Filippatos G., Hamm C., Head S.J., Jüni P., Kappetein A.P. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) Developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *Eur. Heart J.* 2014; 37: 2541–2619.
3. Мочула А.В., Завадовский К.В., Лишманов Ю.Б. Методика определения резерва миокардиального кровотока с использованием нагрузочной динамической однофотонной эмиссионной компьютерной томографии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015; 12: 845–848.
4. Мочула А.В., Завадовский К.В., Андреев С.Л., Лишманов Ю.Б. Динамическая однофотонная эмиссионная компьютерная томография миокарда как метода идентификации многососудистого поражения коронарного русла. Вестник рентгенологии и радиологии. 2016; 97(5): 289–295.
5. Mochula A., Zavadovskiy K., Andreev S., Lishmanov Y.U. Dynamic single-photon emission computed tomography data analysis: Capabilities for determining functional significance of coronary artery atherosclerosis. MATEC Web of Conferences. 2016; 79: 1–6.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ATR2A2 И RYR2 В ПРОГРЕССИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Э.Ф. Муслимова, Т.Ю. Реброва, О.В. Будникова, Д.С. Кондратьева,
Ш.Д. Ахмедов, С.А. Афанасьев

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Цель работы – оценить связь полиморфизмов rs1860561 гена Ca(2+)-АТФазы ATP2A2 и rs3766871 гена рианодинных рецепторов RYR2 с тяжестью течения сердечной недостаточности у больных ишемической болезнью сердца. **Материал и методы.** В исследование вошли 135 пациентов с ишемической болезнью сердца и хронической сердечной недостаточностью (ХСН) функционального класса (ФК) I (31,9%), II (49,6%) и III (18,5%). Исследование вариантов rs1860561 (110345436G>A) гена ATP2A2 и rs3766871 (5656G>A) гена RYR2 выполнено на амплификаторе ДТ-96 с использованием праймеров и сигнальных зондов, разработанных ООО «ТестГен» (Россия). **Результаты.** В общей выборке пациентов отсутствовали различия между группами изучаемых генотипов по тяжести ФК ХСН и гипертрофии ЛЖ. Выявлена ассоциация полиморфизма rs1860561 гена ATP2A2 с фракцией выброса левого желудочка ($p = 0,036$) с наименьшим значением в группе генотипа AA. **Заключение.** В выборке пациентов с ишемической болезнью сердца и ХСН обнаружена ассоциация варианта rs1860561 гена ATP2A2, кодирующего Ca(2+)-АТФазу SERCA2a, с фракцией выброса левого желудочка. Носительство аллеля А можно рассматривать как фактор риска прогрессирования сократительной дисфункции миокарда при ХСН.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, ATP2A2, RYR2, полиморфизм.

ROLE OF POLYMORPHISMS OF ATP2A2 AND RYR2 GENES IN THE PROGRESSION OF CHRONIC HEART FAILURE

E.F. Muslimova, T.Yu. Rebrova, O.V. Budnikova, D.S. Kondratieva,
Sh.D. Ahmedov, S.A. Afanasiev

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Aim. To evaluate the relationship of polymorphisms rs1860561 and rs3766871 of the Ca(2+)-ATPase ATP2A2 and ryanodine receptors RYR2 genes with the severity of heart failure in patients with coronary artery disease. **Materials and methods.** The study included 135 patients with coronary artery disease and chronic heart failure (CHF) of the functional class (FC) I (31.9 %), II (49.6 %) and III (18.5 %). A study of variants rs1860561 (110345436G>A) of the ATP2A2 gene and rs3766871 (5656G>A) of the RYR2 gene was performed on a DT-96 amplifier using primers and signal probes developed by Testgen (Russia). **Results.** In the total sample of patients, there were no differences between groups of studied genotypes according to the severity of CHF and LV hypertrophy. The association of the rs1860561 polymorphism of the ATP2A2 gene with the left ventricular ejection fraction ($p=0,036$) with the lowest value in the AA genotype group was revealed. **Conclusion.** Among patients with coronary artery disease and CHF, an association of variant rs1860561 of the ATP2A2 gene, encoding the Ca(2+)-ATPase SERCA2a, with the left ventricular ejection fraction was found. Carrying of allele A can be considered as a risk factor for the progression of contractile myocardial dysfunction in CHF.

Keywords: heart failure, ATP2A2, RYR2, polymorphism.

Известно, что хроническая сердечная недостаточность (ХСН) характеризуется рассогласованием процессов электромеханического сопряжения кардиомиоцитов, обусловленным нарушением функции саркоплазматического ретикулума (СР) кардиомиоцитов и внутриклеточного обмена Ca(2+). Эффективность Ca(2+)-транспортирующей системы СР напрямую зависит от функционирования Ca(2+)-АТФазы SERCA2a, осуществляющей обратный захват ионов из миоплазмы [1], и рианодинных рецепторов, освобождающих Ca(2+) из СР [2]. Изменение функциональной активности этих белков определяет сократительную дисфункцию миокарда и формирование ХСН. В свою очередь, структурные особенности Ca(2+)-транспортирующих белков, их функционирование и, следовательно, риск развития и прогрессирования ХСН могут зависеть от полиморфизмов соответствующих генов.

Цель работы – оценить связь полиморфизмов rs1860561 гена Ca(2+)-АТФазы ATP2A2 и rs3766871 гена рианодинных рецепторов RYR2 с тяжестью течения сердечной недостаточности у больных ишемической болезнью сердца.

Материал и методы. В исследование вошли 135 пациентов с ишемической болезнью сердца в форме стенокардии напряжения или перенесенного инфаркта миокарда давностью

не менее 6 мес, которым выполнена операция аортокоронарного шунтирования. Возраст в выборке составил 62 (55,5; 69) года; среди пациентов были 81 мужчина и 54 женщины. В соответствии с классификацией Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA) у больных определен функциональный класс (ФК) ХСН. ФК I, II и III диагностированы у 31,9 %, 49,6 % и 18,5 % пациентов соответственно. Все пациенты имели гипертоническую болезнь, у 16,4 % обнаружена гипертрофия левого желудочка.

Образцы геномной ДНК выделены из лейкоцитов периферической крови с помощью набора реагентов «Wizard Genomic DNA Purification Kit» («Promega», USA) по протоколу производителя. Исследованы полиморфные варианты rs1860561 (110345436G>A) гена ATP2A2, кодирующего Ca(2+)-АТФазу SERCA2a, и rs3766871 (5656G>A) гена рианодиновых рецепторов RYR2. Для амплификации ДНК использованы праймеры и сигнальные зонды, содержащие флуоресцентные метки FAM и HEX, разработанные ООО «ТестГен» (Россия). ПЦР, дальнейший раунд температурного плавления дуплексов, образованных ампликонами и сигнальными зондами, а также регистрацию результатов проводили на амплификаторе ДТ-96 («ДНК-Технология», Россия).

Распределение частот генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди – Вейнберга при помощи критерия χ^2 Пирсона в онлайн-программе Tests for deviation from Hardy-Weinberg equilibrium and tests for association (Institute of Human Genetics, German). Для анализа количественных данных использовали тест Краскела – Уоллиса для трёх независимых групп с поправкой Бонферрони. Результаты представляли в виде медианы и интерквартильного размаха Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 и Q3 – 25-й и 75-й перцентили. Для сравнения дискретных величин использовали критерий χ^2 Пирсона или двусторонний точный тест Фишера (при ожидаемых частотах менее 5). Качественные данные представляли как абсолютные и относительные частоты n (%).

Результаты и обсуждение. В исследуемой выборке частоты генотипов GG, GA, AA гена ATP2A2 оказались следующими: 85 (63,0 %), 45 (33,3 %) и 5 (3,7 %) соответственно. Распространенность аллеля А составила 20 %. Генотип 5656GG гена RYR2 выявлен у 100 (96,2 %) человек, а генотип 5656GA – у 4 (3,8 %) человек. В выборке отсутствовали лица с гомозиготным генотипом 5656AA. Частота аллеля 5656A составила 2 %. Распределение полиморфных вариантов гена ATP2A2 и гена RYR2 соответствовало равновесию Харди – Вайнберга ($p=0,749$ и $p=0,842$ соответственно). Частоты аллелей находились в диапазоне значений, представленных в «1000 Genomes Project Phase 3 allele frequencies» для европейских популяций. Отсутствовала гендерная специфичность в распределении вариантов rs1860561 и rs3766871.

Проведен анализ ассоциации исследуемых полиморфизмов с тяжестью ФК ХСН, с фракцией выброса левого желудочка (ЛЖ) и частотой гипертрофии ЛЖ. Частота ФК I, II, III ХСН у носителей генотипа GG гена ATP2A2 составила 23 (27,0 %), 44 (51,8 %), 18 (21,2 %), у носителей генотипа GA – 18 (40,0 %), 22 (48,9 %), 5 (11,1 %), у носителей генотипа AA – 2 (40,0 %), 1 (20,0 %), 2 (40,0 %), соответственно. Отсутствовали статистически значимые различия в распределении случаев ХСН между группами изучаемых генотипов ($p=0,181$). Гипертрофия ЛЖ среди гомозигот GG диагностирована у 11 (13,6 %) пациентов, среди носителей генотипа GA – у 10 (23,3 %) человек, среди гомозигот AA отсутствовали лица с гипертрофией ЛЖ ($p=0,305$). В то же время выявлена ассоциация полиморфизма rs1860561 гена ATP2A2 с фракцией выброса левого желудочка ($p=0,036$). У носителей аллеля А по сравнению с гомозиготами GG наблюдалось значимое снижение сократительной способности миокарда, причем наименьшая фракция выброса ЛЖ отмечена в группе генотипа AA, тем не менее значения фракции выброса соответствовали норме. Фракция выброса ЛЖ у носителей генотипов GG, GA, AA была 66 % (62; 69), 64 % (60; 68) и 62 % (62; 65), соответственно.

Известно, что Ca(2+)-АТФаза SERCA2a играет ключевую роль в процессах расслабления кардиомиоцитов. Установлено, что при ХСН экспрессия и активность SERCA2a снижаются, что приводит к дефекту удаления Ca(2+) из миоплазмы, возникновению перегрузки кардиомиоцитов ионами и повышению риска возникновения аритмий [3].

ХСН ФК I, II, III среди носителей генотипа 5656GG гена RYR2 диагностированы у 38 (38,0 %), 49 (49,0 %), 13 (13,0 %) пациентов соответственно. У 3 (75,0 %) человек с генотипом 5656GA выявлена ХСН ФК I и у 1 (25,0 %) пациента – ХСН II ФК ($p=0,465$). Фракция выброса ЛЖ у гомозигот 5656GG была 67 % (62; 69), у гетерозигот 5656GA – 64 % (61; 68). Не было значимых различий между рассматриваемыми группами ($p=0,656$). Все пациенты с гипертрофией ЛЖ являлись носителями генотипа 5656GG ($p=1,0$).

Каждый сократительный цикл в сердце требует выброса Ca(2+) из саркоплазматического ретикулума через рецепторы RYR2. При старении организма экспрессия и активность RYR2

снижаются, что является фактором риска ХСН, гипертрофии и ишемической кардиомиопатии [4]. В то же время в исследуемой выборке отсутствовала ассоциация варианта rs3766871 гена RYR2 с прогрессированием сократительной дисфункции миокарда. Возможно, это обусловлено малым числом пациентов-носителей аллеля 5656A из-за элиминации из популяции с возрастом. Так, Ran Y. et al. (2010) показали, что аллель 5656A полиморфизма rs3766871 связан с повышенным риском желудочковых аритмий и смерти у больных ХСН [5].

Заключение. В выборке пациентов с ишемической болезнью сердца и ХСН обнаружена ассоциация варианта rs1860561 гена ATP2A2, кодирующего Ca(2+)-АТФазу SERCA2a, с фракцией выброса левого желудочка. Носительство аллеля А можно рассматривать как фактор риска прогрессирования сократительной дисфункции миокарда при ХСН.

Работа поддержана РФФИ, грант № 17-04-01450

ЛИТЕРАТУРА

1. Afanasiev S.A., Kondratieva D.S., Kanev A.F., Kozlov B.N., Popov S.V. Differences in the force–interval relationship of isolated human myocardium with chronic coronary artery disease with and without type 2 diabetes mellitus and the role of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase. *Human Physiology*. 2017. 43(1): 54–60. doi: 10.1134/S0362119716060025.
2. Dulhunty A.F., Beard N.A., Hanna A.D. Regulation and dysregulation of cardiac ryanodine receptor (RyR2) open probability during diastole in health and disease. *J. Gen. Physiol.* 2012. 140(2): 87–92. doi: 10.1085/jgp.201210862.
3. Lehnart S.E., Maier L.S., Hasenfuss G. Abnormalities of calcium metabolism and myocardial contractility depression in the failing heart. *Heart Fail. Rev.* 2009. 14: 213–224. doi: 10.1007/s10741-009-9146-x.
4. Brund M.J., Wambolt R., Luciani D.S., Kulpa J.E., Rodrigues B., Brownsey R.W., Allard M.F., Johnson J.D. Cardiomyocyte ATP production, metabolic flexibility, and survival require calcium flux through cardiac ryanodine receptors in vivo. *The journal of biological chemistry*. 2013. 288(26): 18975–18986. doi: 10.1074/jbc.M112.427062.
5. Ran Y., Chen J., Li N., Zhang W., Feng L., Wang R., Hui R., Zhang S., Pu J. Common RyR2 variants associate with ventricular arrhythmias and sudden cardiac death in chronic heart failure. *Clin. Sci. (Lond.)*. 2010. 119(5): 215–223. doi: 10.1042/CS20090656.

НОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ АГОНИСТОВ ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ УМЕНЬШАЮТ РЕПЕРфуЗИОННЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕРДЦА

А.В. Мухомедзянов

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Ишемические и реперфузионные повреждения сердца являются главной причиной гибели пациентов с острым инфарктом миокарда (ОИМ). Процент летальных исходов при ОИМ в клиниках России остается катастрофически высоким (14 %). Одной из причин подобного положения дел является отсутствие высокоэффективных методов профилактики реперфузионных повреждений сердца. **Цель исследования** – выяснить, способны ли препараты на основе агонистов опиоидных рецепторов уменьшать реперфузионные повреждения сердца. Эксперименты выполнены на крысах-самцах линии Вистар массой 250–300 г, у которых моделировали коронароокклюзию (45 мин) и реперфузию (2 ч). В работе использовались агонист δ-опиоидных рецепторов (ОР) Дельтолей и κ-ОР К(4-1). В контрольной группе отношение ЗИ/ЗР составляло 48,5 %. После внутривенного введения агониста δ-ОР Дельтолея было выявлено достоверное уменьшения индекса ЗИ/ЗР на 25,5 % по сравнению с контрольной группой. Введение агониста κ-ОР К(4-1) способствовало снижению отношения ЗИ/ЗР в 2 раза. Установлено, что новые препараты на основе агонистов δ- и κ-опиоидных рецепторов способны уменьшать реперфузионные повреждения сердца.

Ключевые слова: сердце, реперфузия, опиоиды, опиоидные рецепторы.

PREPARATIONS BASED ON OPIOID RECEPTOR AGONISTS REDUCE REPERFUSION HEART DAMAGE

A.V. Mukhomedzyanov

Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Ischemic and reperfusion injury of the heart is the main cause of death of patients with acute myocardial infarction (AMI). The percentage of deaths with AMI in clinics in Russia remains catastrophically high (14 %). One of the reasons for this state of affairs is the lack of highly effective methods for preventing reperfusion injury of the heart. Therefore, the purpose of this study was to determine whether drugs based on opioid receptor agonists can reduce reperfusion injury of the heart. The experiments were performed on male Wistar rats weighing 250–300 g, in whom coronary occlusion (45 min) and reperfusion (2 h) were simulated. The agonist of the δ -opioid receptors (OR) of the Deltolei and κ -OR K (4-1) was used in the work. In the control group, the ZI / ZR ratio was 48.5 %. After intravenous administration of the δ -OR Deltolei agonist, a significant decrease in the ZI / ZR index was found to be 25.5 % compared to the control group. The introduction of the κ -OR agonist K (4-1) contributed to a 2-fold decrease in the ZI / ZR ratio. It has been established that new drugs based on agonists of δ - and κ -opioid receptors can reduce reperfusion injury of the heart.

Keywords: heart, reperfusion, opioids, opioids receptors.

Актуальность. Известно, что ишемические и реперфузионные повреждения сердца являются главной причиной гибели пациентов с острым инфарктом миокарда (ОИМ). Процент летальных исходов при ОИМ в клиниках России остается катастрофически высоким (14 %), несмотря на повсеместное внедрение методов реканализации инфаркт-связанной коронарной артерии, обеспечивающих быстрое возобновление коронарного кровотока у большинства пациентов [1]. Одной из причин подобного положения дел является отсутствие высокоэффективных методов профилактики реперфузионных повреждений сердца. Эти данные свидетельствуют о большой социальной значимости разработки лекарственных препаратов, предупреждающих ишемические и реперфузионные повреждения сердца, лежащие в основе патогенеза ОИМ. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что агонисты опиоидных рецепторов (ОР) способны оказывать выраженный кардиопротекторный эффект [2]. Исследования, проведенные в нашей лаборатории, показали, что агонист δ -ОР Дельтолейн II оказывает выраженный кардиопротекторный эффект [3]. Следовательно, агонисты ОР могут стать прототипом для разработки принципиально новых препаратов для профилактики реперфузионных повреждений сердца.

Цель работы – выяснить, способны ли препараты на основе агонистов опиоидных рецепторов уменьшать реперфузионные повреждения сердца.

Материал и методы: Эксперименты выполнены на крысах-самцах линии Вистар массой 250–300 г, у которых моделировали коронароокклюзию (45 мин) и реперфузию (2 ч). Коронароокклюзию и реперфузию осуществляли по методу J.E. Schultz et al. [4]. Животных наркотизировали внутривенным введением α -хлоралозы (60 мг/кг) и подключали к аппарату искусственной вентиляции легких “SAR-830 Series”. Коронароокклюзия будет верифицирована по появлению эпикардального цианоза и подъему сегмента ST. Правая сонная артерия будет канюлирована для измерения артериального давления (АД), которое регистрируют с помощью датчика давления SS13L (Biopac System Inc., Goleta, Калифорния, США), сопряженного с аппаратом для электрофизиологических исследований MP35 (Biopac System Inc., Goleta, США). Этот же аппарат будет использован для записи ЭКГ. Выявление зоны некроза и области риска проводили по методу J. Neckar et al. [5]. Размер области риска и зоны инфаркта (ЗИ) определяли компьютеризированным планметрическим методом. Размер зоны инфаркта выражается в процентах от размера зоны гипоперфузии (зона риска) как соотношение ЗИ/ЗР. В работе использовались агонист δ -опиоидных рецепторов (ОР) Дельтолейн и κ -ОР К(4-1). Все препараты вводились за 5 мин до реперфузии. Статистическую обработку данных проводили с помощью критерия Манна – Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. В контрольной группе отношение ЗИ/ЗР составляло 48,5 %. После внутривенного введения агониста δ -ОР Дельтолейн было выявлено достоверное уменьшения индекса ЗИ/ЗР на 25,5 % по сравнению с контрольной группой. Введение агониста κ -ОР К(4-1) способствовало снижению отношения ЗИ/ЗР в 2 раза. За время, прошедшее с момента коронароокклюзии до окончания реперфузии, достоверных изменений АД и ЧСС в контрольной группе животных выявлено не было. Внутривенное введение Дельтолейн не оказывало значимого эффекта на показатели АД и ЧСС на протяжении всего периода реперфузии. При использовании агониста κ -ОР К(4-1) также не удалось обнаружить изменения со стороны АД и ЧСС. Полученные данные свидетельствуют о том, что исследуемые препараты могут стать новыми средствами

для профилактики ишемических и реперфузионных повреждений сердца.

Выводы. Таким образом, установлено, что препараты на основе агонистов δ - и κ -опиоидных рецепторов способны уменьшать реперфузионные повреждения сердца и не влияют на показатели ЧСС и АД.

ЛИТЕРАТУРА

1. Марков В.А., Рябов В.В., Максимов И.В., Вышков Е.В., Демьянов С.В. Вчера, сегодня, завтра в диагностики и лечении острого инфаркта миокарда. Сибирский медицинский журнал. 2011; 26(2): 8–14.
2. Zhang W.P., Zong Q.F., Gao Q., Yu Y., Gu X.Y., Wang Y., Li Z.H., Ge M. Effects of endomorphin-1 postconditioning on myocardial ischemia/reperfusion injury and myocardial cell apoptosis in a rat model. Mol. Med. Rep. 2016; 14(4): 3992–3998.
3. Мухомедзянов А.В., Маслов Л.Н., Овчинников М.В., Сидоров М.В., Цибульников С.В., Цепокина А.В., Хуторная М.В., Кутихин А.Г. Влияние Дельторфина II и его ретро-энантиоаналога на устойчивость сердца к действию ишемии и реперфузии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016; 102(9): 284–287.
4. Schultz J.E.J., Hsu A.K., Gross G.J.J. Ischemic preconditioning and morphine-induced cardioprotection involve the delta (δ)-opioid receptor in the intact rat heart. Mol. Cell. Cardiol. 1997; 29(8): 2187–2195.
5. Neckar J., Szarszoi O., Herget J., Ostadal B., Kolar F. Cardioprotective effect of chronic hypoxia is blunted by concomitant hypercapnia. Physiol. Res. 2003; 52(2): 171–175.

ПОЛИМЕРНЫЙ ПРОТЕЗ КЛАПАНА СЕРДЦА СО СТОРЧАТЫМ АППАРАТОМ ЛЕПЕСТКОВОГО ТИПА. БИОСОВМЕСТИМОСТЬ IN VIVO

М.А. Резцова¹, П.А. Никишев², С.В. Костюк², Е.А. Овчаренко¹,
Ю.А. Кудрявцева¹

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия¹
Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета, г. Минск, Беларусь²

Аннотация

Одним из основных требований, предъявляемым к полимерным материалам, используемым при создании створчатого аппарата искусственного клапана сердца, является их высокая биосовместимость. В настоящем исследовании проведена сравнительная оценка биосовместимости *in vivo* на модели подкожной имплантации крысам синтезированного полимерного соединения группы SIBS (поли(стирол-блок-изобутилен-блок-стирола)), ePTFE ("расширенного" политетрафторэтилена марки Gore-tex, сосудистого протеза) и ксеноперикарда, консервированного по стандартным методикам диглицидиловым эфиром этиленгликоля (EGDE) и глутаровым альдегидом (GA). Обнаружена умеренная макрофагальная реакция на границе контакта с поверхностью полимера SIBS после двух недель эксперимента и начало процесса формирования соединительнотканной капсулы, и зрелая плотная фиброзная капсула (ФК), сопоставимая по толщине с ФК, образованной в процессе имплантации ePTFE, в период 2 месяцев. При этом устойчивость к кальцификации материала SIBS оказалась выше по сравнению с тем же параметром для ePTFE и перикарда, консервированного EGDE. Самый высокий уровень кальцификации в условиях эксперимента обнаружен для биологического материала, консервированного глутаровым альдегидом.

Ключевые слова: полимерный протез клапана сердца, биосовместимость, фиброзная капсула, кальцификация.

POLYMERIC LEAFLET HEART VALVE PROSTHESES. BIOCOMPATIBILITY IN VIVO

М.А. Rezvova¹, P.A. Nikishau², S.V. Kostjuk², E.A. Ovcharenko¹,
Yu.A. Kudryavceva¹

Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia¹
Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus²

Abstract

High biocompatibility is one of the basic requirements for polymeric materials used in the artificial heart valve creation. In this study there is comparative assessment of the biocompatibility in vivo on a subcutaneous implantation model for rats for the synthesized polymeric compound of the SIBS group (poly (styrene block-isobutylene-block-styrene)), ePTFE (expanded Gore-tex polytetrafluoroethylene, vascular prosthesis) and xenopericardium, fixed by diglycidyl ether of ethylene glycol (EGDE) and glutaraldehyde (GA). A moderate macrophagal reaction was detected at the contact interface with the SIBS-surface after two weeks of experiment. Fibrous capsule for SIBS-polymer was as small as for ePTFE during the implantation of for 2 months. The resistance to calcification of SIBS material was higher than the same parameter for ePTFE and EGDE-preserved pericardium. The highest level of calcification was found for biological material preserved with glutaraldehyde under experimental conditions.

Keywords: polymeric heart valve prosthesis, biostability, biocompatibility, calcification, fibrous capsule.

Первые попытки создания лепесткового клапана сердца на основе синтетических полимерных материалов были сделаны в 1960-х годах и оказались неудачными ввиду низкой биостабильности и биосовместимости используемых соединений, несовершенства процесса изготовления створчатого аппарата изделия и т. д. [1]. Современный уровень химии высокомолекулярных соединений позволил науке серьезно продвинуться вперед на пути создания синтетических трансплантатов различного назначения, обладающих высокой степенью биологической инертности [2], в том числе идея создания полимерного клапана лепесткового типа вновь обрела **актуальность**. Интерес ученых в данной области обоснован возможностью таких изделий сочетать в себе высокую биосовместимость биологических клапанов [3] и долговечность механических протезов [4] – решений, применимых сегодня в клинической практике. Объединяя преимущества существующих сегодня протезов, полимерные лепестковые клапаны позволят избежать перманентной антикоагулянтной терапии, необходимой при имплантации механических клапанов и реопераций, требующихся при использовании биологических протезов. Широкий спектр полимерных материалов уже исследован, среди которых особо перспективными являются сополимеры группы SIBS, благодаря своей химической структуре, определяющей эластичность и термопластичность, биостабильность и биологическую инертность материалов на их основе [5]. Сравнение биосовместимости полимерного соединения группы SIBS и применяемых в настоящее время в клинической практике синтетического полимера ePTFE и биологических полимеров – ксенопрекарда, консервированного различными химическими агентами, – является целью настоящей работы.

Материал и методы. Синтез поли(стирол-блок-изобутилен-блок-стирол) триблок-сополимеров осуществляли по механизму контролируемой катионной полимеризации методом последовательного введения мономеров в смеси растворителей гексан/хлористый метилен на иницилирующей системе дикумилхлорид/тетрахлорид титана при -80°C . Полимерные пленки толщиной 230–240 мкм получали методом полива из раствора. Исследование воспалительной реакции и кальцификации *in vivo* проводили путем подкожной имплантации образцов размером 5×5 мм крысам-самцам субпопуляции Wistar (вес 55–70 г) на срок наблюдения 2 нед (оценка первичной воспалительной реакции, $n=1$) и 2 мес (оценка воспалительной реакции и степени кальцификации, $n=10$). После окончания эксперимента образцы пленок биоптировали вместе с окружающими тканями, фиксировали в 4 % растворе нейтрального формалина с последующим заключением в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизон и ализариновым красным С, изучали на световом микроскопе «AXIO Imager.A1» (Carl Zeiss, Германия).

Результаты. Была обнаружена умеренная макрофагальная реакция на границе контакта с поверхностью полимерных матриц SIBS и ePTFE после двух недель эксперимента и начало процесса формирования соединительнотканной капсулы. Для образцов биологической ткани наблюдали проникновение клеточных элементов в структуру матрикса, рыхлую соединительнотканную капсулу значительной толщины. Зрелая плотная фиброзная капсула (ФК), сопоставимая по толщине с ФК, образованной в процессе имплантации ePTFE, была сформирована вокруг пленочного образца SIBS в течение 2 мес после имплантации, при этом на границе контакта с полимером в случае ePTFE идентифицированы гигантские многоядерные клетки, что свидетельствует о наличии умеренного воспалительного процесса. Для биологического материала, консервированного EGDE и GA, через два месяца после

имплантации соединительнотканная капсула четко не визуализировалась. Устойчивость к кальцификации материала SIBS по результатам эксперимента оказалась выше по сравнению с тем же параметром для ePTFE и перикарда, консервированного EGDE. Самый высокий уровень кальцификации был обнаружен для биологического материала, консервированного глутаровым альдегидом.

Заключение. Синтезированный нами полимер группы SIBS обладает высокой биосовместимостью по результатам эксперимента *in vivo* с позиции воспалительной реакции и процесса кальцификации и более предпочтителен с точки зрения данного критерия при создании створчатого аппарата полимерного протеза клапана сердца в сравнении с ePTFE и ксеноперикардом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chambers J. Prosthetic heart valves. *Int J Clin Pract.* 2014; 68(10): 1227–1230. doi: 10.1111/ijcp.12309.
2. Singhal P, Adriana L., Butany J. Bioprosthetic Heart Valves: Impact of Implantation on Biomaterials. *ISRN Biomaterials.* 2013; Article ID 728791, 14 pages. doi:10.5402/2013/728791.
3. Manji R.A., Ekser B., Menkis A.H., Cooper D.K.C. Bioprosthetic heart valves of the future. *Xenotransplantation.* 2014; 21(1): 1–10. doi:10.1111/xen.12080.
4. Jaffer I.H., Whitlock R.P. A mechanical heart valve is the best choice. *Heart Asia.* 2016; 8(1): 62–64. doi: 10.1136/heartasia-2015-010660.
5. Pinchuk L., Wilson G.J., Barry J.J., Schoepfoerster R.T., Parel J.M., Kennedy J.P. Medical applications of poly(styrene-block-isobutylene-block-styrene) ("SIBS"). *Biomaterials.* 2008; 29(4): 448–60. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.09.041.

КОНТРАСТИРОВАННАЯ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ТОМОГРАФИЯ В ОЦЕНКЕ ПОРАЖЕНИЯ СТЕНКИ АОРТЫ У ПАЦИЕНТОВ С РЕЗИСТЕНТНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИЕЙ

Н.И. Рюмина

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Актуальность. По данным ВОЗ, распространенность артериальной гипертонии (АГ) находится в диапазоне 30–45 % общей популяции. Согласно современным представлениям, сосуды рассматриваются в качестве одного из главных органов-мишеней АГ. Возможности магнитно-резонансной томографии (МРТ) позволяют визуализировать и оценивать сосудистую стенку, но, к сожалению, работ по изучению данной проблемы единицы. **Цель работы** – оценить возможности контрастированной МРТ в оценке состояния стенки аорты у больных резистентной артериальной гипертонией (РАГ). **Материал и методы:** 31 пациент с РАГ. Средний возраст – 57,8±8,75 года. АД по данным СМАД 137-210/57-148 мм рт.ст. МРТ проводилась на МР-томографе с индукцией магнитного поля 1,5 Т. Измерения проводились на T1-ВИ в аксиальной проекции на уровне отхождения почечных артерий исходно и после контрастирования (в/в Омнискан 0,2 мл/кг). Измерялись диаметр аорты, ИУ интенсивности изображения стенки аорты на данном уровне. Группу контроля составили 28 человек без сердечно-сосудистых заболеваний. **Результаты:** степень усиления контрастирования аорты статистически значимо (*t*-value 6.180054, *p*<0,0001) различается в группах лиц с РАГ и у пациентов с нормальным АД. При этом данные группы достоверно различались по значениям средних САД и ДАД, составляя: систолическое АД *p*<0,0001, *U*=0,00, *Z*=7,919656; диастолическое АД *p*<0,0001, *U*=401,500, *Z*=4,384646. При визуальном анализе и статистически достоверно (*R*=0,63537, *p*<0,0001) было различие между величинами ИУ правой и левой сторон стенки аорты, что подтверждает равномерное повреждение стенки аорты по всему диаметру сосуда. **Выводы:** МР-томография с контрастированием позволяет достоверно оценивать состояние сосудистой стенки при РАГ.

Ключевые слова: магнитно-резонансная томография аорты, резистентная артериальная томография.

CONTRAST-ENHANCED MAGNETIC-RESONANCE IMAGING IN THE EVALUATION ON LESIONS OF THE WALL OF AORTA IN PATIENTS WITH RESISTANT HYPERTENSION

N.I. Ryumshina

Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Aim: evaluation of MRI with contrast enhancement of wall of aorta in patients with resistant hypertension. **Subjects and methods.** 31 patients with resistant arterial hypertension were included, as old as $57,8 \pm 8,75$. The average 24-h monitor of the arterial pressure was as 137-210/57-148 mm Hg. The MRI studies were carried out using MRI scanner «Titan Vantage» by «Toshiba Medical Ltd.» with the field induction 1,5T. All measurements were performed on T1-VI in the axial slices at the level of the renal arteries departure initially and after contrast enhancement (Omniscan 0.2 ml/kg). Diameter of aorta and the index of enhancement (IE) was measurement, as ratio of intensities of contrast-enhanced image to the initial non-enhanced MRI scan. 28 patients without cardiovascular pathology were included in control group. **Results.** The degree of aortic contrast enhancement is statistically significant (t-value 6.180054, $p < 0.0001$) different in groups of individuals with resistant hypertension and in patients with normal BP. At the same time, these groups significantly differed in mean SBP and DBP values, making: systolic blood pressure $p < 0.0001$, $U = 0.00$, $Z = 7,919656$; diastolic blood pressure $p < 0.0001$, $U = 401,500$, $Z = 4,384646$. At visual analysis and quantitatively ($R = 0,63537$, $p < 0.0001$) there was a difference between the values of the right and left side of the aortic wall, which confirms uniform damage of the aortic wall along the entire border of the aorta wall. **Conclusions.** MRI with contrast enhancement is a reliable estimate of the condition of the aorta wall in patients with resistant hypertension.

Keywords: magnetic resonance imaging of aorta, resistant hypertension.

Введение. Несмотря на все многообразие лекарственных препаратов, а также интервенционных методов для лечения артериальной гипертонии (АГ), заболеваемость и смертность от повышенного АД неуклонно растут. По данным ВОЗ, распространенность АГ находится в диапазоне 30–45 % общей популяции, с резким возрастанием по мере старения [1]. Согласно современным представлениям, сосуды рассматриваются в качестве одного из главных органов-мишеней АГ. Происходящее на фоне длительного и стойкого повышения АД сосудистое ремоделирование способствует формированию и прогрессированию органной патологии, а также вносит свой вклад в развитие ассоциированных клинических состояний. Доказано, что повышение АД при хронической АГ само по себе способствует развитию гипертрофии сосудистой стенки. Поражение артерий крупного и среднего калибра, ассоциированное с эссенциальной АГ, характеризуется следующими морфологическими изменениями: гипертрофией и/или гиперплазией гладкомышечных клеток с утолщением медиальной оболочки сосудистой стенки, уменьшением соотношения эластин/коллаген, сужением диаметра просвета, увеличением внеклеточного матрикса, нередко повреждением эндотелиального слоя, быстрым развитием и прогрессированием атеросклеротического процесса [2]. Основываясь на этих патофизиологических механизмах, происходящих в сосудистой стенке, было предположено, что у лиц с длительным течением АГ накопление и выведение контрастного препарата из стенки аорты будет более выражено по сравнению с лицами без АГ. Возможности МРТ позволяют визуализировать и оценивать сосудистую стенку, но, к сожалению работ, по изучению данной проблемы единицы [4].

Цель – оценить возможности метода МРТ с контрастным усилением в оценке состояния стенки аорты у больных резистентной артериальной гипертонией. **Материал и методы:** оценены МР-исследования 31 пациента с верифицированным диагнозом РАГ. Средний возраст – $57,8 \pm 8,75$ года. АД по данным СМАД 137–210/57–148 мм рт.ст. МР-томография проводилась в лаборатории магнитно-резонансной томографии НИИ кардиологии Томского НИМЦ на магнитно-резонансном томографе «Titan Vantage» фирмы «Toshiba», со сверхпроводящим магнитом с индукцией магнитного поля 1,5 Т. Протокол МРТ исследования стандартный. Все измерения проводились на T1-ВИ в аксиальной проекции на уровне отхождения почечных артерий до и после контрастирования (в/в Омнискан 0,2 мл/кг). Вычислялись диаметр аорты, а также ИУ интенсивности изображения стенки аорты на данном уровне, как отношение контрастированного изображения к исходному ($IУ = \frac{T1-ВИ_{\text{контраст}}}{T1-ВИ_{\text{исходное}}}$). Группу контроля составили 28 человек без сердечно-сосудистых заболеваний с нормальными цифрами

АД, которым проводили МРТ поясничного отдела позвоночника, где на T1-ВИ также до и после контрастного усиления измерялись диаметр аорты на уровне отхождения почечных артерий и рассчитывался ИУ стенки аорты.

Результаты и обсуждение. Мы проанализировали взаимосвязь величины ИУ стенки аорты при контрастном усилении парамагнетиком с наличием у пациента верифицированной РАГ, а также с различными клиническими и биомеханическими параметрами. Оказалось, что степень усиления контрастирования аорты достоверно (t -value 6.180054, $p < 0,0001$) различается в группах лиц с РАГ и у пациентов с нормальным АД. При этом данные группы достоверно различались по значениям средних САД и ДАД, составляя соответственно: систолическое АД $p < 0,0001$, $U=0,00$, $Z=7,919656$; диастолическое АД $p < 0,0001$, $U=401,500$, $Z=4,384646$. Однако оказалось, что величины ИУ практически не связаны с антропометрическими показателями у этих пациентов. В частности, диаметр аорты совершенно не коррелировал с величиной ИУ у пациентов с АГ. При этом при визуальном анализе и статистически достоверно было заметно различие между величинами ИУ правой и левой сторон стенки аорты, что подтверждает примерно равномерное повреждение стенки аорты по всему диаметру сосуда. В настоящее время под ремоделированием понимают компенсаторно-приспособительную модификацию функции и морфологии сосудов в условиях длительного повышения АД. Этот процесс включает две стадии: 1) стадия функциональных изменений сосудов, обусловленная сосудосуживающими реакциями в ответ на трансмуральное давление и нейрогуморальную стимуляцию; 2) морфологическая стадия, которая характеризуется структурным уменьшением просвета сосудов вследствие утолщения их медиального слоя. Для аорты, которая относится к сосудам эластического типа, характерен второй тип ремоделирования – дилатация и общее увеличение сосуда с формированием аневризм. За счет стабильно повышенной скорости кровотока или уменьшения клеточного состава сосудистой стенки и активного протеолиза компонентов матрикса наблюдаются выраженное увеличение внутреннего и наружного диаметров сосуда при незначительном изменении толщины стенки, дезорганизация клеточного и не клеточного компонентов сосудистой стенки, уменьшение отношения толщина стенки/просвет сосуда. Имеются литературные данные, подтверждающие данные механизмы. А именно, Е.С. Макаренко и соавт. опубликовали результаты своего исследования почечного кровотока с использованием ультразвукографических методик, согласно которым для лиц с АГ характерно изменение не только количественных, но и фазовых (временных) показателей кровотока в почечных артериях [3].

Выводы. Таким образом, оказывается, что ИУ и сам синдром усиления интенсивности сигнала стенки аорты при парамагнитном контрастировании представляют собой самостоятельный клинический феномен, отличающий достоверно пациентов с АГ от лиц с нормальным АД и наличием хронического поражения опорно-двигательной системы, в частности остеохондроза позвоночника. МР-томография с контрастированием позволяет достоверно оценивать при РАГ состояние сосудистой стенки, в частности брюшной аорты, и, вероятно, является дополнительным диагностическим признаком.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рекомендации европейского общества гипертонии и европейского общества кардиологов 2013 г по лечению АГ. Journal of Hypertension. 2013; 31(7): 14–15, 66–69.
2. Назарова О.А., Назарова А.В. Поражение сосудов при артериальной гипертензии. Вестник ивановской медицинской академии. 2012; 17(2): 60–66.
3. Макаренко Е.С., Домбровский В.И., Неласов Н.Ю. Ультрасонографическое исследование кровотока в почечных артериях у больных артериальной гипертензией / Вестник рентгенологии и радиологии. 2012; 1: 34–37.
4. Рюмина Н.И., Мордовин В.Ф., Лукьяненко П.И., Усов В.Ю. Магнитно-резонансная томография с парамагнитным контрастированием в оценке местного воздействия ренальной денервации на стенку почечных артерий. Лучевая диагностика и терапия. 2015; 3(6): 83–89.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОРАЖЕНИЙ КЛАПАННОГО АППАРАТА СЕРДЦА ЧЕЛОВЕКА ПО ДАННЫМ ОПЕРАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА

Д.И. Ситдинов

Сибирский Государственный Медицинский Университет, г. Томск, Россия
Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В данном исследовании проанализированы морфологические изменения клапанов человеческого сердца, вызванные приобретенными пороками сердца различной этиологии. Высокая заболеваемость приобретенными пороками сердца подтверждает актуальность данного исследования. Изучены морфологические изменения клапанов, вызванные ревматическими и атеросклеротическими пороками сердца, инфекционным эндокардитом. Из 34 морфологических параметров установлены самые информативные по отношению к этиологии патологических процессов. Выявлено, что наличие и выраженность параметров зависят от анатомической локализации, пола и возраста пациентов. Установлено, что склероз митрального клапана, требующий хирургической коррекции, часто наблюдается в аортальном клапане при инфекционном эндокардите.

Ключевые слова: приобретенный порок сердца; инфекционный эндокардит; атеросклеротический порок сердца; ревматический порок сердца.

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF HUMAN HEART VALVE DAMAGE FROM TISSUES TAKEN DURING SURGERIES

D.I. Sitdikov

Siberian State Medical University, Russia, Tomsk
Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

In the present study, we analyzed morphological changes of human heart valve damage those caused by acquired defects of heart valves. Relevance of study is high incidence of acquired heart valves diseases. We studied morphological changes those characterize changes of heart valves caused by rheumatic heart disease, infective endocarditis and atherosclerosis. From the 34 morphological parameters, we found out the most informative, which characterize aetiology of pathological processes. In addition, we found out that existence and expressiveness of parameters depend on anatomical localization, sex and age of patients. Revealed, that sclerosis of mitral valve, which required surgical correction, often observed in aortic valve related to infective endocarditis.

Keywords: acquired heart disease; infective endocarditis; atherosclerotic heart disease; rheumatic heart disease.

Актуальность. Приобретённые органические пороки сердца нарушения деятельности сердца, преимущественно обусловленные морфологическими изменениями одного или нескольких его клапанов. Распространенность ревматических пороков составляет 34 200 000, включая 10 500 000 инвалидов и 319 400 смертей в результате осложнений болезни [1]. Вызывающий формирование пороков сердца инфекционный клапанный эндокардит, выявляется в среднем в 11,6 случаев на 100 000 человек, при этом отмечается тенденция к росту данной патологии [2]. Приводящие к формированию пороков морфологические изменения клапанов, вызывая нарушения функции сердца, зачастую приводят к необходимости хирургической коррекции. При этом, тактика оперативного вмешательства во многом определяется именно структурными изменениями клапанов. Морфологические (органические) изменения клапанов сердца человека различной этиологии достаточно хорошо изучены [3], однако отсутствуют исследования, посвященные их сравнительной информативности.

Цель: сравнительный анализ морфологических изменений клапанов сердца человека при приобретенных пороках различной этиологии.

Материалы и методы. Проведено гистологическое исследование клапанов сердца человека, удаленных в ходе операций по поводу приобретенных пороков аортального и(или) митрального клапанов (клиники НИИ Кардиологии Томского НИМЦ). Критерии выборки: лица обоего пола в возрасте от 18 лет и старше (разделение по возрастным группам 1844, 4559, 6074, 7589, >90, ВОЗ); этиология (приобретенные пороки: ревматические – 40 человек, неревматические – 69 человек, в результате инфекционного эндокардита – 87 человек); локализация поражения (аортальный клапан, митральный клапан, сочетанный порок – поражение аортального и митрального клапанов). Сравнительный анализ изменений створок клапанов выполнен по 34 морфологическим параметрам. Статистическая обработка проведена с использованием пакета программ «Statistica 10.0».

Результаты. Несмотря на значительный объем морфологических параметров, традиционно используемых для гистологической оценки изменений створок клапанов сердца, наиболее

информативными оказались всего несколько. По большинству показателей, статистически значимые различия отсутствовали не только в разных половых и возрастных группах, но и при разной анатомической локализации процесса. Как и ожидалось, отражающее наличие дезорганизации соединительной ткани – мукоидное набухание створок клапана, чаще выявляется при пороках ревматической этиологии (60 %, $p<0,05$). Данный признак наиболее часто регистрируется в митральном клапане (57 %, $p<0,05$). Обнаружено, что появление в стромах клапана крупных участков миксоматоза встречается в 85,2 % случаев приобретенных пороков ($p<0,05$), при этом, их возникновение зависит от локализации порока ($p<0,05$). Наиболее часто участки миксоматоза выявляются при поражении аортального клапана (48,2 %, $p<0,05$). При этом статистически значимой зависимости от этиологии процесса, не обнаружено, в отличие от выраженного диффузного склероза створок клапанов, наиболее часто встречающегося при инфекционном эндокардите (46,15 %, $p<0,05$). Грубая склеротическая деформация створок при инфекционном эндокардите чаще всего наблюдается в аортальном клапане (69,4 %, $p<0,05$). Установлено, что дистрофическое обызвествление створок клапана имеет зависимость от этиологии приобретенного порока. Чаще кальциноз клапанов возникает при неревматических поражениях (46,9 %, $p<0,05$) и при инфекционном эндокардите (46,1 %, $p<0,05$), значительно реже встречаясь при ревматических пороках (7 %, $p<0,05$). Бактериоскопический анализ микробной флоры продемонстрировал, что при инфекционном эндокардите доминирует (76 %, $p<0,05$) обсемененность Грамположительными микроорганизмами. При этом она часто сопровождается кальцинозом створок клапана (74,6 %, $p<0,05$) или выраженным диффузным склерозом (55,2 %, $p<0,05$). Чаще всего (67,2 %, $p<0,05$) обсеменению Грамположительной флорой подвергается аортальный клапан. При этом, наличие Грамположительных бактерий в створке клапанов в 38,8 % случаев ($p<0,05$) сопровождается острой воспалительной реакцией, проявляющейся нейтрофильной инфильтрацией. В 40,1 %, ($p<0,05$) инфильтрация носит мононуклеарный характер, отражая длительное течение воспалительного процесса.

Выводы. По результатам проведенного исследования установлено, что при использовании для морфологической оценки пороков клапанного аппарата сердца совокупности из 34-х морфологических параметров, наиболее информативными являются: мукоидное набухание, крупные участки миксоматоза, выраженный диффузный склероз створок клапанов, кальциноз, обсемененность Грамположительными микроорганизмами, мононуклеарная и нейтрофильная инфильтрация. Установлено, что требующая хирургической коррекции, склеротическая трансформация створок клапанов, чаще развивается в исходе поражения аортального клапана инфекционным эндокардитом. Неожиданными и требующими своего дальнейшего детального изучения находками явились зависимость развития кальциноза створок клапанов от этиологии процесса. В частности, более редкое возникновение кальциноза клапанов при ревматизме, а также зависимость формирования крупных участков миксоматоза от локализации поражения. Предпосылкой для дальнейшего исследования служит и обнаруженная зависимость связи обсемененности Грамположительными микроорганизмами с кальцинозом или выраженным диффузным склерозом створок клапанов. Не исключено, что указанные особенности могут отражать патоморфогенез воспалительного процесса и(или) свойства возбудителя.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sika-Paotonu D., Beaton A., Raghu A., Steer A., Carapetis J. Acute Rheumatic Fever and Rheumatic Heart Disease. *Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations*. 2017; 8: 771827.
2. Bin Abdulhak A.A., Baddour L.M., Erwin P.J., Hoen B., Chu V.H., Mensah G.A., Tleyjeh I.M. Global and regional burden of infective endocarditis, 1990-2010: a systematic review of the literature. *Glob Heart*. 2014 Mar; 9(1): 13143. doi: 10.1016/j.ghart.2014.01.002.
3. Wunderlich N.C., Beigel R., Siegel R.J. Management of Mitral Stenosis Using 2D and 3D Echo-Doppler Imaging. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013 Nov; 6(11): 1191205. doi: 10.1016/j.jcmg.2013.07.008.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КАК ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ ТЯЖЕЛЫХ ФОРМ ИБС

И.И. Ситдинов, Т.И. Власова, А.В. Москалева, Н.А. Мышкина

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва, г. Саранск, Россия

Аннотация

Выраженность деструкции клеточных мембран определяется не только степенью ишемии, но и активностью системы антиоксидантных ферментов. В основу работы положены результаты клинко-лабораторного исследования 76 больных с различными формами ИБС. Предварительный анализ полученных данных показал, что риск развития ИБС, в частности тяжелых форм, таких как инфаркт миокарда, повышается при наличии в геномах людей мутаций в гене SOD2.

Ключевые слова: мембранодеструктивные процессы, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, супероксиддисмутаза, ген SOD2, ИБС, стенокардия напряжения, инфаркт миокарда.

POLYMORPHISM OF GENES OF ANTIOXIDANT SYSTEM ENZYMES AS A FACTOR OF THE RISK OF DEVELOPMENT OF HEAVY FORMS OF ISCHEMIC HEART DISEASE

I.I. Sitdikov, T.I. Vlasova, A.V. Moskaleva, N.A. Myshkina

National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia

Abstract

The work is based on the results of a clinical and laboratory study of 76 patients with various forms of IHD. A preliminary analysis of the obtained data showed that the risk of development of IHD, in particular of severe forms, such as myocardial infarction, increases with the presence of mutations in the genomes of people in the superoxide dismutase gene.

Keywords: membrane-destructive processes, lipid peroxidation, antioxidant enzyme system, superoxide dismutase, SOD2 gene, IHD, stress angina, myocardial infarction.

Введение. Болезни сердечно-сосудистой системы, в частности ишемическая болезнь сердца (ИБС), занимают первое место в структуре смертности в мире [1]. Основным механизмом развития ИБС – нарушение кровоснабжения в миокарде, что приводит к ишемии, мембранодеструктивным процессам (МДП) и гибели кардиомиоцитов. Одним из механизмов МДП является активация перекисного окисления липидов (ПОЛ), возникающая при гипоксии [2]. В ответ на это в организме происходит активация системы антиоксидантных ферментов (АОФ), основными звеньями которой являются супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и глутатионпероксидаза. Во многом потенциал системы АОФ определен генотипом, и можно предположить, что выраженность МДП зависит не только от степени ишемии, но и от способности самих кардиомиоцитов противостоять ей.

Материал и методы. В основу работы положены результаты клинко-лабораторного исследования 76 больных, проходивших лечение в ГБУЗ РКБ № 4 г. Саранска: I группа – 36 больных с диагнозом: ИБС. Стенокардия напряжения; II группа – 40 больных с диагнозом: ИБС. Инфаркт миокарда. За контрольные значения были приняты результаты соответствующих исследований у 12 здоровых добровольцев обоего пола.

У всех больных был собран анамнез заболевания и проведены стандартные клинические и лабораторно-инструментальные исследования; была проведена оценка активности процессов ПОЛ путем определения содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ, АОФ, активности фосфолипазы A₂ (ФЛА2). При помощи ПЦР исследовали полиморфизм генов СОД, глутатионпероксидазы, каталазы.

В ходе анализа полученных данных была исследована активность оксидативного стресса и установлена корреляция с особенностями генотипа в исследуемых группах больных с различными формами ИБС.

Результаты. У больных с различными формами ИБС отмечался относительно высокий уровень первичных и вторичных продуктов ПОЛ: установлено достоверное увеличение МДА в I группе на 83,3 % (p<0,05), во II группе – на 123,7% (p<0,05) относительно нормы. Активность ФЛА2 превышала в 2 раза контрольные показатели в I группе и в 2,5 раза во II группе больных. Это свидетельствует об усилении активности процессов ПОЛ.

Установлено снижение активности СОД в I группе на 22,6 % ($p < 0,05$), во II группе – на 37,4% ($p < 0,05$) относительно контроля. Следует отметить достоверное снижение активности СОД у пациентов с инфарктом миокарда относительно больных стенокардией напряжения. Достоверных отличий в активности каталазы и глутатионпероксидазы в I и II группах выявлено не было.

Ген SOD2 кодирует марганцевую СОД (Mn SOD), играющую важную роль в ингибировании процессов ПОЛ. Наиболее значимой мутацией в гене SOD2 является замена (C47T), которая приводит к понижению активности фермента и повышенной повреждаемости тканей при окислительном стрессе. Показано, что частота встречаемости патологического аллеля полиморфизма C47T (Ala16Val) гена SOD2 в группе больных ИБС на 45 % выше показателей контрольной выборки. Для больных ИБС также характерно увеличение степени гетерозиготности. Важно отметить, что частота встречаемости гомозиготного признака по мутантному аллелю на 13 % выше у пациентов I и на 41 % выше у пациентов II группы относительно нормы. Это позволяет предположить, что у пациентов, гомозиготных по мутантному аллелю, риск развития тяжелых форм ИБС, в частности инфаркта миокарда, крайне велик.

Каталаза – один из главных АОФ. На экспрессивность гена, кодирующего каталазу, наиболее значимо влияет мутация (-262 C/T). [3] Изучение частоты аллелей гена (-262 C/T) показало, что у пациентов с ИБС доминирует гетерозиготный генотип (GA). Участие мутантного аллеля С гена каталазы в формировании патологического фенотипа при ИБС не подтверждено.

P1-глутатион S-трансферазу кодирует ген GSTP1. Полиморфизмы Ile105Val (313A>G) и 341C>T гена GSTP1 обуславливают продукцию фермента со сниженной активностью. [4] Полученные данные свидетельствуют о низкой распространенности патологических полиморфизмов в выборках обследуемых и указывают на наличие внутрипопуляционных особенностей.

Выводы. При ИБС в крови больных накапливаются продукты ПОЛ, снижается активность СОД, возрастает активность ФЛА2, что свидетельствует о важной роли ПОЛ в реализации патогенеза ИБС. Результаты исследования являются основанием для изучения генетической составляющей, связанной с наличием полиморфизмов в генах ферментов, влияющих на эффективность системы АОФ в организме больных.

Проведено изучение полиморфизма генов АОФ у пациентов с различными формами ИБС. Предварительный анализ полученных данных показал, что риск развития ИБС, в частности тяжелых форм данной патологии, таких как инфаркт миокарда, повышается при наличии в геномах людей мутаций в гене марганцевой СОД. Стоит отметить, что риск развития инфаркта миокарда крайне велик у пациентов, гомозиготных по мутантному аллелю.

ЛИТЕРАТУРА

1. 10 ведущих причин смерти в мире. ВОЗ. Информационный бюллетень. 2017. 3.
2. Начкина, Э.И., Чалдаева Д.Р., Григорьева Т.И., Лещанкина Н.Ю., Власов А.П., Власова В.П. Мембранопротекторы в коррекции функционально-метаболических нарушений миокарда при эндотоксикозе. Вестник новых медицинских технологий. 2009; XVI(1): 119–120.
3. Góth L., Nagy T., Kósa Z., Fejes Z., Bhattoa H.P., Paragh G., Káplár M. Effects of rs769217 and rs1001179 polymorphisms of catalase gene on blood catalase, carbohydrate and lipid biomarkers in diabetes mellitus. Free Radic Res. 2012; 46(10): 1249–1257.
4. Sharma A., Pandey A., Sharma S., Chatterjee I., Mehrotra R., Sehgal A., Sharma J.K. Genetic polymorphism of glutathione S-transferase P1 (GSTP1) in Delhi population and comparison with other global populations. Meta Gene. 2014; 2: 134–142.

КАРДИОПРОТЕКТИВНЫЙ ЭФФЕКТ РЕНАЛЬНОЙ ДЕНЕРВАЦИИ: ПРОКСИМАЛЬНАЯ ИЛИ ДИСТАЛЬНАЯ МЕТОДИКА АБЛАЦИИ?

Е.С. Ситкова, В.Ф. Мордовин, С.Е. Пекарский, Т.М. Рипп, О.В. Мочула, В.Ю. Усов, А.Е. Баев

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Актуальность. Ренальная денервация зарекомендовала себя как альтернативный метод для лечения резистентной артериальной гипертензии (АГ). Однако остаются вопросы поиска приоритетной группы пациентов для ренальной денервации и оптимизации методики для достижения лучшего эффекта лечения. **Цель** – изучить кардиопротективную эффективность ренальной денервации в динамике наблюдения после проксимальной и дистальной методики в сравнительном рандомизированном двойном слепом исследовании с параллельными группами. **Материал и методы.** 26 (11 мужчин, 15 женщин) пациентов с резистентной АГ и в возрасте $56,8 \pm 7,3$ года были случайным образом рандомизированы в 2 группы: 1-й группе ($n=10$) – выполнена ренальная денервация в проксимальном отделе почечной артерии, 2-й группе ($n=16$) – в дистальном сегменте. Исходно, через 6 и 12 мес всем пациентам выполнено суточное мониторирование артериального давления (СМАД), а также магнитно-резонансная томография (МРТ) сердца с изучением выраженности субэндокардиального повреждения, определяемого как суммарный объем накопления контраста на отсроченных томограммах, не связанного с коронарным атеросклерозом. **Результаты.** Применение проксимальной методики ренальной денервации позволило снизить АД незначительно для систолического ($153,6 \pm 15,7$ и $140,2 \pm 17,7$ мм рт.ст., $p=0,066$) и достоверно для диастолического АД через 12 мес ($83,9 \pm 15,9$ и $76,1 \pm 12,8$ мм рт.ст., $p=0,023$). Во 2-й группе значимое снижение суточного АД документировано уже через 6 мес после лечения ($167,2 \pm 28,5/93,2 \pm 19,3$ и $147,4 \pm 17,6/83,6 \pm 13,6$ мм рт.ст., $p<0,01$) с сохранением стойкого эффекта до 12 мес ($167,2 \pm 28,5/93,2 \pm 19,3$ и $147,0 \pm 13,7/81,5 \pm 9,3$ мм рт.ст., $p<0,05$). Значимый регресс субэндокардиального повреждения документирован только у пациентов 2-й группы уже через 6 мес ($2,34 \pm 1,19$ и $1,37 \pm 0,66$ см³, $p=0,01$) с сохранением эффекта до окончания наблюдения ($2,33 \pm 1,33$ и $1,35 \pm 0,67$ см³, $p=0,02$) при отсутствии динамики изучаемого показателя в 1-й группе на всех этапах. **Выводы.** Лучший гипотензивный эффект и регресс субэндокардиального повреждения миокарда выявлены у пациентов после применения ренальной денервации дистального сегмента почечной артерии в сравнении с традиционной проксимальной методикой.

Ключевые слова: резистентная артериальная гипертензия, кардиопротективная эффективность, гипертрофия левого желудочка, дистальная ренальная денервация.

CARDIOPROTECTIVE EFFICACY OF RENAL DENERVATION: PROXIMAL OR DISTAL METHOD OF ABLATION?

E.S. Sitkova, V.F. Mordovin, S.E. Pekarskiy, T.M. Ripp, O.V. Mochula, V.Yu. Usov, A.E. Baev

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Background. Renal denervation has established itself as an alternative method for the treatment of resistant hypertension. However, there remain questions of finding a priority group of patients for renal denervation and optimizing the technique to achieve a better treatment effect. **Objective.** To study the cardioprotective efficiency of proximal and distal renal denervation in a comparative randomized double-blind study with parallel groups. **Design and methods.** 26 patients (11 men, 15 women) with resistant hypertension age of $56,8 \pm 7,3$ years were randomized into 2 groups: 1 group ($n=10$) – renal denervation was performed in the proximal part of the renal artery, group 2 ($n=16$) – in the distal part. Initially, after 6 and 12 months, all patients underwent 24-hour blood pressure (BP), cardiac contrast-enhanced magnetic resonance (MRI). A volume of subendocardial damage, detected as summary volume of contrast uptake in myocardium on post-contrast MR study, was measured. **Results:** Systolic BP reduced not significantly (153.6 ± 15.7 and 140.2 ± 17.7 mm Hg, $p=0.066$) and diastolic BP reduced significantly (83.9 ± 15.9 and 76.1 ± 12.8 mm Hg, $p=0.023$) at 12 month in the 1st group. In the 2nd group 24-h BP reduced significantly at 6 ($167.2 \pm 28.5 / 93.2 \pm 19.3$ and $147.4 \pm 17.6 / 83.6 \pm 13.6$ mm Hg, $p<0.01$) and 12 months after treatment ($167.2 \pm 28.5 / 93.2 \pm 19.3$ and $147.0 \pm 13.7 / 81.5 \pm 9.3$ mm Hg, $p<0.05$). Significant regression of subendocardial damage was documented only in the 2nd group at 6 months (2.34 ± 1.19 and 1.37 ± 0.66 cm³, $p=0.01$) and 12 month (2.33 ± 1.33 and 1.35 ± 0.67 cm³, $p=0.02$). There was no regression of subendocardial damage in the 1st group. **Conclusion.** The best antihypertensive efficacy and regression of subendocardial damage were revealed in patients after distal renal denervation in comparison with the traditional proximal technique.

Keywords: resistant hypertension, cardioprotective efficacy, left ventricular hypertrophy, distal renal denervation.

Введение. Ренальная денервация зарекомендовала себя как альтернативный метод для лечения резистентной артериальной гипертензии (АГ). Исследования, посвященные изучению гипотензивной и кардиопротективной эффективности ренальной денервации, в своем большинстве подтверждают эффективность и безопасность методики. Вместе с тем остаются и вопросы, касающиеся поиска приоритетной группы пациентов для выполнения вмешательства, а также оптимизации и самой методики для достижения лучшего эффекта лечения.

Материал и методы. 26 пациентов (11 мужчин, 15 женщин) с резистентной АГ в возрасте $56,8 \pm 7,3$ года были случайным образом рандомизированы в 2 группы: 1-й группе ($n=10$) – выполнена проксимальная ренальная денервация, равномерно на протяжении ствола почечной артерии, 2-й группе ($n=16$) – в дистальном отделе (конечная часть ствола почечной артерии и проксимальные отделы ее сегментарных ветвей) с использованием катетеров Symplicity Flex с диаметром концевых электродов 4F. Исходно, через 6 и 12 мес всем пациентам выполнено суточное мониторирование артериального давления (СМАД), а также магнитно-резонансная томография (МРТ) сердца с отсроченным контрастированием.

МРТ миокарда с контрастированием выполнялась по стандартному протоколу на высокопольном томографе Toshiba Vantage Titan 1,5T MRI System (Япония). Последовательно производилось исследование в T1-, T2-взвешенных режимах, а также кино-МРТ, контрастированная МРТ в режиме «Инверсия с восстановлением» с синхронизацией по дыханию и ЭКГ на конец диастолы по длинной и короткой осям ЛЖ. Через 8–15 мин после болюсного внутривенного введения контрастного препарата-парамагнетика (Гадовист 0,5 ммоль/мл) в дозировке 0,1 мл/1 кг массы тела проводилось исследование с отсроченным контрастированием в режиме «Инверсия с восстановлением». Изучению подвергся суммарный объем включения контрастного препарата в стенку миокарда левого желудочка.

Статистическая обработка полученных данных производилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 for Windows. Различия величин оценивались как значимые при $p < 0,05$. Данные представлены в виде $M \pm sd$, где M – среднее арифметическое значение, sd – ошибка средней арифметической величины.

Результаты. В исходе наблюдения группы были сопоставимы по возрасту ($59,5 \pm 5,7$ и $55,1 \pm 7,8$ лет, $p=0,14$), уровню суточного артериального давления (АД) ($153,6 \pm 15,7/83,9 \pm 15,9$ и $167,2 \pm 28,5/93,2 \pm 19,3$ мм рт. ст., $p=0,12$) и выраженности субэндокардиального повреждения ($1,76 \pm 0,97$ и $2,34 \pm 1,19$ см³, $p=0,3$). Применение проксимальной методики ренальной денервации (1 группа) позволило снизить АД незначительно через 6 мес ($153,6 \pm 15,7/83,9 \pm 15,9$ и $145,9 \pm 18,8/78,8 \pm 13,8$ мм рт. ст., $p>0,1$) с некоторым нарастанием эффекта к 12 мес наблюдения для систолического ($153,6 \pm 15,7$ и $140,2 \pm 17,7$ мм рт.ст., $p=0,066$) и достоверно для диастолического АД ($83,9 \pm 15,9$ и $76,1 \pm 12,8$ мм рт. ст., $p=0,023$). Во 2-й группе значимое снижение суточного АД документировано уже через 6 мес после лечения на $11,8 \pm 10,3$ % ($167,2 \pm 28,5/93,2 \pm 19,3$ и $147,4 \pm 17,6/83,6 \pm 13,6$ мм рт. ст., $p<0,01$) с сохранением стойкого эффекта до 12 мес ($167,2 \pm 28,5/93,2 \pm 19,3$ и $147,0 \pm 13,7/81,5 \pm 9,3$ мм рт. ст., $p<0,05$).

По результатам МРТ сердца с отсроченным контрастированием субэндокардиальное повреждение, не связанное с коронарным атеросклерозом, выявлено у 100 % больных обеих групп. При этом значимый регресс субэндокардиального повреждения документирован только у пациентов 2-й группы уже через 6 мес ($2,34 \pm 1,19$ и $1,37 \pm 0,66$ см³, $p=0,01$) с сохранением эффекта до окончания наблюдения ($2,33 \pm 1,33$ и $1,35 \pm 0,67$ см³, $p=0,02$) при отсутствии динамики изучаемого показателя в 1-й группе на всех этапах наблюдения (6 мес $1,76 \pm 0,97$ и $1,57 \pm 1,07$ см³, $p=0,84$; 12 мес $1,76 \pm 0,97$ и $1,67 \pm 1,46$ см³, $p=0,96$).

Обсуждение. Метод ренальной денервации, позиционируемый как альтернативный подход к лечению пациентов с резистентной АГ, по данным пилотных исследований Symplicity HTN-1 и Symplicity HTN-2, продемонстрировал высокую эффективность и безопасность. Глобальной критике метод ренальной денервации подвергся в 2014 году после оглашения результатов Symplicity HTN-3, документировавшем сопоставимый с фармакотерапией эффект эндоваскулярного лечения резистентной АГ [1]. Наряду с названными фактами, повлиявшими на низкую эффективность ренальной денервации, такими как неоднородность выборки, опыт хирургов, выполнявших эндоваскулярное лечение, малое количество аблаций и отсутствие интраоперационного контроля эффективности, следует говорить и о самой методике ренальной денервации. Нанесение аблаций осуществлялось в проксимальной части почечной артерии, что значительно противоречит анатомии расположения почечного сплетения, которое, как известно, имеет веерообразную форму с широким основанием, обращенным к аорте, и вершиной, сходящейся к воротам почки [2,3]. Таким образом, наносимые аблации не сопровождалось должным воздействием на симпатические почечные волокна.

В рамках проводимого на базе НИИ кардиологии (Томск) в 2010–2013 гг. исследования методика абляции дистального отрезка почечной артерии (сегментарных ветвей) продемонстрировала лучшую гипотензивную эффективность в сравнительном анализе с традиционной проксимальной методикой [4].

Изученная в нашем исследовании лучшая гипотензивная, а также кардиопротективная эффективность дистальной ренальной денервации объясняется избирательным подходом к нанесению абляций в соответствии с анатомическими особенностями симпатической иннервации почек. Выявленные эффекты проводимого поискового исследования требуют продолжения наблюдения и анализа в группе пациентов большей численности для повышения достоверности результатов.

Заключение. Таким образом, лучший гипотензивный эффект и регресс субэндокардиального повреждения миокарда выявлены у пациентов после применения ренальной денервации дистального сегмента почечной артерии в сравнении с традиционной проксимальной методикой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bhatt D.L., Kandzari D.E., O'Neill W.W., D'Agostino R., Flack J.M., Katzen B.T., Leon M.B., Liu M., Mauri L., Negoita M., Cohen S.A., Oparil S., Rocha-Singh K., Townsend R.R., Bakris G.L.; SYMPLICITY HTN-3 Investigators. HTN-3 Investigators. A controlled trial of renal denervation for resistant hypertension. *N Engl J Med.* 2014 Apr 10; 370(15): 1393–401. doi: 10.1056/NEJMoa1402670.
2. Atherton D.S., Deep N.L., Mendelsohn F.O. Micro-anatomy of the renal sympathetic nervous system: a human postmortem histologic study. *Clin Anat.* 2012 Jul; 25(5): 628–33. doi: 10.1002/ca.21280.
3. Imnadze G., Balzer S., Meyer B., Neumann J., Krech R.H., Thale J., Franz N., Warnecke H., Awad K., Hayek S.S., Deviredy C. Anatomic Patterns of Renal Arterial Sympathetic Innervation: New Aspects for Renal Denervation. *J Interv Cardiol.* 2016, Dec; 29(6): 594–600. doi: 10.1111/joic.12343.
4. Pekarskiy S.E., Baev A.E., Mordovin V.F., Semke G.V., Ripp T.M., Falkovskaya A.U., Lichikaki V.A., Sitkova E.S., Zubanova I.V., Popov S.V. Denervation of the distal renal arterial branches vs. conventional main renal artery treatment: a randomized controlled trial for treatment of resistant hypertension. *J Hypertens.* 2017, Feb. 35(2): 369–375. doi: 10.1097/HJH.0000000000001160.

РОЛЬ ПАРАМЕТРОВ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ И МЕХАНИЧЕСКОЙ ДИССИНХРОНИИ МИОКАРДА ПРИ ОТБОРЕ НА СЕРДЕЧНУЮ РЕСИНХРОНИЗИРУЮЩУЮ ТЕРАПИЮ

А.М. Солдатов, В.А. Кузнецов, Л.М. Малишевский

Тюменский кардиологический научный центр, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Тюмень, Россия

Аннотация

В действующих рекомендациях по применению сердечной ресинхронизирующей терапии (СРТ) упор делается на использование электрокардиографических критериев диссинхронии, в частности, оценку ширины и морфологии комплекса QRS, однако эти критерии неоднократно ставились под сомнение. К тому же по-прежнему активно обсуждаются вопросы о возможности применения эхокардиографических критериев диссинхронии в отборе на СРТ. В работе были обобщены и проанализированы результаты исследований, посвященных оценке ширины и морфологии комплекса QRS электрокардиограммы при отборе на СРТ.

Ключевые слова: сердечная ресинхронизирующая терапия, электрическая и механическая диссинхронии миокарда, QRS.

PARAMETERS OF ELECTRICAL AND MECHANICAL DYSSYNCHRONY IN PATIENT SELECTION FOR CARDIAC RESYNCHRONIZATION THERAPY

A.M. Soldatova, V.A. Kuznetsov, L.M. Malishevskii

Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences, Tyumen, Russia

Abstract

According to the current guidelines cardiac resynchronization therapy (CRT) is recommended in patients with congestive heart failure and presence of electrical dyssynchrony (wide QRS and left bundle branch block). However, in real clinical practice the question about role of these parameters is still debated. In recent studies authors evaluated echocardiographic parameters of mechanical dyssynchrony for patient selection to CRT. In this study we summarized results of trials dedicated to the role of electrical and mechanical cardiac dyssynchrony parameters in patient selection to CRT.

Keywords: cardiac resynchronization therapy, electrical and mechanical myocardial dyssynchrony, QRS.

Введение. Сердечная ресинхронизирующая терапия (СРТ) является современным стандартом лечения больных с выраженной хронической сердечной недостаточностью (ХСН). До сих пор дискутируются вопросы о преимуществах электрокардиографических и эхокардиографических критериев диссинхронии для отбора пациентов на имплантацию [1]. В действующих рекомендациях по применению СРТ упор делается на использование электрокардиографических критериев, в частности оценку ширины и морфологии комплекса QRS. Однако эти критерии неоднократно ставились под сомнение. К тому же по-прежнему активно обсуждаются вопросы о возможности применения эхокардиографических критериев диссинхронии в отборе на СРТ [2].

Цель – обобщить и проанализировать результаты исследований, посвященных оценке ширины и морфологии комплекса QRS электрокардиограммы (ЭКГ), а также роли эхокардиографических критериев диссинхронии при отборе пациентов с ХСН на СРТ.

Методы и результаты. Анализ литературы свидетельствует об отсутствии стандартизованных критериев оценки морфологии QRS в действующих клинических рекомендациях, следовательно, разной интерпретации значимых крупных исследований. В литературе описан высокий уровень внутри- и межоператорской вариабельности при интерпретации ЭКГ [3]. К тому же отсутствуют единые критерии по скорости записи ЭКГ, а также не учитываются приходящие изменения ЭКГ, которые могут дать ложное представление о наличии блокады левой ножки пучка Гиса (БЛНПГ), что в ряде случаев ведет к погрешностям в оценке ширины и морфологии комплекса QRS [4]. На сегодняшний день отсутствует достаточная доказательная база по использованию параметров механической диссинхронии при отборе на СРТ, а проведенные исследования дают противоположные **результаты**. Метод является трудоемким и имеет ряд недостатков, однако, как показывает практика, у ряда пациентов использование параметров механической диссинхронии может иметь дополнительную ценность при отборе на СРТ [5]. Использование новых эхокардиографических методик позволяет уменьшить недостатки и повысить эффективность отбора [6].

При проведении ROC-анализа ($AUC=0,753$; $p=0,002$) была выявлена отрезная точка 0,378, в которой чувствительность и специфичность предсказания «суперответа» на СРТ составили 73,7 и 75 %. **Выводы.** Расширение комплекса QRS и БЛНПГ являются основными критериями отбора пациентов на СРТ, однако отсутствие стандартизации оценки комплекса QRS в ряде случаев может повлиять на качество отбора. Несмотря на отсутствие критериев механической диссинхронии в действующих рекомендациях по отбору пациентов на СРТ, в реальной клинической практике ЭхоЭКГ может иметь дополнительную ценность при принятии решения о необходимости имплантации устройств для СРТ у пациентов с умеренным расширением QRS и без БЛНПГ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Van der Bijl P., Khidir M., Leung M., Mertens B., Ajmone Marsan N., Delgado V., Bax, J.J. Impact of QRS complex duration and morphology on left ventricular reverse remodelling and left ventricular function improvement after cardiac resynchronization therapy. *European journal of heart failure*, 2017; 19(9): 1145–1151. doi:10.1002/ehf.769.
2. Van Everdingen W.M., Schipper J.C., van 't Sant J., Ramdat Misier K., Meine M., Cramer M.J. Echocardiography and cardiac resynchronisation therapy, friends or foes? *Neth Heart J*. 2016 Jan; 24(1): 25–38. doi: 10.1007/s12471-015-0769-3.
3. De Guillebon M., Thambo J.B., Ploux S., Deplagne A., Sacher F., Jais P., Haissaguerre M., Ritter P., Clementy J., Bordachar P. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 2010; 21(8): 890–892. doi: 10.1111/j.1540-8167.2010.01743.x.
4. Кузнецов В.А., Солдатова А.М., Малишевский Л.М. Использование параметров комплекса QRS электрокардиограммы при отборе пациентов на сердечную ресинхронизирующую терапию. *Вестник Аритмологии*. 2017 (87): 42–49.
5. Mele D., Bertini M., Malagù M., Nardoza M., Ferrari R. Current role of echocardiography in cardiac resynchronization therapy. 2017; *Heart failure reviews*; 22(6): 699–722. doi: 10.1007/s10741-017-9636-1.
6. Tanaka H., Hirata K. Is speckle tracking actually helpful for cardiac resynchronization therapy? *Journal of echocardiography*. 2016; 14(2): 53–60. doi: 10.1007/s12574-016-0275-7.

ПРОБЛЕМА ОТВЕТА НА СЕРДЕЧНУЮ РЕСИНХРОНИЗИРУЮЩУЮ ТЕРАПИЮ: КТО ЯВЛЯЕТСЯ НЕРЕСПОНДЕРОМ?

А.М. Солдатова, В.А Кузнецов

Тюменский кардиологический научный центр, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Тюмень, Россия

Аннотация

Одной из наиболее важных и актуальных проблем применения сердечной ресинхронизирующей терапии (СРТ) является проблема недостаточного ответа. Согласно результатам исследований, около трети пациентов не отвечают должным образом на терапию. Снижение конечно-систолического объема левого желудочка на 15 % и более считается общепринятым критерием ответа на СРТ, однако представляется интересным, можно ли по одному критерию выделить всех нереспондеров? В представленном исследовании пациенты были разделены на группы в зависимости от выраженности функционального ответа, была проанализирована динамика клинических и функциональных показателей, а также отдаленная выживаемость пациентов.

Ключевые слова: сердечная ресинхронизирующая терапия, ответ на СРТ.

THE PROBLEM OF RESPONSE TO CARDIAC RESYNCHRONIZATION THERAPY: WHO IS A REAL NON-RESPONDER?

A.M. Soldatova, V.A. Kuznetsov

Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences, Tyumen, Russia

Abstract

According to most studies about 30 % of patients do not respond to cardiac resynchronization therapy (CRT). A reduction in left ventricular end-systolic volume (LVESV) $\geq 15\%$ is a most commonly used criterion for assessing the response to CRT. Real clinical practice demonstrate that group of non-responders is not homogeneous. This raises the question whether all patients with decrease of LVESV $< 15\%$ should be identified as non-responders? In this trial we divided patients according to decrease of LVESV and compared dynamics of clinical and functional parameters and long-term mortality.

Keywords: cardiac resynchronization therapy, response to CRT.

Введение. Сердечная ресинхронизирующая терапия (СРТ) является общепринятым и доказанным методом в лечении пациентов с выраженной хронической сердечной недостаточностью (ХСН). Одной из наиболее важных и актуальных проблем применения СРТ является проблема недостаточного ответа. Согласно результатам исследований, не менее 15 % пациентов не отвечают должным образом на терапию, а в большинстве исследований эта цифра достигает 30 % [1, 2].

Общепринятым критерием ответа на СРТ считается снижение конечно-систолического объема (КСО) левого желудочка (ЛЖ) на 15 % и более [3]. Однако очевидно, что некоторые пациенты имеют субоптимальный ответ на СРТ, когда снижение КСО ЛЖ не достигает критерного значения в 15 %, но при этом они демонстрируют достоверное улучшение клинических показателей, увеличение толерантности к физической нагрузке, субъективное улучшения самочувствия, хорошую отдаленную выживаемость [4]. Можно ли в этом случае говорить об отсутствии ответа на СРТ? Представленное исследование, мы полагаем, может в известной степени ответить на этот вопрос.

Цель исследования – выявить клинические и морфо-функциональные особенности у больных с ХСН и субоптимальным ответом на СРТ, оценить отдаленную выживаемость пациентов в зависимости от выраженности функционального ответа.

Материал и методы. В исследование было включено 112 человек (83,5 % мужчин, средний возраст $54,6 \pm 9,9$ года) со II–IV функциональным классом (ФК) ХСН по NYHA. Средний срок наблюдения составил $34,8 \pm 16,7$ мес. Исходно, через 1, 3 мес и каждые последующие 6 мес проводилось клиническое обследование, электрокардиография, эхокардиография.

Оценка ответа на СРТ проводилась в сроке наибольшего снижения КСО ЛЖ в течение всего периода наблюдения. Три пациента с увеличением КСО ЛЖ в динамике были исключены из исследования в связи с отсутствием возможности для динамического наблюдения. Таким образом, полноценное проспективное исследование было выполнено у 109 пациентов. По динамике КСО ЛЖ пациенты были разделены на группы: непрогрессоры (снижение 0–14 %; $n=18$), респондеры (снижение 15–29 %; $n=41$), суперреспондеры (снижение ≥ 30 %; $n=50$).

Результаты. Исходно группы были сопоставимы по основным клиническим характеристикам.

Срок наступления наилучшего ответа на СРТ достоверно отличался между группами и был наименьшим у непрогрессоров. У большинства суперреспондеров наблюдалось развитие отдаленного пика ответа в сроке более 24 мес.

В качестве контрольной точки для оценки динамики клинических и функциональных показателей были использованы показатели в сроке наилучшего ответа на СРТ. Все группы продемонстрировали значимое уменьшение КСО и КДО ЛЖ, увеличение ФВ ЛЖ, увеличение дистанции, пройденной по тесту 6-минутной ходьбы. Наилучшая динамика функциональных показателей наблюдалась у суперреспондеров. Однако по величине дистанции, пройденной по тесту 6-минутной ходьбы, ее изменениям в динамике, а также по динамике ФК ХСН по NYHA различий между группами выявлено не было. При сравнении непрогрессоров и респондеров как исходно, так и на пике ответа достоверных отличий по уровням средних значений клинических и функциональных показателей выявлено не было.

Отдаленная выживаемость суперреспондеров составила 100 %, респондеров – 78 %, непрогрессоров – 88,9 % (Log-rank test $p=0.001$). Межгрупповой анализ выявил достоверные различия по уровню выживаемости только в сравнении с группой суперреспондеров. При сравнении выживаемости между непрогрессорами и респондерами различия были недостоверными (Log-Rank test $p=0,150$).

Выводы. Пациенты со снижением КСО ЛЖ 0–14 % демонстрируют сопоставимую динамику клинических и функциональных показателей на фоне СРТ в сравнении с пациентами со снижением КСО ЛЖ >15 %, а также сопоставимые уровни отдаленной выживаемости. Согласно представленным результатам, пик наступления ответа у суперреспондеров достигается к третьему году после имплантации, у большинства респондеров ответ развивается в течение второго года и сохраняется в отдаленном периоде наблюдения. Непрогрессоры демонстрируют улучшение в течение первых месяцев со стабилизацией состояния. Однако по каким-то причинам дальнейшего улучшения не наблюдается. Учитывая естественное течение ХСН, мы считаем, что стабилизация состояния и отсутствие прогрессирования ремоделирования ЛЖ уже являются хорошим результатом и такие пациенты не могут относиться к группе нереспондеров. Использование одного критерия не может использоваться для оценки ответа на СРТ в реальной клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dhesi S., Lockwood E., Sandhu R.K. Troubleshooting Cardiac Resynchronization Therapy in Non-responders. Canadian Journal of Cardiology. 2017; 33(8): 1060–1065.
2. Daubert C., Behar N., Martins R.P., Mabo P., Leclercq C. Avoiding non-responders to cardiac resynchronization therapy: a practical guide. European heart journal. 2016; 38(19): 1463–1472. doi:10.1093/eurheartj/ehw270.
3. van 't Sant J., Mast T.P., Bos M.M., Ter Horst L.A., van Everdingen W.M., Meine M., Cramer M.J. Echo response and clinical outcome in CRT patients. Netherlands Heart Journal. 2016; 24 (1): 47–55. doi: 10.1007/s12471-015-0767-5.
4. Tomassoni G. How to Define Cardiac Resynchronization Therapy Response. The Journal of Innovations in Cardiac Rhythm Management, 2016; 7: S1–S7. doi: 10.19102/icrm.2016.070003.

ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ У МУЖЧИН С ВЫРАЖЕННЫМ КОРОНАРНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

**Е.В. Стрюкова¹, Ю.И. Рагино¹, И.С. Мурашов², Я.В. Полонская¹,
А.М. Волков², Е.В. Каштанова¹, А.В. Кургузов², А.М. Чернявский²**

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал
Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный
исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской
академии наук», г. Новосибирск, Россия¹

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский
исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения
Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России),
г. Новосибирск, Россия²

Аннотация

У 93 мужчин с коронарным атеросклерозом без ОКС исследовали в крови концентрации факторов свертывания крови (фактор II, фактор VII, фактор XII, антитромбин III) с целью поиска их ассоциаций с биомаркерами эндотелиальной дисфункции (эндотелин 1, моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1 типа, MCP-1, липопротеин (a), ЛП(a), адгезивные молекулы sVCAM-1, асимметричный диметиларгинин, ADMA, гомоцистеин), воспаления (интерлейкины, ИЛ-6, ИЛ-8, С-реактивный протеин, CRP) и с наличием нестабильных бляшек в коронарных артериях. У мужчин с нестабильными бляшками содержание в крови фактора VII и фактора XII было выше в 1,3 и 1,3 раза соответственно, в сравнении с мужчинами, у которых в коронарных артериях были стабильные бляшки. Выявлены корреляционные связи между содержаниями в крови фактора II и фактора XII и наличием у пациентов нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях ($r=0,239$ и $r=0,250$, $p<0,05$ соответственно), а также между факторами свертывания крови и уровнями в крови ЛП(a), sVCAM-1, ИЛ-6 и CRP. Результаты логистического регрессионного анализа показали, что относительный риск наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек связан с повышенным уровнем в крови фактора XII (OR=1,008, 95 % CI 1,000-1,017, $p=0,048$).

Ключевые слова: факторы свертывания крови, фактор II, фактор VII, фактор XII, антитромбин III, маркеры воспаления, маркеры дисфункции эндотелия, стабильные и нестабильные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях, кровь.

THE STUDY OF BLOOD COAGULATION FACTORS IN MEN WITH SEVERE CORONARY ATHEROSCLEROSIS

**E.V. Striukova¹, Yu.I. Ragino¹, I.S. Murashov², Ya.V. Polonskaya¹, A.M. Volkov²,
E.V. Kashtanova¹, A.V. Kurguzov², A.M. Chernjavskii²**

Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics,
Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia¹

The Federal State Budgetary Institution «National Medical Research Center named after academician
E.N. Meshalkin» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Novosibirsk, Russia²

Abstract

In 93 men with coronary atherosclerosis without acute coronary syndrome, blood coagulation factors concentrations (factor II, factor VII, factor XII, antithrombin III) were studied in the blood with goal to find their associations with biomarkers of endothelial dysfunction (endothelin 1, monocyte chemoattractant protein type 1, MCP-1, lipoprotein (a), LP(a), adhesion molecules sVCAM-1, asymmetric dimethylarginine, ADMA, homocysteine), of inflammation (interleukins, IL-6, IL-8, C-reactive protein, CRP) and with the presence of unstable plaques in the coronary arteries. In men with unstable atherosclerotic plaques in the coronary arteries, the blood levels of factor VII and factor XII were 1.3 and 1.3 times higher, respectively, compared to men who had stable plaques in the coronary arteries. Correlation links between the blood levels of factor II and factor XII and the presence of unstable atherosclerotic plaques in the coronary arteries ($r=0.239$ and $r=0.250$, $p<0.05$, respectively) have been revealed, as well as between coagulation factors and blood levels of LP(a), sVCAM-1, IL-6 and CRP. Results of logistic regression analysis showed that the relative risk of present of

unstable atherosclerotic plaques in the coronary arteries is associated with an elevated blood level of factor XII (OR=1.008, 95% CI 1.000-1.017, p=0.048).

Keywords: factors of blood coagulation, factor II, factor VII, factor XII, antithrombin III, markers of inflammation, markers of endothelial dysfunction, stable and unstable atherosclerotic plaques in coronary arteries, blood.

Актуальность. Распространенность и смертность от острого коронарного синдрома (ОКС) и инфаркта миокарда остаются высокими в России. Пусковым механизмом к клиническим проявлениям ОКС является нарушение целостности эндотелия нестабильной атеросклеротической бляшки, последующее тромбообразование и окклюзия артерии, ишемия и некроз миокарда [1].

В последние годы проводится много исследований по поиску и изучению разных этиопатогенетических биомаркеров коронарного атеросклероза и его осложнений, особенно ОКС [2]. Настоящее исследование было посвящено изучению некоторых факторов свертывания крови с целью поиска их ассоциаций с биомаркерами эндотелиальной дисфункции, воспаления и с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях у мужчин с коронарным атеросклерозом.

Методика исследования. В исследование были включены 93 мужчины 40–70 лет с коронароангиографически верифицированным коронарным атеросклерозом, без ОКС со стабильной стенокардией напряжения III ФК, поступившие в Клинику ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России на операцию коронарного шунтирования, которым по интраоперационным показаниям была проведена эндартериектомия из коронарной(-ых) артерии(-й). Материал эндартериектомии был поперечно разделен на фрагменты для проведения гистологических исследований. Гистологический анализ фрагментов после стандартной окраски гематоксилин-эозином и Ван Гизон проводился на бинокулярном микроскопе Axiostar Plus (C. Zeiss) с цифровым фотовыходом. Согласно гистологическому заключению, у 38 мужчин (41 %) атеросклеротические бляшки коронарных артерий (КА) были только стабильные (характеризуются толстой покрышкой, гомогенным липидным ядром, отсутствием воспалительных изменений), а у 55 мужчин (59 %) наряду со стабильными бляшками были также и нестабильные бляшки (характеризуются тонкой покрышкой (толщина <65 мкм) или участком истонченной покрышки с очаговой деструкцией эндотелия, воспалительной клеточной инфильтрацией (более 25 клеток в поле зрения длиной 0,3 мм), рыхлым липидным ядром (>40 % объема бляшки) с участками некроза) в КА. По этому критерию все обследованные пациенты были разделены нами на 2 группы.

Биохимические исследования проводились из плазмы и сыворотки крови, забранной до операции с использованием стандартных тест-систем ELISAs на анализаторе Multiscan EX (Финляндия). В плазме крови определяли: фактор II, фактор VII, фактор XII, антитромбин III (тест-системы AssayPro). В сыворотке крови определяли: эндотелин 1 (Biomedica), моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1 типа, MCP-1 (Bender Medsystems), липопротеин (а), ЛП(а) (AssayPro), адгезивные молекулы sVCAM-1 (Biosource), асимметричный диметиларгинин, АДМА (Immundiagnostik), гомоцистеин (Axis-Shield), интерлейкины, ИЛ-6, ИЛ-8 (Bender Medsystems), С-реактивный протеин, СРП (Biomerica).

Статистическую обработку результатов проводили в программе SPSS for Windows с применением корреляционного, логистически регрессионного и One-Way ANOVA анализов с использованием критерия Даннета для множественного сравнения.

Результаты и обсуждение. У мужчин с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях уровни в плазме крови фактора VII и фактора XII (фактора Хагемана) были соответственно в 1,3 и в 1,3 раза выше ($420,5 \pm 143,5$ и $553,9 \pm 141,0$ для фактора VII и $85,7 \pm 57,7$ и $114,7 \pm 54,3$ соответственно $p < 0,05$) в сравнении с мужчинами, у которых не было нестабильных бляшек. Полученные результаты не противоречат данным других исследований, посвященных изучению факторов свертывания крови VII и XII при атеросклерозе. Так, согласно исследованию P. Cirillo et al., активация внешнего пути свертывания крови посредством связывания тканевого фактора с циркулирующим фактором VII играет важнейшую роль в развитии эндотелиальной дисфункции и прогрессировании атеросклероза. [3]. T. Renne et al. считают, что фактор Хагемана – один из ключевых факторов в образовании фибрина – является биомаркером атеросклеротического повреждения сосудов [4].

При проведении корреляционного анализа исследуемых факторов гемостаза и биомаркеров атеросклероза в крови с учетом непараметрического распределения признаков выявлены

корреляции уровня в крови фактора II (протромбина) с концентрациями ЛП(а) (отрицательная сильная связь) и ИЛ-6 (положительная слабая связь); положительные корреляции фактора VII с ЛП(а) (положительная сильная связь) и с sVCAM-1; слабая корреляция фактора Хагемана с CRP и отрицательная корреляция антитромбина III с ИЛ-6. Кроме того, уровни в крови факторов свертывания крови II и XII положительно слабо коррелировали с наличием у мужчин нестабильных атеросклеротических бляшек в КА.

Все исследуемые факторы свертывания крови были включены в Модель логистического регрессионного анализа. Результаты показали, что относительный риск наличия в коронарных артериях нестабильных атеросклеротических бляшек связан только с повышенным уровнем в крови фактора XII (OR=1,008, 95 % CI 1,0001,017, p=0,048).

M.J. Kuijpers et al., изучавшие накопление фактора XIIa на наружной поверхности тромбов посредством их иммунологической окраски, считают, что фактор XII регулирует патологический процесс тромбообразования на поверхности осложненных разрывом атеросклеротических бляшек [5].

Выводы. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что повышенный уровень в крови фактора Хагемана может быть новым биомаркером вероятности наличия нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рагино Ю.И., Чернявский А.М., Волков А.М., Воевода М.И. Факторы и механизмы нестабильности атеросклеротической бляшки. Новосибирск: Наука, 2008. 88.
2. Jenny N.S., Olson N.C., Allison M.A., Rifkin D.E., Daniels L.B., de Boer I.H., Wassel C.L., Tracy R.P. Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis: Biomarkers of key biological pathways in cardiovascular disease. *Glob Heart*, 2016; 11(3): 327–336.
3. Cirillo P., Cali G., Golino P., Calabrò P., Forte L., De Rosa S., Pacileo M., Ragni M., Scopacasa F., Nitsch L., Chiariello M. Tissue factor binding of activated factor VII triggers smooth muscle cell proliferation via extracellular signal-regulated kinase activation. *Circulation*. 2004; 109(23): 2911–2916.
4. Renné T., Schmaier A.H., Nickel K.F., Blombäck M., Maas C. In vivo roles of factor XII. *Blood*. 2012; 120(22): 4296–4303.
5. Kuijpers M.J., van der Meijden P.E., Feijge M.A., Matheij N.J., May F., Govers-Riemsag, J., Cosemans J.M. Factor XII regulates the pathological process of thrombus formation on ruptured plaques Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2014; 34(8): 1674–1680.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ В КОМПЛЕКСНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ РАБОТНИКОВ АТОМНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

А.В. Тонкошкурова

ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр ФМБА России», г. Томск, Россия

Аннотация

На основании анализа патогенетических механизмов действия природных и преформированных физических факторов разработаны лечебные реабилитационные комплексы с включением БОС-тренинга и проведена оценка их эффективности у 66 работников Сибирского химического комбината с наличием АГ и ФР ССЗ. Доказано более эффективное гипотензивное, иммуномодулирующее и стресслимитирующее действие реабилитационных комплексов с включением БОС-тренинга.

Ключевые слова: факторы риска, сердечно-сосудистые заболевания, БОС-тренинг, атомная промышленность.

USE OF BIOCONTROL METHOD IN COMPLEX REHABILITATION OF NUCLEAR INDUSTRY WORKERS

A.V. Tonkoshkurova

Siberian Research Center FMBA of Russia, Tomsk, Russia

Abstract

Based on the analysis of pathogenetic mechanisms of natural and preformed physical factors, treatment complexes with Biofeedback training were developed. The efficiency was evaluated in 66 patients with AH and

FR CVD, industry workers of the Siberian Chemical Factory. The study proved that rehabilitation complexes with Biofeedback training tend to have a higher hypotensive, immunomodulatory and stress-relieving effect.

Keywords: risk factors, cardiovascular disease, Biofeedback training, nuclear industry.

Психоэмоциональное напряжение является важным неконвенционным фактором риска ССЗ. По мнению ряда авторов, истинной причиной повышения смертности от ССЗ, возникновения пассивности населения или, наоборот, их агрессивности является длительное нарушение психического здоровья большинства россиян и значительная распространенность психосоциальных факторов риска (ФР) [1]. К таким факторам относят уровень психоэмоционального напряжения, уровень личностной тревожности, депрессию, информированность и отношение к своему здоровью. За последние годы накоплено большое количество фактов, свидетельствующих о влиянии психосоциальных факторов на распространенность ССЗ в популяции [2, 3]. В связи с этим значительно возрастает потребность в разработке специализированного психофизиологического инструментария, позволяющего оценивать и развивать способности саморегуляции. Примером такого инструментария является биоуправление – новая технология, продукт соединения компьютерного игрового сюжета и методов биоуправления, представляющих собой комплекс процедур, при проведении которых человеку посредством специальных технических устройств (цепи внешней обратной связи) передается информация о состоянии той или иной функции его собственного организма. В нашем исследовании использовался программно-аппаратный комплекс «БОС-Пульс», включающий набор компьютерных игр, разработанный в ГУ НИИ молекулярной биологии и биофизики СО РАМН (г. Новосибирск) [4].

Материал и методы. Комплексное обследование и лечение выполнено у 66 работников основного производства СХК, средний возраст $48,3 \pm 8,4$ года, имеющих контакт с ионизирующим излучением, с наличием ФР ССЗ и АГ.

Критерии включения: наличие АГ и ФР ССЗ (АГ 1–2 степени; ИМТ > 25 у.е.; компоненты метаболического синдрома (по критериям JIS, 2009); информированное согласие пациента; возраст 40–60 лет.

Концентрацию кортизола и инсулина (кортизол-инсулиновый индекс – К/И), концентрацию инсулина определяли с использованием ИФА-набора «Diagnostic Sistem Laboratories», концентрацию кортизола – ИФА-набора «СтероидИФА-кортизол» (фирма «АлкорБио», Россия).

Суточное мониторирование АД (СМАД) проводилось до и после курса лечения: контрольные измерения осуществлялись в течение суток – в активное время через каждые 30 мин, в ночное время через каждые 60 мин. Исследовались показатели САД и ДАД: среднее АД днем (АД_{ср_день}), ночью (АД_{ср_ночь}) и за сутки (АД_{ср_сутки}), минимальное АД в ночной период (АД_{мин_ночь}), максимальное АД в утреннее время (до 11 ч) (АД_{макс_утро}), величина (ВУП) и скорость (СУП) утреннего подъема АД, нагрузка давлением в ночное (НД_{ночь}) и дневное время (НД_{день}).

Комплексная оценка состояния здоровья проводилась с использованием алгоритма определения адаптационного потенциала сердечно-сосудистой системы – индекса функциональных изменений (ИФИ) [5].

Для проведения статистической обработки фактического материала использовали статистический пакет PASW Statistics 18, версия 18.0.0.

Результаты и обсуждение. На основании анализа патогенетических механизмов действия природных и преформированных физических факторов были разработаны лечебные комплексы, включающие в себя: ЛФК, ручной массаж воротниковой области, аппликации сапропелевой грязи на воротниковую область и область печени, сухие углекислые ванны (Комплекс 1, группа сравнения I, $n=23$). Дополнительно к основному комплексу включался БОС-тренинг по параметрам дыхания (Комплекс 2, основная группа II, $n=43$).

Проведен анализ параметров суточного профиля и офисного АД у работников СХК, имеющих факторы риска ССЗ и проходящих курс восстановительного лечения в клинике ТНИИКиФ. Применение разработанных реабилитационных комплексов позволило добиться целевых значений САД, ДАД и ЧСС при офисном измерении во всех исследуемых группах. Анализ показателей СМАД после курса восстановительного лечения показал следующее. У лиц с исходно высокими значениями АД на фоне применения СУВ и пелоидотерапии (группа I) регистрировалось снижение САД со $147,85 \pm 3,35$ до $137,0 \pm 4,16$ мм рт.ст. ($p=0,014$) и ДАД с $93,25 \pm 1,37$ до $84 \pm 1,08$ мм рт.ст. ($p=0,008$). Отмечено снижение показателя ВАР

ДАД с $15,73 \pm 1,04$ до $13,26 \pm 0,72$ мм рт.ст. ($p=0,017$). В ночное время динамики показателей СМАД у пациентов группы сравнения не выявлено.

Включение в лечебный комплекс БОС-тренинга (II группа) способствовало более выраженной позитивной динамике показателей СМАД, что выражалось в улучшении суточного профиля АД. На момент начала исследования тип суточного профиля night-peaker выявлялся у 6 (27,27 %), non-dipper – у 11 (50 %), dipper – у 5 (22,72 %). Таким образом, большинство пациентов имели прогностически неблагоприятный вариант циркадных характеристик АД. После лечения с включением БОС-тренинга отмечено купирование патологического типа – тип АД night-peaker, тип non-dipper регистрировался у половины пациентов 11 (50 %), а частота регистрации нормального типа суточного профиля dipper увеличилась до 50 % ($p \leq 0,01$; $\chi^2=8,25$). Улучшение циркадного профиля АД сопровождалось значимым снижением ДАДн с $72,0 \pm 1,67$ до $68,54 \pm 1,8$ мм рт.ст. ($p=0,04$). Частота регистрации повышенных значений СУП ДАД уменьшилась с 90,9 до 63,63 %, $p < 0,05$; $\chi^2=4,65$.

Таким образом, применение природных физических факторов в комплексе с БОС-тренингом оказывает выраженное гипотензивное действие, преимущественно у пациентов с имеющейся АГ, способствует нормализации суточного профиля АД, а также улучшает показатели СМАД, изменения которых коррелируют с развитием сердечно-сосудистых катастроф и поражением органов-мишеней.

Для оценки характера адаптационно-приспособительных реакций проведен анализ стрессреализующей и стресслимитирующей гормональной системы у пациентов с наличием ФРО ССЗ. Во всех исследуемых группах применение природных и преформированных физических факторов способствовало снижению кортизола как «гормона стресса». Так, в группе сравнения уровень кортизола уменьшился на 11,2 % ($p=0,049$). В основной группе с БОС-тренингом уровень кортизола снизился на 16,8 % ($p=0,002$). Также отмечена положительная динамика анаболического индекса (соотношения уровня кортизола к инсулину), более выраженная в группе с дополнительным включением БОС-тренинга (снижение на 34,8 % ($p=0,000...$)), что говорит об активации анаболических репаративных процессов в организме. У пациентов в группе БОС-тренинга также отмечено снижение содержания тиреотропного гормона и гормонов щитовидной железы в пределах референтных значений (0,003), что можно рассматривать как благоприятный фактор, способствующий уменьшению активирующих влияний гормонов щитовидной железы на функцию ССС.

Таким образом, санаторно-курортное лечение с применением БОС-тренинга в комплексе с природными лечебными факторами потенцирует активность стресслимитирующих систем организма и оказывает корригирующее влияние на изменения гормонального профиля у лиц с ФР ССЗ.

Анализ интегрального адаптационного потенциала сердечно-сосудистой системы (ИФИ) у пациентов I группы выявил у большинства работников (59 %) срыв механизмов адаптации, неудовлетворительное состояние процессов адаптации выявлено у 36,4 %, при этом средние значения ИФИ составили $10,14 \pm 0,25$ у.е. После курса лечения с применением СУВ и пелоидотерапии в I группе срыв механизмов адаптации выявлен только у 22,7 %. Средние значения ИФИ уменьшились до $9,2 \pm 0,2$ у.е. ($p=0,000...$).

Во II группе пациентов установлено достоверное улучшение показателей ИФИ: до лечения срыв адаптации выявлен у 29 (78,37 %), после лечения лишь у 14 пациентов (снижение на 75,9 %, $p < 0,0001$). Средние значения ИФИ уменьшились в этой группе с $10,24 \pm 0,4$ у.е. до $9,0 \pm 0,4$ у.е. ($p=0,000...$).

Заключение. Санаторно-курортная реабилитация с включением методов биоуправления оказывает более выраженное по сравнению с применением только природных факторов гипотензивное и стресслимитирующее действие. Итоговым результатом применения природных и преформированных лечебных факторов является повышение интегрального адаптационного потенциала сердечно-сосудистой системы и организма в целом. Полученные данные диктуют необходимость проведения работникам предприятий атомной промышленности, относящимся к группе риска по ССЗ, реабилитационно-профилактических оздоровительных мероприятий с включением природных лечебных факторов и метода БОС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оганов Р.Г., Погосова Г.В. Стресс: что мы знаем сегодня об этом факторе риска? Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2007; 3: 60–67.
2. Dimsdale J.E. Psychological stress and cardiovascular disease. J. Am. Coll. Cardiol. 2008; 51: 1237–1246.
3. Rosengren A., Hawken S., Ounpuu S., Sliwa K., Zubaid M., Almahmeed W.A., INTERHEART investigators. Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11 119 cases and 13 648 controls from 52 countries (the INTERHEART Study): case-control study. The Lancet. 2004; 364(9438): 953–962.

4. Щегольков А.М., Дыбов М.Д., Будко А.А., Ярошенко В.П. Применение методов биоуправления в комплексной медицинской реабилитации больных гипертонической болезнью. Клиническая медицина. 2009; 4: 23–29.

5. Баевский Р.М., Берсенева А.П. Оценка адаптационных возможностей организма и риска развития заболеваний. М., 1997; 234.

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИТЫХ СОБЫТИЙ В ОТДАЛЕННОМ ПОСТИНФАРКТНОМ ПЕРИОДЕ У ПАЦИЕНТОВ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

О.В. Тукиш

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Актуальность. Острый инфаркт миокарда у лиц пожилого и старческого возраста является актуальной проблемой, которой в последнее время уделяется все большее внимание, однако факторы, влияющие на течение постинфарктного периода, недостаточно изучены, а имеющиеся литературные данные противоречивы. **Цель** – выявить прогностические факторы, влияющие на развитие неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов пожилого и старческого возраста в течение 5 лет после перенесенного ИМ. **Материал и методы.** Включено 236 пациентов пожилого и старческого возраста. Группа 1 – пациенты с благоприятным течением постинфарктного периода (n=110), группа 2 (n=126) – пациенты с фиксированными конечными точками. **Результаты и обсуждение.** Пациенты 2-й группы чаще страдали хронической сердечной недостаточностью (ХСН) (p=0,042), хронической болезнью почек (p<0,001). Снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) <60 мл/мин/1,73м², наличие в анамнезе ХСН II А стадии и выше увеличивали шанс неблагоприятного течения постинфарктного периода. Осложнения острого периода заболевания чаще регистрировались среди пациентов 2-й группы (p=0,002). Их наличие ухудшало течение постинфарктного периода. Более половины (51,6 %) пациентов 2-й группы посещали врача на поликлиническом этапе реабилитации реже 1 раза в год, что в 5,5 раз повышало шанс неблагоприятного течения постинфарктного периода. **Выводы.** Отрицательное влияние на развитие неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у лиц пожилого и старческого возраста при 5-летнем наблюдении оказывают многососудистое поражение коронарного русла, отягощенный анамнез, осложнения острого ИМ, однако независимыми предикторами неблагоприятного течения постинфарктного периода являются снижение СКФ<60 мл/мин/м², ХСН II А стадии и выше, наличие осложнений острого периода ИМ и нерегулярное посещение (реже 1 раза в год) пациентами врача на поликлиническом этапе реабилитации.

Ключевые слова: инфаркт миокард, пожилые, прогнозирование, предикторы, проспективное наблюдение.

PROGNOSTIC FACTORS OF ADVERSE CARDIOVASCULAR EVENTS IN THE DISTANT POST-INFARCTION PERIOD IN ELDERLY PATIENTS

O.V. Tukish

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Relevance. Acute myocardial infarction in elderly patients is an urgent problem, which has recently received increasing attention, but the factors affecting the course of the post-infarction period are insufficiently studied, and the available literature data are contradictory. **Aim.** To reveal prognostic factors affecting the development of adverse cardiovascular events in elderly and senile patients within 5 years after the patient. **Material and methods.** We included 236 elderly patients. Group 1 – patients with a favorable course of postinfarction period (n=110), group 2 (n=126) – patients with fixed endpoints. Results and discussion. Patients of group 2 more

frequently suffered from chronic heart failure (CHF) ($p=0,042$), chronic kidney disease ($p<0,001$). Decrease glomerular filtration rate (GFR) <60 ml/min/1,73m², a history of CHF stage II A and higher increased the chance of adverse course of postinfarction period. Complications of acute period of the disease was more frequently detected among patients of group 2 ($p=0,002$). Their presence worsened the course of postinfarction period. More than half (51.6 %) patients of group 2 visited physician on polyclinic stage of rehabilitation less than 1 time per year, which was 5.5 times increased chance of adverse course of postinfarction period. **Conclusions.** The negative impact on the development of adverse cardiovascular events in elderly patients with 5-year follow-up is exerted by multi-vessel coronary artery disease, burdened with anamnesis, acute complications, but independent predictors of unfavorable course of the post-infarction period are a decrease in GFR <60 ml/min/1,73m², CHF stage II A and above, complications of AMI, the lack of follow-up in outpatient phase of rehabilitation.

Keywords: myocardial infarction, elderly, prognosis, predictors, prospective observation.

Введение. Современная демографическая ситуация характеризуется увеличением доли лиц старших возрастных групп в структуре населения большинства стран мира. Данная тенденция влечет за собой ряд медико-социальных проблем и ставит перед научным медицинским сообществом важные задачи, диктуя необходимость проведения научных исследований среди данной когорты больных. Следует отметить, что до недавнего времени пациенты пожилого и старческого возраста были в незначительной мере представлены даже в крупных многоцентровых исследованиях, где их доля не превышала 40 % [1]. В настоящее время проблеме инфаркта миокарда у лиц старших возрастных групп уделяется все большее внимание. Однако в большинстве исследований изучался непосредственный прогноз острого инфаркта миокарда, а эффективность применяемого лечения оценивалась главным образом в ближайшие сроки постинфарктного периода. Вместе с тем отдаленные исходы заболевания и клиническое течение постинфарктного периода недостаточно изучены, а имеющиеся литературные данные противоречивы [2]. Вышесказанное обуславливает актуальность данного исследования.

Цель – выявить прогностические факторы, влияющие на развитие неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов пожилого и старческого возраста в течение 5 лет после перенесенного ИМ.

Материал и методы. В исследование включено 236 пациентов пожилого и старческого возраста, выживших в течение 5 лет после перенесенного острого ИМ и зарегистрированных в базе данных «Регистр острого инфаркта миокарда». Пациенты были разделены на две группы в зависимости от наличия вторичных конечных точек (госпитализация по поводу обострения ишемической болезни сердца (ИБС) (в том числе повторного ИМ), прогрессирования хронической сердечной недостаточности (ХСН), нарушения ритма сердца, реваскуляризации миокарда (чрескожная транслюминальная коронарная ангиопластика, шунтирование коронарных артерий)). Группу 1 составили пациенты с благоприятным течением постинфарктного периода ($n=110$), группу 2 ($n=126$) – пациенты с фиксированными вторичными конечными точками. Группы были сопоставимы по полу и возрасту. Медиана возраста составила 74 (68; 78,3) года. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием статистической программы Statistica V10.0. Различия считались статистически значимыми при $p\leq 0,05$. Для определения прогностической значимости исследуемых факторов производился расчет отношения шансов (ОШ) неблагоприятного течения постинфарктного периода.

Результаты и обсуждение. Клинико-анамнестический анализ показал одинаково высокую распространенность среди пациентов обеих групп таких факторов риска ИБС, как курение (30,5 %) и ожирение (28,8 %) ($p>0,05$), в то время как гипертоническая болезнь чаще диагностировалась во 2-й группе пациентов (80 % в 1-й группе против 89,7 % – во 2-й группе, $p=0,037$). У больных обеих групп анамнестический фон был одинаково часто отягощен коморбидной патологией, такой как сахарный диабет 2-го типа, ранее перенесенный ИМ, хроническая обструктивная болезнь легких ($p>0,05$). В группе 2 была значительно выше распространенность хронической болезни почек ($p<0,001$), ХСН ($p=0,042$) [3]. Снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) <60 мл/мин/1,73м² в 4 раза (ОШ 3,9 95 % ДИ 1,2–12,6, $p=0,026$), а наличие в анамнезе ХСН II A стадии и выше – в 9 раз (ОШ 9,3 95 % ДИ 1,9–45,02, $p=0,006$) увеличивало шанс неблагоприятного течения постинфарктного периода [4]. По частоте встречаемости нетипичной манифестации ИМ, а также по локализации и глубине поражения миокарда различий выявлено не было ($p>0,05$). По результатам коронарной ангиографии у всех пациентов были выявлены гемодинамически значимые стенозы

коронарных артерий. Однако трехсосудистый стенозирующий коронароангиосклероз чаще выявлялся в группе 2 (41 % против 19 %, $p=0,005$). Данный фактор увеличивал шанс повторных госпитализаций по поводу обострения ИБС и ХСН (ОШ 2,05 95 % ДИ 0,99–4,21, $p=0,049$ и ОШ 2,35 95 % ДИ 1,01–5,07, $p=0,027$ соответственно). Вместе с тем следует отметить, что наличие этого фактора при построении модели логистической регрессии оказывало менее выраженное отрицательное влияние на течение постинфарктного периода и не стало независимым предиктором неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в течение 5 лет наблюдения. Доля пациентов, перенесших инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (ИМпST), в обеих группах была сопоставима, составив в среднем 73 %. Показатели липидтранспортной функции крови, базальной гликемии и данные функциональных методов обследования сердечно-сосудистой системы значимых различий не имели ($p>0,05$). Однако установлено, что показатели систолической функции сердца по средним значениям чаще отклонялись от нормы во 2-й группе. Осложненное течение острого периода заболевания чаще регистрировалось среди пациентов 2-й группы (68,3 % против 48,2 %, $p=0,002$). Наличие осложнений в 2,5 раза увеличивало шанс неблагоприятного течения постинфарктного периода (ОШ 2,5 95 % ДИ 1,3–4,9, $p=0,005$). Следует отметить, что 80 % больных из группы благоприятного течения постинфарктного периода регулярно посещали поликлинику, в то время как более половины (51,6 %) пациентов 2-й группы вообще не посещали или реже 1 раза в год посещали врача на поликлиническом этапе реабилитации. При этом в группе неблагоприятного течения постинфарктного периода на 1-й год наблюдения пришлось максимальное число случаев госпитализации (55 %), в том числе по поводу обострения ИБС (44 %), ХСН (24 %), нарушений ритма сердца (9,5 %). Повторный ИМ развился у 9,5 % пациентов, при этом все случаи возникли в течение 1 года наблюдения. При этом посещение пациентом поликлиники реже 1 раза в год в 5,5 раз повышало шанс неблагоприятного течения постинфарктного периода (ОШ 5,5 95 % ДИ 2,79–10,91, $p<0,001$), что, вероятно, связано с отсутствием наблюдения квалифицированных специалистов за состоянием здоровья больных пожилого и старческого возраста, перенесших ИМ, и часто страдающих коморбидной патологией и отсутствием своевременной коррекции терапии, что может приводить к снижению приверженности лечению и дестабилизации состояния больных [5]. По результатам сложного многофакторного статистического анализа с исследованием более 40 факторов данный признак вошел в совокупность независимых предикторов неблагоприятных сердечно-сосудистых событий при 5-летнем наблюдении.

Выводы. Таким образом, факторами, отрицательно влияющими на течение ИБС с отдаленным постинфарктным периоде у пациентов пожилого и старческого возраста, являются многососудистое поражение коронарного русла, отягощенный анамнез, осложнения острого ИМ, однако независимыми предикторами неблагоприятного течения постинфарктного периода при 5-летнем наблюдении являются снижение СКФ <60 мл/мин/м², ХСН II A стадии и выше, наличие осложнений острого периода ИМ и нерегулярное посещение (реже 1 раза в год) пациентами врача на поликлиническом этапе реабилитации, что в 5,5 раз (ОШ 5,5 95 ДИ 2,8–10,9, $p<0,001$) увеличивает опасность развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nielsen P.H., Maeng M., Busk M., Mortensen L.S., Kristensen S.D., Nielsen T.T., Andersen H.R.; DANAMI-2 Investigators. The DANAMI-2 Investigators Primary Angioplasty Versus Fibrinolysis in Acute Myocardial Infarction Long-Term Follow-Up in the Danish Acute Myocardial Infarction 2 Trial. *Circulation*. 2010; 121: 1484–1491.
2. Гарганеева А.А., Тукиш О.В., Куржелева Е.А. Отдаленная выживаемость пациентов пожилого и старческого возраста после инфаркта миокарда в зависимости от тактики ведения в остром периоде заболевания. *Успехи геронтологии*. 2017; 30 (5): 709–715.
3. Хелашивили С.Р., Кузюта И.Л. Коморбидная патология: инфаркт миокарда и сахарный диабет / Молодой ученый. 2016; 127(23): 162–165.
4. Скородумова Е.А., Костенко В.А., Фёдоров А.Н. Клиническое течение инфаркта миокарда у больных с дисфункцией почек в стационаре. *Трансляционная медицина*. 2014; 27(2): 47–51.
5. Вологодина, И.В. Симаненков В.И. Порошина Е.Г., Минько Б.А. Качество жизни и приверженность терапии у пациентов пожилого и старческого возраста с хронической сердечной недостаточностью, коморбидными когнитивными и аффективными нарушениями. *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. 2016; 8(1): 45–49.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ СНИЖЕНИЯ СКОРОСТИ КЛУБОЧКОВОЙ ФИЛЬТРАЦИИ В МОЛОДОЙ ПОПУЛЯЦИИ Г. НОВОСИБИРСКА И НЕКОТОРЫЕ БИОМАРКЕРЫ ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК

**А.Д. Худякова, Н.А. Ковалькова, Е.В. Каштанова, Л.В. Щербакова,
Ю.И. Рагино**

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал
Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный
исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской
академии наук» (НИИТФМ – филиал ИЦиГ СО РАН), г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Представлены распространенность сочетания артериальной гипертензии и сниженной скорости клубочковой фильтрации в молодой популяции г. Новосибирска, а также изучены свойства симметричного диметиларгинина, уромодулина, ретинол-связывающего белка, трансформирующего фактора роста бета и ингибитора активатора плазминогена-1 как маркеров раннего поражения почек.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, симметричный диметиларгенин, уромодулин, ретинол-связывающий белок, трансформ-мирующий фактор роста бета, ингибитор активатора плазминогена-1.

THE PREVALENCE OF DECREASED GLOMERULAR FILTRATION RATE IN THE YOUNG POPULATION OF NOVOSIBIRSK AND SOME BIOMARKERS OF KIDNEY DAMAGE

**A.D. Khudyakova, N.A. Kovalkova, E.V. Kashtanova, L.V. Shcherbakova,
Yu.I. Ragino**

Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian
Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Abstract

The article presents the prevalence of a combination of arterial hypertension and a reduced glomerular filtration rate in the young population of Novosibirsk. And also the properties of symmetric dimethylarginine, uromodulin, retinol-binding protein, transforming growth factor beta and inhibitor of plasminogen activator-1 as markers of early kidney damage were studied.

Keywords: arterial hypertension, the symmetric dimethylarginine, uromoduline, retinol-binding protein, transforming growth factor- β 1, plasminogen activator inhibitor-1.

Актуальность. В течение долгого времени основными критериями поражения почек при артериальной гипертензии (АГ) считались оценка уровня креатинина крови, альбуминурии и расчет скорости клубочковой фильтрации (СКФ). Однако они имеют определенные ограничения. Особую актуальность приобретает поиск новых биомаркеров почечного повреждения при АГ, способных выявить начальные изменения. Симметричный диметиларгинин (СДМА), метилированное производное аминокислоты L-аргинина, выделяется преимущественно почками, и его концентрация в крови отражает почечную функцию. В метаанализе 18 клинических исследований с участием 2136 пациентов показана высокая корреляция концентрации СДМА с клиренсом инулина [1]. Уромодулин (протеин Тамма – Хорсфалла) – гликопротеин, продуцируемый толстым восходящим отделом петли Генле и начальной частью извитого дистального канальца. Его содержание в крови прямо коррелировало со СКФ, средним дневным артериальным давлением (АД) и обратно – с выраженностью атрофии канальцев, концентрацией в крови креатинина [2]. Ретинол-связывающий белок

(РСБ) – низкомолекулярный белок липокалин, который служит основным переносчиком и депо витамина А в крови. Уровень РСБ значительно повышается при гипертонической нефропатии [3]. Трансформирующий фактор роста бета (TGF- β) принадлежит к семейству димерных полипептидов, которые широко распространены в тканях и синтезируются многими типами клеток. Выявлена положительная связь между концентрацией циркулирующего TGF- β 1 и прогрессированием ХБП, она положительно коррелирует с активностью ренина крови, величиной АД, индексом массы тела, а также наличием метаболического синдрома [4]. Ингибитор активатора плазминогена-1 (ИАП-1) – белок острой фазы, его концентрация в крови возрастает вместе с увеличением содержания ИЛ-1. Выявлено значимое повышение уровня ИАП-1 у больных с начальными стадиями снижения СКФ и его дальнейшее возрастание по мере снижения СКФ [5].

Цель: 1. Изучить распространенность снижения СКФ у лиц с АГ в молодой популяции г. Новосибирска; 2. Оценить значимость СДМА, уромодулина, РСБ, ИАП-1 и TGF- β как маркеров поражения почек при АГ.

Материал и методы. На базе НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН в течение 2013–2016 гг. проведено одномоментное популяционное обследование населения одного из типичных районов г. Новосибирска. В исследование было включено 1074 человека, из них 468 мужчин и 606 женщин 25–45 лет. Категории артериального давления (АД) выделялись согласно рекомендациям ВНОК (2004), АГ регистрировалась при уровне АД $\geq 140/90$ мм рт.ст. Уровни СКФ выделялись согласно рекомендациям KDIGO (2012) и рассчитывались по формуле Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI). СКФ более 90 мл/мин/1,73 cm^2 расценивалась как высокая или оптимальная, 60–89 мл/мин/1,73 cm^2 – незначительно сниженная, 45–59 мл/мин/1,73 cm^2 – умеренно сниженная, 30–44 мл/мин/1,73 cm^2 – значительно сниженная, 15–29 мл/мин/1,73 cm^2 – резко сниженная, менее 15 мл/мин/1,73 cm^2 – терминальная почечная недостаточность.

Из числа обследованных сформированы 4 группы лиц: 1-я группа – лица с АГ и сниженной СКФ – 13 человек (9 мужчин, 4 женщины, средний возраст 41 ± 4 года), 2-я группа – лица с АГ и нормальным уровнем СКФ – 13 человек (9 мужчин, 4 женщины, средний возраст 40 ± 5 лет), 3-я группа – лица со сниженной СКФ и нормальным АД – 13 человек (9 мужчин, 4 женщины, средний возраст 41 ± 4 года) и 4-я группа – лица с нормальным уровнем АД и СКФ – 13 человек (9 мужчин, 4 женщины, средний возраст 40 ± 5 лет). Во всех 4 группах лиц определено содержание в сыворотке крови СДМА, РСБ, ИАП-1, TGF- β 1 и уромодулина. Статистическая обработка полученных результатов выполнялась с использованием пакета программ SPSS (версия 13,0).

Результаты. Распространенность АГ в популяции составила 17,3 %, снижения СКФ_(CKD-EPI) менее 90 мл/мин/1,73 cm^2 – 23,5 %. Среди этих лиц было выявлено 38 пациентов, сочетающих повышенное АД и сниженную СКФ, что составило 3,5 % от всей популяции. Различий по полу выявлено не было (19 мужчин и женщин соответственно). У лиц, имеющих АГ и сниженный уровень СКФ, было выявлено, что чем ниже СКФ_(CKD-EPI), тем выше уровень СДМА ($p < 0,05$). В свою очередь, такой связи в других выделенных группах не отмечалось. Также в 1-й группе лиц отмечались достоверно более высокие значения РСБ ($p < 0,05$) и ИАП-1 ($p < 0,01$), чем в группах 3 и 4, которые составили $89,6 \pm 11,6$ мкг/мл и $149,3 \pm 13,5$ нг/мл соответственно. Но при сравнении со 2-й группой для данных показателей значимых различий получено не было.

Заключение. Распространенность снижения СКФ у лиц с АГ в молодой популяции г. Новосибирска составила 3,5 %. По результатам исследования уровень СДМА в сыворотке крови может отражать наличие повреждения почек при АГ. ИАП-1 и РСБ показали более высокие значения при сочетании АГ и сниженной СКФ. Уровни уромодулина и TGF- β 1 не проявили себя как маркеры повреждения почек при АГ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kielstein J.T., Salpeter S.R., Bode-Boeger S.M., Cooke J.P., Fliser D. Symmetric dimethylarginine as endogenous marker of renal function – a meta-analysis. *Nephrol.Dial.Transplant.* 2006; 21(9): 2446–2451. doi: 10.1093/NDT/gfl292.
2. Смирнов А.В., Хасун М., Каюков И.Г., Сиповский В.Г., Галкина О.В., Зубина И.М., Карунная А.В. Уромодулин и выраженность тубулоинтерстициальных повреждений у пациентов с нефропатиями. *Нефрология.* 2015; (2): 49–54.
3. Blumczynski A., Soltysiak J., Lipkowska K., Silska M., Poprawska A., Musielak A., Zantew M., Zachwieja J. Hypertensive nephropathy in children – do we diagnose early enough? *Blood Press.* 2012; (4): 233–234. doi: 10.3109/08037051.2012.666393.
4. Suthanthiran M., Gerber L.M., Schwartz J.E., Sharma V.K., Medeiros M., Marion R., Pickering T.G., August P. Circulating transforming growth factor- β 1 levels and the risk for kidney disease in African Americans. *Kidney Int.* 2009; 76(1): 72–80. doi: 10.1038/ki.2009.66.
5. Malgorzewicz S., Skrzypczak-Jankun E., Jankun J. Plasminogen activator inhibitor-1 in kidney pathology. *Int.J.Mol.Med.* 2013; (3): 503–510. doi: 10.3892/ijmm.2013.1234.

ПРИМЕНЕНИЕ КРАТКИХ КУРСОВ ТЕРАПИИ СТАТИНАМИ С ЦЕЛЬЮ ПРОФИЛАКТИКИ КОНТРАСТ-ИНДУЦИРОВАННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК ПРИ ПЛАНОВОМ ЭНДОВАСКУЛЯРНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ИБС

О.Е. Шалаева, А.Н. Репин, Е.О. Вершинина

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Контраст-индуцированная нефропатия (КИН) является одним из серьезных осложнений чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ) у пациентов с ишемической болезнью сердца. Проведен проспективный анализ частоты возникновения КИН. Оценена эффективность профилактики почечного повреждения у пациентов, направленных на эндоваскулярное вмешательство с введением контрастного вещества. КИН при плановой ЧКВ на фоне приема нагрузочных доз розувастатина развивалась реже по сравнению с нагрузочной терапией аторвастатином, соответственно 3,33 % и 12,12 %. В группе аторвастатина снижение СКФ – 11,6 % и повышение креатинина – 14,3 % наблюдались чаще, чем в группе розувастатина (СКФ – 9,8 %, уровень креатинина – 8,1 %). Противовоспалительный эффект, оцененный показателем высокочувствительного С-реактивного белка, у пациентов ИБС при плановом эндоваскулярном лечении розувастатином был существенно сильнее по сравнению с терапией аторвастатином. Терапия нагрузочными дозами розувастатина у исследуемых больных оказалась эффективнее, чем у пациентов, находящихся на лечении аторвастатином.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, стабильная стенокардия, чрескожные коронарные вмешательства, контраст-индуцированная нефропатия, нефропатия, реваскуляризация миокарда.

THE USE OF HIGH LOADING DOSES OF STATINS FOR THE PREVENTION OF CONTRAST-INDUCED RENAL DAMAGE IN THE PLANNED ENDOVASCULAR TREATMENT OF PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE

O.E. Shalaeva, A.N. Repin, E.O. Vershinina

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Contrast-induced nephropathy (CIN) is one of the serious complications of percutaneous coronary interventions (PCI) in patients with ischemic heart disease. A prospective analysis of the incidence of CIN was carried out. The effectiveness of the prevention of renal damage in patients aimed at an ezovascular intervention with the administration of a contrast agent has been evaluated. The development of CIN in the planned PCI on the background of taking loading doses of rosuvastatin was less frequent in comparison with the loading therapy of atorvastatin, respectively, 3.33 % and 12.12 %. In the atorvastatin group, the decline in GFR was 11.6 % and the increase in creatinine 14.3 % was more frequent than in the rosuvastatin group (GFR 9.8 %, creatinine level 8.1 %). The anti-inflammatory effect assessed by the index of a highly sensitive C-reactive protein in patients with IHD in planned endovascular treatment for rosuvastatin was significantly stronger than atorvastatin therapy. Therapy with loading doses of rosuvastatin in the patients was more effective than in patients undergoing atorvastatin treatment.

Keywords: ischemic heart disease, stable angina, percutaneous coronary interventions, contrast-induced nephropathy, nephropathy, myocardial revascularization.

Введение. Чрескожные коронарные вмешательства (ЧКВ) стали ключевыми методами реваскуляризации у больных с коронарной болезнью сердца. Контраст-индуцированная нефропатия (КИН) является серьезным осложнением у пациентов, подвергающихся коронарной ангиографии и чрескожным коронарным вмешательствам.

КИН определяется как увеличение в сыворотке крови концентрации креатинина более чем на 25 %, или 44,2 мкмоль/л ($>0,5$ мг/дл) от исходного значения, в течение 3 дней после внутрисосудистого назначения контраста в отсутствие альтернативных причин. Увеличение уровня сывороточного креатинина происходит через 24–48 ч, достигая максимального уровня на 3–5-й день, и возвращение его к исходному уровню – через 7–10 дней. Анализ мочи может выявить гранулоциты, трубчатые эпителиальные клетки и минимальную протеинурию.

В рекомендациях по реваскуляризации миокарда для профилактики КИН рекомендовано использование гидратации у пациентов со средней и тяжелой степенью хронической болезни почек (ХБП) с уровнем доказанности IA, а также короткие курсы статинов в высоких дозах с уровнем доказанности IIa. Эффективность краткосрочных курсов высоких доз статинов в предотвращении КИН не исследована. Не определены дозы и режимы назначения статинов, не проводились сравнительные исследования достаточного объема, которые ответили бы на вопрос о выборе оптимального статина для профилактики контраст-индуцированного повреждения почек при плановых чрескожных вмешательствах (ЧКВ) при лечении стабильной ИБС.

Цель работы – оценить эффективность профилактики острого контраст-индуцированного повреждения почек высокими нагрузочными дозами статинов (аторвастатина и розувастатина) у пациентов, направленных на плановое эндоваскулярное лечение хронической ишемической болезни сердца.

Материал и методы. Все пациенты с гемодинамически значимыми стенозами коронарных артерий, включенные в исследование, были направлены на плановую эндоваскулярную реваскуляризацию миокарда.

Все пациенты исходно принимали статины. Они были разделены на две группы – аторвастатина (группа 1) и розувастатина (группа 2). Перед эндоваскулярным вмешательством пациентам назначались высокие нагрузочные дозы статинов, схема назначения препаратов представлена на рис. 1. Пациенты первой группы принимали аторвастатин в дозе 80 мг за 12 ч и 40 мг за 2 ч перед ЧКВ, больные второй группы, находящиеся на терапии розувастатином, получали его в дозе 40 мг за 12 ч и 20 мг за 2 ч перед ЧКВ.

Больным проводилось: общеклиническое обследование (исходно, через 1 год), серийно определяли уровни креатинина, вч-СРБ и другие биохимические и общеклинические показатели крови, цистатин С. Вычисляли расчетные показатели функции почек, такие как скорость клубочковой фильтрации по формуле CKD-Epi (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) и клиренса креатинина по формуле Кокрофта – Голта.

Результаты. В ретроспективное исследование включено 68 больных стабильной ИБС. При оценке исходных клинических и анамнестических данных статистически значимых различий в обеих группах не выявлено. Большинство больных, включенных в исследование, мужского пола в возрасте от 57 до 58 лет, вес – от 82 до 90 кг. Среди больных ИБС перенесенный инфаркт миокарда был у 72,9–82,9 %, предшествующие реваскуляризации выполнены у 33,3–42,9 %. По функциональному классу стенокардии, хронической сердечной недостаточности обе группы больных были равно сопоставимы. Были собраны данные о сопутствующих заболеваниях, стаже курения, семейном анамнезе.

У пациентов при плановом чрескожном вмешательстве на фоне приема нагрузочных доз розувастатина КИН развивалась значительно реже в сравнении с нагрузочной терапией аторвастатином, соответственно 3,33 % и 12,12 % ($p<0,05$).

В обеих группах наблюдалось повышение уровня сывороточного креатинина после чрескожного коронарного вмешательства. Пиковое значение повышения уровня креатинина зафиксировано через 48 ч после эндоваскулярного вмешательства с введением контрастного вещества, нормализация показателей креатинина отмечалась на 5-е сут.

В первой группе больных, принимавших нагрузочные дозы розувастатина, снижение функции почек по показателям СКФ отмечено у 9,8 % и повышение уровня креатинина составило 8,1 %. Терапия аторвастатином у второй группы пациентов оказалась менее эффективной по результатам СКФ и сывороточного креатинина, снижение СКФ 11,6 % и повышение креатинина 14,3 %.

Терапия нагрузочными дозами розувастатина у исследуемых больных оказалась эффективнее, чем у пациентов, находящихся на лечении аторвастатином.

Выводы. КИН у пациентов ИБС при плановой ЧКВ на фоне приема нагрузочных доз розувастатина развивалась реже в сравнении с нагрузочной терапией аторвастатина, соответственно 3,33 % и 12,12 %.

В группе atorвастатина снижение СКФ – 11,6% и повышение креатинина – 14,3 % наблюдались чаще, чем в группе розувастатина (СКФ – 9,8 %, уровень креатинина – 8,1 %).

Противовоспалительный эффект, оцененный показателем высокочувствительного СРБ, у пациентов с ИБС при плановом эндоваскулярном вмешательстве на терапии розувастатином был существенно сильнее по сравнению с терапией atorвастатином.

Отмечается улучшение клинического течения ИБС по синдромам стенокардии и сердечной недостаточности через 12 мес после эндоваскулярного вмешательства на фоне терапии статинами. Различий между группами не отмечено.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бокерия Л.А., Алекян Б.Г. Рентгенэндоваскулярная диагностика и лечение заболеваний сердца и сосудов в Российской Федерации. М.: Издательство НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2012.
2. Attallah N., Yassine L., Musial J., Yee J., Fisher K. The potential role of statins in contrast nephropathy. Clin. Nephrol., 2004; 62 (4): 273–8.
3. Bakris G.L., Lass N.A., Glock D. Renal hemodynamics in radio-contrast medium-induced renal dysfunction: a role for dopamine-1 receptors. Kidney Int 1999; 56: 206–210.
4. Barrett B.J. Contrast nephrotoxicity. J Am Soc Nephrol 1994; 5: 125–137.
5. Byrd L., Sherman R.L. Radiocontrast-induced acute renal failure: a clinical and pathophysiologic review. Medicine 1979; 58: 270–279.
6. Khanal S., Attallah N., Smith D. E., Kline-Rogers E., Share D., O'Donnell M.J., Moscucci, M. Statin therapy reduced contrast-induced nephronopathy: an analysis of contemporary percutaneous intervention. Am. J. Med., 2005; 118(8): 843–9.

ДИНАМИКА МЕХАНИЧЕСКОЙ ДИССИНХРОНИИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С СУПЕРОТВЕТОМ НА СЕРДЕЧНУЮ РЕСИНХРОНИЗИРУЮЩУЮ ТЕРАПИЮ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Н.Е. Широков, В.А. Кузнецов, А.М. Солдатов, С.М. Дьячков,
Д.В. Криночкин

Тюменский кардиологический научный центр, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, Россия, г. Тюмень, Россия

Аннотация

Актуальность. Имеются данные о том, что наличие механической диссинхронии связано с суперответом на сердечную ресинхронизирующую терапию (СРТ) у больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), однако остается неясным влияние СРТ на динамику механической диссинхронии.

Цель – оценить клинические особенности организма и морфо-функциональные свойства сердца, а также изучить динамику механической диссинхронии у больных с ХСН и суперответом на СРТ. **Материал и методы.** Было обследовано 64 пациента (средний возраст 53,6±9,2 года) исходно и при двух явках: в 10,8±3,6 и 51,8±20,1 мес. Пациенты были разделены на группы: I гр. (n=31) с уменьшением конечно-систолического объема левого желудочка ≥30 % (суперреспондеры) и II гр. (n=33) – уменьшение КСО ЛЖ <15 % (нереспондеры). **Результаты.** При анализе динамики механической диссинхронии период аортального предызгнания в группе суперреспондеров статистически значимо уменьшался на обеих контрольных явках, во II группе достоверного изменения выявлено не было. Период предызгнания из легочной артерии в сравнении с исходными данными достоверно увеличился только в группе нереспондеров на второй контрольной явке. Механическая межжелудочковая задержка и максимальная межсегментарная задержка, оцененная с помощью TDI, достоверно уменьшились в обеих группах в сравнении с исходными значениями. В конце периода наблюдения выживаемость больных с суперответом составила 87,1 %, у пациентов второй группы – 63,6 % (Log-Rank test p=0,048). **Заключение.** Суперответ ассоциирован с уменьшением механической диссинхронии при длительном периоде наблюдения, более высокой выживаемостью.

Ключевые слова: сердечная ресинхронизирующая терапия, хроническая сердечная недостаточность, суперответ, механическая диссинхрония, длительный период наблюдения.

DYNAMICS OF MECHANICAL DYSSYNCHRONY IN PATIENTS WITH CONGESTIVE HEART FAILURE WITH SUPERRESPONSE TO CARDIAC RESYNCHRONISATION THERAPY WITH A LONG-TERM FOLLOW-UP

N.E. Shirokov, V.A. Kuznetsov, A.M. Soldatova, C.M. Diachkov, D.V. Krinochkin

Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tyumen, Russia

Abstract

Background. There is evidence that the presence of mechanical dyssynchrony is associated with super-response (SR) to cardiac resynchronisation therapy (CRT) in patients with congestive heart failure (CHF), but the effect of CRT on the dynamics of mechanical dyssynchrony remains unclear. **Aim:** To assess clinical features of organism and morpho-functional properties of heart, as well as to study the dynamics of mechanical dyssynchrony in patients with CHF and SR to CRT. **Materials and methods.** 64 patients were examined (mean age 53.6 ± 9.2 years) at baseline and during follow-up visits: 10.8 ± 3.6 months, и 51.8 ± 20.1 months. Patients were divided into groups: I group ($n=31$) with decrease of LV ESV ≥ 30 % (superresponders) and II group ($n=33$) – decrease of LV ESV < 15 % (nonresponders). **Results.** LV pre-ejection period in group I was statistically significantly decreased at both control visits, in group II there was no significant change. Right ventricular pre-ejection period significantly increased only in group I at the second control visit compared to baseline values. The mechanical interventricular delay and intraventricular dyssynchrony assessed by tissue doppler imaging significantly decreased in both groups compared to baseline values. The survival rate in group I was 87.1 %, in group II was 63.6 % (Log-Rank test $p=0.048$). **Conclusion.** SR is associated with a decrease of mechanical dyssynchrony with a long-term follow-up, also with a higher survival rate.

Keywords: cardiac resynchronisation therapy, congestive heart failure, superresponse, mechanical dyssynchrony, long-term follow-up.

Введение. Сердечная ресинхронизирующая терапия (СРТ) улучшает сократительную способность левого желудочка (ЛЖ), снижает функциональную митральную регургитацию и приводит к обратному ремоделированию ЛЖ [1]. Известно, что в соответствии с настоящими критериями отбора, около трети пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) не отвечают должным образом на СРТ [2]. Наряду с этим существуют суперреспондеры – пациенты с особенно значимым увеличением сократительной функции сердца и выраженным обратным ремоделированием сердца на фоне СРТ.

По результатам субанализа исследования Echo-CRT было показано, что уменьшение механической диссинхронии на фоне СРТ связано с меньшей частотой госпитализаций по причине ХСН или смерти. Персистирующая или ухудшающаяся диссинхрония по данным ЭхоКГ, возможно, является маркером тяжести заболевания у пациентов с ХСН и имеет прогностическое значение [3]. Имеются данные о том, что наличие механической диссинхронии связано с суперответом на СРТ у больных с ХСН, однако остается неясным влияние СРТ на динамику механической диссинхронии.

Цель – оценить клинические особенности организма и морфо-функциональные свойства сердца, а также изучить динамику механической диссинхронии у больных с ХСН и суперответом на СРТ.

Материал и методы. Было обследовано 64 пациента (средний возраст $53,6 \pm 9,2$ года) исходно и при двух явках: в $10,8 \pm 3,6$ и $51,8 \pm 20,1$ мес. Суперответ на СРТ был определен как уменьшение конечно-систолического объема (КСО) ЛЖ ≥ 30 % в обеих контрольных явках в течение срока наблюдения после имплантации устройства. В соответствии со степенью выраженности ответа на СРТ из 222 пациентов, включенных в «Регистр проведенных операций сердечной ресинхронизирующей терапии»©, было выделено 64 пациента [4]. На второй контрольной явке пациенты были разделены на две группы: I гр. ($n=31$) с уменьшением КСО ЛЖ ≥ 30 % от исходного (суперреспондеры) и II гр. ($n=33$) – уменьшение КСО ЛЖ < 15 % (нереспондеры).

Результаты. Исходно были выявлены различия по наличию инфаркта миокарда в анамнезе (22,5 % в I группе и 48,5 % во II группе; $p=0,031$) и ФК по NYHA ($2,5 \pm 0,6$ в I группе и $2,9 \pm 0,5$ во II группе; $p=0,006$), группы были сопоставимы по выраженности электрической и механической диссинхронии. При анализе динамики механической диссинхронии период

аортального предызгнания в группе суперреспондеров статистически значимо уменьшался на обеих контрольных явках, во II группе достоверного изменения выявлено не было, что свидетельствует об уменьшении механической диссинхронии только у больных с суперответом на СРТ. Период предызгнания из легочной артерии в сравнении с исходными данными достоверно увеличился только в группе нереспондеров на второй контрольной явке, что указывает на ухудшение механической диссинхронии только у пациентов без ответа на СРТ. Механическая межжелудочковая задержка и максимальная межсегментарная задержка, оцененная с помощью TDI, достоверно уменьшились в обеих группах в сравнении с исходными значениями (табл. 1). При этом в группе суперреспондеров на второй контрольной явке в сравнении с данными первой контрольной явки выявлена не достигшая статистически значимого уровня тенденция к уменьшению периода аортального предызгнания, механической межжелудочковой задержки и максимальной межсегментарной задержки, оцененной с помощью TDI. Во II группе на первой контрольной явке произошло их уменьшение, а на второй – увеличение относительно первой контрольной явки, также не достигшее статистически значимого уровня (табл. 1).

Таблица 1

Динамика механической диссинхронии в группах

Показатель		I группа (n=31)	II группа (n=33)	p
Период аортального предызгнания, (мсек)	Исходно	147,2±37,9	131,9±34,2	0,096
	Контроль № 1	124,4±26,5*	121,8±36,6	нд
	Контроль № 2	124,0±33,5*	130,3±39,9	нд
Период предызгнания из легочной артерии, (мсек)	Исходно	93,4±22,3	86,4±21,8	нд
	Контроль № 1	103,9±27,0	106,0±38,3	нд
	Контроль № 2	105,5±31,2	107,3±39,0*	нд
Механическая межжелудочковая задержка, (мсек)	Исходно	56,6 [22,0; 86,0]	47,6 [19,8; 70,0]	нд
	контроль № 1	24,4 [11,5; 39,5]*	22,6 [7,8; 35,8]*	нд
	Контроль № 2	21,4 [5,0; 30,0]*	27,8 [11,3; 38,8]*	нд
Максимальная межсегментарная задержка, TDI, (мсек)	Исходно	78,5 [34,3; 120,0]	58,1 [24,5; 95,0]	нд
	Контроль № 1	47,7 [12,8; 51,8]*	34,5 [11,5; 45,5]*	нд
	Контроль № 2	36,2 [14,0; 31,0]*	40,8 [13,0; 68,0]*	нд

Примечание: TDI – тканевой доплер; * – значимая достоверность контроля от исходных данных (p < 0,05); нд – нет достоверных различий, (p > 0,05).

В конце периода наблюдения выживаемость больных с суперответом составила 87,1 %, у пациентов второй группы – 63,6 % (Log-Rank test p=0,048).

Выводы. Показатели, характеризующие механическую диссинхронию, и эхокардиографические параметры, достоверно улучшаются на обеих контрольных явках у больных с суперответом на СРТ. В группе нереспондеров происходит улучшение показателей на первой контрольной явке, на второй происходит ухудшение в сравнении со значениями первой явки. Таким образом, изложенные явления подтверждают сохранение эффекта СРТ при длительном периоде наблюдения у суперреспондеров, и, напротив, ограниченность эффекта СРТ краткосрочным периодом в группе нереспондеров. Выживаемость пациентов с суперответом в сравнении с нереспондерами достоверно выше при длительном периоде наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Brignole M., Auricchio A., Baron-Esquivias G., Bordachar P., Boriani G., Breithardt O.A., Cleland J., Deharo J.C., Delgado V., Elliott P.M., Gorenek B., Israel C.W., Leclercq C., Linde C., Mont L., Padeletti L., Sutton R., Vardas P.E. ESC Guidelines on cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy 2013 The Task Force on cardiac pacing and resynchronization therapy of the European Society of Cardiology (ESC). Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association (EHRA). European heart journal. 2013; 34(29): 2281–329.
2. 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., Jankowska 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. 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. European heart journal. 2016; 37: 2129–2200.
3. Gorgsan J. 3rd, Sogaard P., Bax J.J., Singh J.P., Abraham W.T., Borer J.S., Dickstein K., Gras D., Krum H., Brugada J., Robertson M., Ford I., Holzmeister J., Ruschitzka F. Association of persistent or worsened echocardiographic dyssynchrony with unfavourable clinical outcomes in heart failure patients with narrow QRS width: a subgroup analysis of the EchoCRT trial. European heart journal. 2016; 37(1): 49.
4. Кузнецов В.А., Колунин Г.В., Харац В.Е., Криночкин Д.В., Рычков А.Ю., Горбунова Т.Ю., Павлов А.В., Белоголов Д.В., Чуркевич Т.О. Регистр проведенных операций сердечной ресинхронизирующей терапии. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2010620077 от 1 февраля 2010 года.

ЭНДОТЕЛИОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КАЛЬЦИЙ-ФОСФАТНЫХ БИОНОВ IN VIVO

Д.К. Шишкова, Е.А. Великанова, Е.О. Кривкина, А.В. Миронов, А.Г. Кутихин

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

Аннотация

Избыточные концентрации кальция и фосфора в крови приводят к формированию кальций-фосфатных бионов (КФБ), представляющих собой сферические частицы губчатой структуры, состоящие из гидроксиапатита, карбонат-гидроксиапатита и ряда белков, включая альбумин и фетуин-А. Было показано, что КФБ токсичны для эндотелиальных клеток *in vitro*, вызывая их апоптоз и стимулируя выделение провоспалительных цитокинов интерлейкина-6 и интерлейкина-8. Более того, было продемонстрировано, что КФБ вызывают гипертрофию интимы крыс после ангиопластики. В то же время остается неизвестным, специфичны ли данные эффекты для КФБ. Для ответа на этот вопрос были синтезированы магний-фосфатные бионы (МФБ), идентичные КФБ по размерности и форме, однако имеющие другой химический состав. Сравнительное тестирование токсичности МФБ и КФБ для эндотелия *in vivo* показало, что, в отличие от КФБ, МФБ не вызывают гипертрофию интимы аорт крыс. Механизм формирования неоинтимы в экспонированных КФБ аортах заключался в приобретении синтетического фенотипа гладкомышечными клетками и фибробластами. Таким образом, эндотелиотоксические эффекты специфичны для КФБ и вызывают фенотипический сдвиг мезенхимальных клеток.

Ключевые слова: атеросклероз, бионы, наночастицы, эндотелий, гипертрофия интимы.

ENDOTHELIAL TOXICITY OF CALCIUM PHOSPHATE BIONS IN VIVO

D.K. Shishkova, E.A. Velikanova, E.O. Krivkina, A.V. Mironov, A.G. Kutikhin

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia

Abstract

Excessive concentrations of calcium and phosphate in blood result in the formation of calcium phosphate bions (CPB), which are spherical spongy nanoparticles consisting of hydroxyapatite, carbonate-hydroxyapatite, and a number of proteins including albumin and fetuin A. It has been demonstrated that CPB are detrimental for endothelial cells *in vitro*, inducing their apoptosis and stimulating release of pro-inflammatory cytokines interleukin-6 and interleukin-8. Further, CPB provoke intimal hyperplasia in rats upon the angioplasty. However, it remains elusive whether aforementioned effects are specific for CPB. To address this issue, here we synthesized magnesium phosphate bions (MPB) similar to CPB in size and shape but having different chemical composition following *in vivo* testing of their endothelial toxicity. In contrast to CPB, MPB did not intimal hyperplasia in rat aortas. The mechanism of intimal hyperplasia in CPB-treated aortas was acquisition of synthetic phenotype by smooth muscle cells and fibroblasts. Hence, endothelial toxicity is characteristic for CPB and triggers phenotypic switch of the mesenchymal cells.

Keywords: Atherosclerosis, bions, nanoparticles, endothelium, intimal hyperplasia.

Актуальность. Из клинических исследований известно, что как повышенный уровень кальция и фосфора, так и сниженный уровень антикальцифицирующих белков фетуина-А и альбумина в крови ассоциирован с атеросклерозом и его клиническими проявлениями (ишемической болезнью сердца, острым нарушением мозгового кровообращения по ишемическому типу и заболеваниями периферических артерий) [1]. Одним из патогенетических механизмов, объясняющих эту связь, может быть образование обладающих эндотелиотоксическим действием кальций-фосфатных бионов (КФБ), которые представляют собой сферические частицы губчатой структуры диаметром ≤ 500 нм, состоящие из гидроксиапатита, карбонат-гидроксиапатита и ряда белков, в том числе альбумина и фетуина-А [2, 3]. Было выявлено, что КФБ обладают токсическим действием как на культуры эндотелиальных клеток, запуская их апоптоз и стимулируя выделение ими провоспалительных цитокинов

интерлейкина-6 и интерлейкина-8, так и на интиму брюшной аорты крыс, вызывая ее гипертрофию [3]. Также было продемонстрировано, что КФБ могут быть синтезированы искусственно с целью экспериментального моделирования их эндотелиотоксичности [2, 3]. Токсичность КФБ может быть связана как с их химическим составом, так и с корпускулярной природой частиц.

Цель – изучить специфичность эндотелиотоксического действия кальций-фосфатных бионов (КФБ) и магний-фосфатных бионов (МФБ) *in vivo*.

Материал и методы. Сферические и игольчатые кальций-фосфатные бионы (СКФБ и ИКФБ) синтезированы путем добавления растворов CaCl_2 и Na_2HPO_4 в среду DMEM, содержащую 10 % (для СКФБ) либо 1 % (для ИКФБ) фетальной бычьей сыворотки (итоговая концентрация растворов – 3 мМ для СКФБ и 7,5 мМ для ИКФБ). Магний-фосфатные бионы (МФБ) синтезированы путем добавления растворов MgCl_2 и Na_2HPO_4 в среду DMEM, содержащую 10 % фетальной бычьей сыворотки (итоговая концентрация растворов – 20 мМ). Суспензии бионов получали путем суточного культивирования при 37°C, последующего ультрацентрифугирования и растворения в физиологическом растворе. Токсичность бионов на интиму брюшной аорты крыс линии Wistar оценивали путем их однократного внутривенного введения после баллонной ангиопластики с последующей эксплантацией аорт через 5 нед. Биоптаты анализировали: 1) классическими гистологическими методами (окраской гематоксилин-эозином, по Вейгерту – ван Гизону, Расселлу – Мовату и ализариновым красным) при помощи световой микроскопии (AxioImager.A1, Carl Zeiss); 2) иммунофлюоресцентным окрашиванием криосрезов (сочетанные окраски на маркер зрелых эндотелиальных клеток CD31 и маркер эндотелиальных прогениторных клеток CD34, на CD31 и α -гладкомышечный актин, на коллаген IV типа и α -гладкомышечный актин, на виментин и α -гладкомышечный актин, после всех окрасок проводили докрасивание ядерным красителем 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI)) посредством конфокальной микроскопии (LSM 700, Carl Zeiss).

Результаты. Спустя 5 нед после введения бионов в хвостовую вену крыс в предварительно поврежденных баллоном участках брюшных аорт визуализировалась гипертрофия интимы в сочетании с воспалительной инфильтрацией в группах СКФБ и ИКФБ. Экспозиция МФБ не оказывала значимого токсического действия. Выявленный монослой CD31-положительных CD34-отрицательных клеток свидетельствует в пользу того, что реэндотелизация брюшной аорты проходит по механизму миграции и пролиферации зрелых эндотелиальных клеток с неповрежденного эндотелия. Это также говорит о том, что в неоинтима на этом сроке не происходит активной неоваскуляризации. Гипертрофированные участки интимы, обнаруженные в группах СКФБ и ИКФБ, содержат большое количество белка внеклеточного матрикса коллагена IV типа, локализованного вокруг множественных гладкомышечных клеток и миофибробластов, что указывает на синтетический фенотип клеток неоинтимы, характерный для ранних стадий атеросклероза. Частота и выраженность гипертрофии интимы при внутривенном введении СКФБ и ИКФБ была многократно выше по сравнению с МФБ, при этом интенсивность сосудистого ремоделирования была выше при экспозиции ИКФБ. Таким образом, внутривенное введение МФБ не вызывало существенных патологических изменений в аорте, что доказывает специфичность эндотелиотоксического действия КФБ *in vivo*.

Выводы. Эндотелиотоксическое действие КФБ является специфичным в сравнении с МФБ и более выражено при экспозиции ИКФБ, чем при экспозиции СКФБ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) в рамках научного проекта № 17-04-00570 «Оценка специфичности токсического действия кальций-фосфатных бионов на эндотелий»

ЛИТЕРАТУРА

1. Sun Z.L., Xie Q.Y., Guo G.L., Ma K., Huang Y.Y. Serum fetuin-A levels in patients with cardiovascular disease: a meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 691540. doi: 10.1155/2014/691540.
2. Wu C.Y., Young L., Young D., Martel J., Young J.D. Bions: a family of biomimetic mineralo-organic complexes derived from biological fluids. *PLoS One.* 2013; 8(9): e75501. doi: 10.1371/journal.pone.0075501.
3. Kutikhin A.G., Velikanova E.A., Mukhamadiyarov R.A., Glushkova T.V., Borisov V.V., Matveeva V.G., Antonova L.V., Filip'ev D.E., Golovkin A.S., Shishkova D.K., Burago A.Y., Frolov A.V., Dolgov V.Y., Efimova O.S., Popova A.N., Malysheva V.Y., Vladimirov A.A., Sozinov S.A., Ismagilov Z.R., Russakov D.M., Lomzov A.A., Pyshnyi D.V., Gutakovskiy A.K., Zhivodkov Y.A., Demidov E.A., Peltek S.E., Dolganyuk V.F., Babich O.O., Grigoriev E.V., Brusina E.B., Barbarash O.L., Yuzhalin A.E. Apoptosis-mediated endothelial toxicity but not direct calcification or functional changes in anti-calcification proteins defines pathogenic effects of calcium phosphate bions. *Sci Rep.* 2016; 6: 27255. doi: 10.1038/srep27255.

ПОЛИНАСЫЩЕННЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ И ИХ АССОЦИИ С ПАРАМЕТРАМИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА КРОВИ И ЛИПОПРОТЕИН-АССОЦИИРОВАННОЙ ФОСФОЛИПАЗЫ A2 ПРИ КОРОНАРНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

**В.С. Шрамко¹, Я.В. Полонская¹, С.В. Морозов², Е.И. Черняк²,
А.М. Чернявский³, Ю.И. Рагино¹**

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», г. Новосибирск, Россия¹

ФГБУ Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, г. Новосибирск, Россия²

ФГБУ «НМИЦ имени академика Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, г. Новосибирск, Россия³

Аннотация

Изучили содержание 9 ПНЖК и их ассоциации с параметрами окислительного стресса (FORT), антиоксидантной защиты (FORD), уровня продуктов ПОЛ и Лп-ФЛА2 у мужчин с коронарным атеросклерозом. Выявлены потенциально атерогенные изменения, а именно снижение содержания ω -3 и ω -6 ПНЖК, ассоциированные с показателями окислительно-антиоксидантного дисбаланса крови и повышенной концентрацией биомаркера Лп-ФЛА2.

Ключевые слова: коронарный атеросклероз, жирные кислоты, окислительный стресс, антиоксидантная защита, липопротеин-ассоциированная фосфолипаза A2.

POLYUNSATURATED FATTY ACIDS AND THEIR ASSOCIATIONS WITH PARAMETERS OF OXIDATIVE-ANTIOXIDATIVE POTENTIAL TO BLOOD AND LIPOPROTEIN-ASSOCIATED PHOSPHOLIPASE A2 IN CORONARY ATHEROSCLEROSIS

**V.S. Shramko¹, Ya.V. Polonskaya¹, S.V. Morozov², E.I. Chernyak²,
A.M. Chernyavskiy³, Yu.I. Ragino¹**

Novosibirsk Research Institution of Internal and Preventive Medicine – Branch of IC&G SB RAS, Novosibirsk, Russia¹

N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia²

FSBI «National medical research center named after academician E. N. Meshalkin», Novosibirsk, Russia³

Abstract

We studied the content of 9 polyunsaturated fatty acids levels (PUFA) and their associations with parameters of oxidative stress (FORT), antioxidant protection (FORD), the level of products of POL and LP-FLA2 in men with coronary atherosclerosis. Potentially atherogenic changes were detected, namely, a reduction in the content of ω -3 and ω -6 PUFAs associated with indicators of oxidative-antioxidant imbalance in blood and increased concentration of the biomarker- LP-FLA2.

Keywords: coronary atherosclerosis, fatty acids, oxidative stress, antioxidant protection, lipoprotein-associated phospholipase A2.

Нарушения регуляции обмена липидов, липопротеинов, жирных кислот (ЖК), развитие системного воспаления и окислительного стресса считаются ведущими факторами риска, влияющими на развитие и прогрессирование атеросклероза [1].

В последние годы изучаются биохимические маркеры заболеваний [2]. Одним из таких маркеров является липопротеин-ассоциированная фосфолипаза A2 (Лп-ФЛА2) – специфичный в отношении сосудистого воспаления, информирующий о развитии и прогрессировании

сердечно-сосудистых заболеваний [3]. Важность оксидативного стресса рассматривается в патогенезе многих дегенеративных заболеваний, таких как атеросклероз [4].

Поэтому нашей целью было изучить содержание отдельных полиненасыщенных ЖК (ПНЖК); выявить их ассоциации с параметрами оксидативного стресса (FORT), антиоксидантной защиты крови (FORD) и Лп-ФЛА2 у пациентов с коронарным атеросклерозом (КА).

Методика исследования. Работа выполнена в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № 0324-2018-0002 и в рамках бюджетной темы по поддержке биоресурсных коллекций по Государственному заданию № 0324-2017-0048. В исследование были включены 80 мужчин в возрасте 38–66 лет. Основную группу составили 60 человек с коронароангиографически верифицированным КА, со стабильной стенокардией напряжения, без ОКС. Контрольная группа состояла из 20 мужчин без ИБС, согласно данным клинико-функциональных исследований. Все пациенты заполняли форму информированного согласия на участие в исследовании.

Для получения сыворотки проводился забор крови из локтевой вены в утренние часы после 12 ч голодания. Во всех образцах после экстракции и метанолиза проводилось изучение жирно-кислотного состава методами высокоэффективной капиллярной газожидкостной хроматографии и хромато-масс-спектрометрии на хроматографе Agilent Technologies (AT) 6890N. Изучали массовую долю ПНЖК: линолевой, α -линоленовой, γ -линоленовой эйкозодиеновой, арахидоновой, эйкозатриеновой, эйкозапентаеновой, докозапентаеновой и докозагексаеновой. Оценку FORT и FORD проводили на анализаторе «FORM Plus CR3000» (Callegari, Италия). Методом ИФА определяли концентрации Лп-ФЛА2 с использованием тест-системы ELISA (CCC, USA). Уровень продуктов ПОЛ в ЛНП оценивали флуориметрическим методом, разработанным в НИИТПМ (Рагино Ю.И., Душкин М.И., 1998).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программного пакета «SPSS 13.0». Данные представлены в виде медианы и 25 и 75 перцентилей. Для оценки формы распределения признаков использовали тест Колмогорова – Смирнова. Достоверность различий между средними значениями оценивали с помощью критерия Манна – Уитни, корреляционные связи – с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение. Всего в сыворотке крови нами было идентифицировано 20 ЖК (насыщенных и ненасыщенных), в том числе 9 ПНЖК, которые мы изучали в настоящем исследовании (табл. 1). Сравнительный анализ показал уменьшение массовой доли ПНЖК в группе пациентов с КА при сравнении с контрольной группой. У мужчин с КА отмечено снижение ω -3 ПНЖК, а именно C22:5, в 1,65 раза ($p < 0.01$), C22:6 – в 1,63 раза, C20:5 – в 1,44 раза ($p < 0.05$). Уровень ω -6 ПНЖК также был статистически достоверно ниже у пациентов с КА, за счет C20:4, в 1,76 раза, C20:2 – в 1,6 раза и C18:2 – в 1,38 раза соответственно ($p < 0.01$).

Таблица 1

Массовая доля ПНЖК у пациентов с КА и в группе контроля

ПНЖК	Пациенты с КА, % Me (25 %; 75 %)	Контрольная группа, % Me (25 %; 75 %)
α -линоленовая (C 18:3, ω -3)	0,9 (0,84; 1,07)	1,82 (0,51; 5,36)
Эйкозапентаеновая (C 20:5, ω -3)	0,45 (0,31; 0,65)*	0,65 (0,52; 0,91)
Докозапентаеновая (C 22:5, ω -3)	0,31 (0,19; 0,41)**	0,51 (0,37; 0,61)
Докозагексаеновая (C 22:6, ω -3)	1,22 (0,87; 1,69)*	2,0 (1,63; 2,24)
Линолевая (C 18:2, ω -6)	24,38 (22,45; 27,88)**	33,68 (30,09; 34,51)
γ -линоленовая (C 18:3, ω -6)	0,3 (0,22; 0,37)	0,29 (0,23; 0,47)
Эйкозодиеновая (C 20:2, ω -6)	0,33 (0,28; 0,4)**	0,53 (0,4; 0,81)
Эйкозатриеновая (C 20:3, ω -6)	1,22 (1,02; 1,47)	1,27 (1,09; 1,63)
Арахидоновая (C 20:4, ω -6)	3,29 (2,38; 4,84)**	5,8 (4,2; 7,36)

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой.

При изучении биомаркеров воспаления и оксидативного стресса у пациентов с КА, как и ожидалось, обнаружено повышение показателя FORT в 1,2 раза (2,27 (1,64; 2,76); $p < 0,05$) и снижение показателя FORD — в 1,8 раза (0,59 (0,25; 0,8); $p < 0,01$). Уровень Лп-ФЛА2 у мужчин с КА оказался выше в 1,5 раза в сравнении с контрольной группой (109,9 (66,58; 188,27); $p < 0,05$). Этот фермент принимает непосредственное участие в атерогенезе, окисляя

свободные ЖК, вызывает модификацию липидов и стимулирует развитие воспаления [3]. Уровень продуктов ПОЛ в ЛНП после 30 мин их инкубации *in vitro* с катализаторами окисления повысился в 1,3 раза (21,7 (14,65; 30,29); $p < 0,01$) в группе мужчин с КА. Аналогичные данные были нами получены в ранее проведенных исследованиях [5].

При проведении корреляционного анализа были установлены отрицательные связи средней силы всех ПНЖК и показателями FORT ($r < -0,31$; $p < 0,01$), а также с большинством ПНЖК с ЛП-ФЛА2 ($r < -0,22$; $p < 0,05$).

Заключение. Таким образом, при КА наблюдаются выраженные потенциально атерогенные изменения в крови спектра ПНЖК, а именно сниженное содержание ω -3 ПНЖК (докозапентаеновой, докозагексаеновой и эйкозапентаеновой) и ω -6 ПНЖК (арахидоновой, эйкозодиеновой и линолевой), ассоциированные с показателями окислительно-антиоксидантного дисбаланса крови и повышенной концентрацией окислительно-воспалительного биомаркера – ЛП-ФЛА2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Осипенко А.Н., Акулич Н.В., Клишевич Ф.Н. Жирные кислоты крови и их взаимосвязи при атеросклерозе. Таврический мед.-биол. вестник. 2012; 15(3): 197–199.
2. Гелесханова Ю.Н. Липопротеин-ассоциированная фосфолипаза А2 (ЛП-ФЛА2): роль в развитии сосудистых осложнений атеросклероза и возможности терапевтической коррекции. Вестник КРСУ. 2015; 15(7): 48–53.
3. Colley K.J., Wolfert R.L., Cobble M.E. Липопротеин-ассоциированная фосфолипаза а2: роль в развитии атеросклероза и пригодность для использования в качестве биомаркера риска сердечнососудистых заболеваний. АиД. 2011; 3: 30–39.
4. Stocker R., Keaney J.F. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol. Rev.* 2004; 84: 1381–1478.
5. Полонская Я.В., Каишанова Е.В., Мурашев И.С., Кургузов А.В., Волков А.М., Каменская О.В., Чернявский А.М., Рагино Ю.И. Взаимосвязь основных показателей кальциевого и липидного обмена с атеросклерозом коронарных артерий. Атеросклероз и дислипидемии. 2015; 1: 24–29.

МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА И ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА

ВЛИЯНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ СОСТАВА МИКРОФЛОРЫ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ НА РАЗВИТИЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА В УСЛОВИЯХ ПОСТОЯННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ ГЕНОТОКСИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ

Е.Д. Баранова, В.Г. Дружинин

Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Россия

Аннотация

Некоторые представители микрофлоры способны повреждать ДНК клеток хозяина с помощью продукции генотоксинов и бактериальных метаболитов. Также имеются сведения о способности бактерий блокировать механизмы репарации ДНК. Логично предположить, что возможная взаимосвязь статуса микробиома человека с мутагенными и канцерогенными эффектами способна наиболее ярко проявиться в условиях выраженной (профессиональной) экспозиции экологическими токсикантами. В рамках начатого исследования впервые будет дана оценка взаимосвязи повреждений хромосом, в лимфоцитах крови и буккальных эпителиоцитах вследствие влияния генотоксических факторов угледобывающей промышленности, с учетом состава микрофлоры орофарингеальной зоны и мокроты в когортах шахтеров с пневмокониозами и у больных плоскоклеточным раком легкого.

Ключевые слова: микрофлора, канцерогенез, мутагенез, генотоксичность.

INFLUENCE OF FEATURES OF THE COMPOSITION OF THE MICROFLORA OF THE UPPER RESPIRATORY TRACT ON THE DEVELOPMENT OF OCCUPATIONAL DISEASES OF THE RESPIRATORY TRACT UNDER CONDITIONS OF PERMANENT EXPOSURE TO GENOTOXIC FACTORS

E.D. Baranova, V.G. Druzhinin

Kemerovo state University, Kemerovo, Russia

Abstract

Some representatives of microflora are capable of damaging the DNA of host cells with the production of genotoxins and bacterial metabolites. There is also information about the ability of bacteria to block the mechanisms of DNA repair. It is logical to assume that the possible relationship between the status of a human microbiome with mutagenic and carcinogenic effects is most clearly manifested in conditions of pronounced (professional) exposure to environmental toxicants. For the first time, an assessment will be made of the relationship between chromosome damage, blood lymphocytes and buccal epithelial cells, due to genotoxic factors coal mining industry, taking into account the composition of the microflora of the oropharyngeal zone and sputum, in cohorts of miners with pneumoconiosis and in patients with squamous cell lung cancer.

Keywords: microflora, mutagenesis, carcinogenesis.

Актуальность. Бактериальная микрофлора, населяющая наш организм, составляет сложнейшее сообщество микроорганизмов, называемое микробиотой. Влияние метаболитов бактерий нормальной микрофлоры на состояние здоровья и поддержание функций жизне-

деятельности человека ещё в начале двадцатого века привлекало внимание ученых, в том числе И.И. Мечникова. Последующие развитие этих идей и применение знаний о составе «здоровой» кишечной микрофлоры человека привело к созданию культур бактерий для производства лекарственных препаратов, широко применяемых и известных нам как пробиотики. Удивительно, но до настоящего времени без должного внимания остается изучение влияния бактериальных метаболитов на организм хозяина. Даже биохимические процессы, проходящие в организме человека, принято в настоящее время рассматривать без участия микробиома. Тем не менее интерес к изучению влияния бактериальных сообществ на организм человека растет благодаря новым данным о его роли в процессах мутагенеза и канцерогенеза.

Материал и методы. Некоторые представители микрофлоры способны повреждать ДНК клеток хозяина с помощью продукции генотоксинов – активных форм кислорода и реактивного азота [1]. На данный момент известны три бактериальных генотоксина, способных индуцировать мутации в клетках хозяина. Генотоксин, продуцируемый штаммами *Escherichia Coli* – колибактин [2], цитотолетальный растягивающий токсин (CDT), производимый *Bacteroides Fragilis* [3], и тифозный токсин, продуцируемый *Salmonella enterica serovar paratyphi*. Последние два являются белками и имеют одинаковую активную субъединицу (cdtB), обладающую активностью ДНКазы. Помимо генотоксинов на повреждения ДНК могут оказывать влияние метаболиты бактерий; среди наиболее изученных канцерогенных метаболитов микробиома кишечника являются ацетальдегид, супероксидные радикалы, сероводород и вторичные желчные кислоты, производимые *Bacteroides vulgatus*, *Eubacterium spp.*, *Ruminococcus spp.*, *Streptococcus hansenii*, *Bifidobacterium spp.*, *Faecalibacterium prausnitzii*. Из вышеперечисленных метаболитов к двунитиевым разрывам ДНК и последующей геномной нестабильности могут привести сероводород и супероксидные радикалы (производимые *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium delta proteobacteria*). Также имеются сведения о способности бактерий блокировать механизмы репарации ДНК [4].

На основе этих данных можно предположить, что процессы индуцированного мутагенеза и канцерогенеза тесно взаимосвязаны с состоянием микробиома. Интересно, что до сих пор проверка этой очевидной гипотезы практически не стала предметом системного анализа в генетической токсикологии.

Исходя из необходимости изучения данной проблемы, логично предположить, что возможная взаимосвязь статуса микробиома человека с мутагенными и канцерогенными эффектами способна наиболее ярко проявиться в условиях выраженной (профессиональной) экспозиции экологическими токсикантами. В ряду промышленных предприятий, относящихся к разряду опасных по параметрам загрязнения окружающей среды мутагенами и канцерогенами, особая роль отводится производствам угольного цикла (добыча и переработка). В производственных циклах и отходах этих предприятий выделяется целый комплекс генотоксических факторов, которые при воздействии на людей, обладающих высокочувствительным геномом, приводит к увеличению общей и онкологической заболеваемости в контингентах работников угольной индустрии. В этих условиях маркерами повышенной индивидуальной чувствительности к действию генотоксических агентов и показателем повышенного канцерогенного риска, с одной стороны, может служить накопление хромосомных aberrаций и микроядер в соматических клетках [5]. С другой стороны, генетически предопределенная специфическая активность генома человека в экспрессии ферментов биотрансформации ксенобиотиков, репарации ДНК, контроля апоптоза и клеточного цикла и др., т.е. систем защиты генома от повреждений, также способна значимо влиять на чувствительность организма человека к воздействию генотоксических канцерогенов. Кроме того, важную информацию об индивидуальной чувствительности к условиям канцерогеноопасного производства может дать анализ экспрессии комплекса генов, обеспечивающих стабильность генома. Наконец, свой вклад в определение стабильности генома, поддержание генетического гомеостаза в условиях экспозиции комплексом негативных факторов угледобывающего производства (согласно предложенной гипотезе) должны вносить количественные и качественные особенности микробиома респираторного тракта.

Результаты. В представленном докладе обсуждаются теоретические предпосылки для выполнения пилотного проекта по изучению состава микрофлоры респираторных путей у жителей шахтерского региона. В рамках начатого исследования впервые будет дана оценка взаимосвязи повреждений хромосом, в лимфоцитах крови и буккальных эпителиоцитах, вследствие влияния генотоксических факторов угледобывающей промышленности, с учетом состава микрофлоры орофарингеальной зоны и мокроты, в когортах шахтеров с пневмокониозами и у больных плоскоклеточным раком легкого.

ЛИТЕРАТУРА

1. Frisan T. Bacterial genotoxins: the long journey to the nucleus of mammalian cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 2016; 1858(3): 567–575.
2. Cuevas-Ramos G., Petit C.R., Marcq L., Boury M., Oswald E., Nougayrède J.P. Escherichia coli induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Jun 22; 107(25): 1153742. doi: 10.1073/pnas.1001261107.
3. Guidi R., Guerra L., Levi L., Stenerlöv B., Fox J.G., Josenhans C., Masucci M.G., Frisan T. Chronic exposure to the cytolethal distending toxins of Gram-negative bacteria promotes genomic instability and altered DNA damage response. *Cell Microbiol.* 2013; 15(1): 98–113.
4. Fall S., Mercier A., Bertolla F., Calteau A., Gueguen L., Perrière G., Vogel T.M., Simonet P. Horizontal gene transfer regulation in acteria as a «spandrel» of DNA repair mechanisms. *PLoS ONE.* 2007; 2(10): 1055.
5. Milic M., Frustaci A., Del Bufalo A., Sánchez-Alarcón J., Valencia-Quintana R., Russo P., Bonassi S. DNA damage in non-communicable diseases: A clinical and epidemiological perspective. *Mutat Res.* 2015 Jun; 776: 11827. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2014.11.009.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ CNVS У ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЯМИ УМСТВЕННОГО РАЗВИТИЯ

Е.О. Беляева, А.А. Кашеварова, Н.А. Скрябин

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Высокая распространенность и медико-социальная значимость нарушений умственного развития определяют актуальность их исследований, особенно с точки зрения выявления этиологических факторов. В настоящее время вариации числа копий участков ДНК рассматриваются как одна из ведущих причин интеллектуальной недостаточности. Идентификация клинически значимых CNVs у пациентов с умственной отсталостью является важной научной и практической задачей. Нами обследовано 208 пациентов с нарушениями умственного развития методом матричной сравнительной геномной гибридизации (aCGH, 8×60K, Agilent Technologies). В результате у 73 пациентов (35 %) выявлены патогенетически значимые CNVs. Среди данной группы 27 пациентов (13 %) оказались носителями хромосомных микроделетий, а 37 пациентов (17,7 %) имели микродупликации, еще у 9 индивидов были выявлены сочетания различных типов CNV (4,3 %). Своевременная молекулярно-цитогенетическая диагностика и выявление причины заболевания обеспечивают качественное медико-генетическое консультирование семей и эффективную помощь больным детям.

Ключевые слова: нарушения умственного развития, вариации числа копий участков ДНК, хромосомные микроделетии и микродупликации, матричная сравнительная геномная гибридизация.

IDENTIFICATION AND PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF CNVS IN PATIENTS WITH DISABILITIES OF MENTAL DEVELOPMENT

Е.О. Belyaeva, A.A. Kashevarova, N.A. Scriabin

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

High prevalence and medico-social significance of mental development disorders determine the relevance of their research, especially in terms of identifying etiological factors. At present, copy number variations of DNA sites are considered as one of the leading causes of intellectual deficiency. The identification of clinically significant CNVs in patients with mental retardation is an important scientific and practical task. We examined 208 patients with intellectual disabilities using the method of matrix comparative genomic hybridization (aCGH, 8×60K, Agilent Technologies). As a result, 73 patients (35 %) had pathogenetically significant CNVs. Among this group, 27 patients (13 %) were carriers of chromosomal microdeletions, and 37 patients (17.7 %) had microduplications, another 9 individuals had combinations of different types of CNV (4.3 %). Timely molecular-cytogenetic diagnosis and detection of the cause of the disease ensure high-quality medical and genetic counseling for families and effective care for sick children.

Keywords: disabilities of mental development, copy number variation, chromosomal microdeletions and microduplications, array-CGH.

Актуальность. Исследованиями последних лет показано, что в среднем 10–15 % пациентов с нарушениями умственного развития имеют патогенетически значимые вариации числа копий участков ДНК (copy number variation, CNV). CNV – это фрагмент ДНК размером более одной тысячи пар нуклеотидов, по числу копий отличающийся от референсного генома [1]. Широкое использование в клинической практике высокоразрешающих технологий (методов матричной сравнительной геномной гибридизации (aCGH), секвенирования нового поколения (NGS)) привело к более точному обнаружению мелких CNV по всему геному и появлению новых синдромов, связанных с субмикроскопическими хромосомными абберациями, имеющими размер до 5 мегабаз (синдромы микроделеций и микродупликаций). Так, у пациентов с умственной отсталостью и нарушениями развития описано порядка 230 микроделеционных и 80 микродупликационных синдромов, и этот список далек от завершения [2]. Несмотря на то, что для многих микроструктурных перестроек показана связь с известными синдромами, большая их часть является редкими и представлены единичными наблюдениями. Изучение генетических причин путем идентификации клинически значимых CNVs у пациентов с нарушениями умственного развития является актуальной научной и практической задачей, поскольку ранняя диагностика и точная интерпретация обнаруженных нарушений важны для оказания своевременной медицинской помощи пациентам.

Материал и методы. Обследовано 208 пациентов в возрасте от 2 до 18 лет: дети, страдающие нарушениями умственного развития, с уровнем IQ 50–70 и имеющие дисморфии и/или врожденные аномалии. Поиск микроструктурных хромосомных аббераций осуществлялся методом матричной сравнительной геномной гибридизации (array CGH) с помощью микрочипов Human Genome CGH SurePrintG3 HumanCGH 8×60K (Agilent Technologies, США), согласно рекомендациям производителя чипов [3]. Результаты были визуализированы в программе Cytogenomics (v3.0.2.11) (Agilent Technologies, США). Интерпретация клинической значимости вариаций числа копий участков ДНК проводилась с использованием Базы данных геномных вариантов (DGV) и онлайн версии Каталога наследственных болезней «Менделевское наследование у человека» (OMIM).

Результаты. В результате проведенного молекулярно-цитогенетического исследования выборки пациентов (рис. 1), включающей 208 человек, у 73 индивидов (35 %) не выявлены вариации числа копий участков ДНК (CNVs). У 62 (30 %) пациентов зарегистрированы варианты, относящиеся к категории полиморфных. У 73 пациентов (35 %) исследуемой группы нами установлен широкий спектр патогенных и потенциально патогенных CNVs, не выявленных при стандартном цитогенетическом кариотипировании. Среди данной группы 9 человек имели сочетания различных типов CNV (4,3 %). У 64 детей, имеющих патогенные и потенциально патогенные CNVs, идентифицировано 30 делеций и 41 дупликация. Из них 7 человек являлись носителями двух однонаправленных изменений копийности генов (3 – делеций и 4 пациента имели по две дупликации). Обнаруженные патогенетически значимые делеции у 27 пациентов и дупликации у 37 пациентов обусловили частоту встречаемости данных типов CNVs в общей группе больных с нарушениями умственного развития, равную 13 % и 17,7 % соответственно.

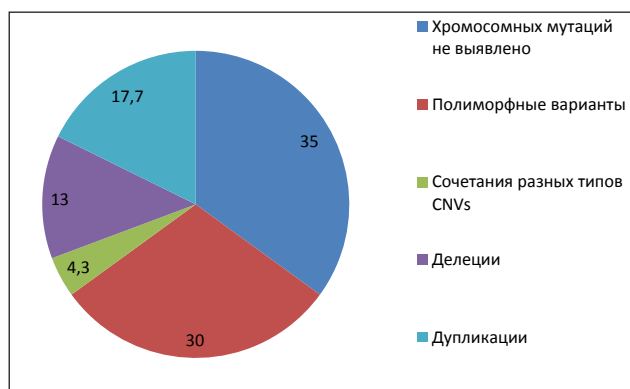


Рис.1 Варианты и частоты CNVs, обнаруженные у пациентов с интеллектуальными нарушениями, согласно результатам aCGH

Клиническое значение вариаций числа копий ДНК определялось комплексной оценкой совокупности параметров, таких как: размер перестройки, происхождение, количество и статус генов внутри аберрации, имеющих отношение к умственному развитию. В случаях сочетаний различных типов CNVs у одного больного вклад определенной вариации в формирование аномального фенотипа сложно оценить, поскольку их влияние может быть сочетанным либо обусловлено модифицирующим или кумулятивным эффектом.

Выводы. Нами определена частота клинически значимых хромосомных микроделений и микродупликаций в выборке пациентов с нарушениями умственного развития, составившая 13 % и 17,7 % соответственно. Нельзя не отметить важность своевременной молекулярно-цитогенетической диагностики и идентификации причины заболевания, которые обеспечивают качественное медико-генетическое консультирование семей и эффективную помощь больным детям.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, грант № 16-15-10229.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kearney H.M., Thorland E.C., Brown K.K., Quintero-Rivera F., South S.T.; Working Group of the American College of Medical Genetics Laboratory Quality Assurance Committee. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. Genet. Med. 2011; 13(7): 680685. doi: 10.1097/GIM.0b013e3182217a3a.

2. Каширарева А.А., Лебедев И.Н. Геномная архитектура хромосомных болезней человека. Генетика. 2016; 52(5): 511528.

3. Протокол CGH для микрочипов Agilent Technologies [Internet]. URL: http://www.chem-agilent.com/pdf/G4410-90020-v3_1_CGH_ULS_Protocol.pdf (дата обращения: 1.05.2018.)

ПОЛНОЭКЗОМНЫЙ АНАЛИЗ СВЯЗИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ У ИНДИВИДОВ С ВЫСОКИМИ И НИЗКИМИ КОГНИТИВНЫМИ СПОСОБНОСТЯМИ

К.В. Вагайцева, А.А. Зарубин, О.А. Макеева, В.А. Степанов

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В последние годы анализ полногеномных и полноэкзомных данных с целью выявления новых генетических маркеров многофакторных признаков набирает популярность. Тем не менее широко распространенный вариант анализа полученных данных в формате полноэкзомного или полногеномного ассоциативного исследования объясняет лишь часть генетической вариативности анализируемых признаков. В данной статье представлены результаты анализа взвешенной сети корреляций генотипов, проведенного с целью выявления групп полиморфных вариантов генов, входящих в биологические процессы, которые могут оказывать влияние на когнитивные способности.

Ключевые слова: когнитивные способности, генетические маркеры, экзом.

WHOLE EXOME ANALYSIS OF THE CORRELATION BETWEEN GENETIC VARIANTS IN INDIVIDUALS WITH HIGH AND LOW COGNITIVE ABILITIES

K.V. Vagaytseva, A.A. Zarubin, O.A. Makeeva, V.A. Stepanov

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, Tomsk, Russia

Abstract

Analysis of whole genome sequencing or exome sequencing data to identify new genetic markers of multifactorial traits is gaining popularity in recent years. Nevertheless, a widespread version of the analysis

of the data obtained in the format of a whole genome or exome-wide association study explain only a limited part of the genetic variability of the traits. This article presents the results of a scale-free weighted genetic interaction network method conducted to identify biological pathways associated with the level of cognitive abilities.

Keywords: cognitive abilities, genetic markers, exome.

Поиск генетических основ вариабельности когнитивных функций у людей пожилого возраста в норме и у пациентов с распространенными деменциями является актуальной задачей в связи с высоким уровнем наследуемости когнитивных способностей (КС) и их высокой социальной значимостью. Накопление данных о генетических маркерах, вносящих вклад в вариабельность когнитивных процессов в норме и патологии, позволит расширить представления о биологических механизмах снижения когнитивных способностей с возрастом и послужит фундаментом для разработки новых методов диагностики и лечения деменции.

В данной работе представлены результаты поиска связанных полиморфных вариантов генов, характерных для индивидов с высокими и низкими когнитивными способностями, и их функционального анализа. Анализ проводился с использованием данных полноэкзомного секвенирования выборки пожилых людей из русской популяции города Томска, здоровых в отношении неврологической и нейродегенеративной патологии, с высокими и низкими показателями когнитивных функций (согласно монреальской шкале оценки когнитивных функций). Объем общей выборки составил 82 образца, 44 образца в выборке с высокими и 38 в выборке с низкими когнитивными способностями.

Полученные данные были обработаны в статистической среде R с помощью пакета WGCNA [1]. Для каждой выборки была построена сеть корреляций генотипов полиморфных вариантов генов и рассчитаны матрицы корреляций между кластерами в разных сетях. Для выявления кластеров коррелирующих генотипов, различающихся в выборках с высокими и низкими КС, с помощью теста Фишера был рассчитан уровень значимости пересечения кластеров. Для анализа были отобраны те кластеры, которые не имели значимых пересечений ни с одним из кластеров альтернативной группы. Таким образом, были выявлены 7 модулей, характерных для высоких КС, и 5 для низких КС. Списки генов, маркеры которых попали в сформированные кластеры, были проанализированы на сверхпредставленность функциональных групп (overrepresentation enrichment analysis). Анализ проводился с помощью веб-ресурса WebGestalt [2, 3], с использованием базы данных Gene Ontology. В качестве референсного списка генов использовали белок-кодирующую часть генома человека (genome_protein-coding). Уровни статистической значимости были скорректированы с использованием поправки на множественность сравнений Бенджамини – Хохберга.

Из 7 кластеров, выявленных в выборке с высокими когнитивными способностями, 4 показали значимую вовлеченность в ряд биологических процессов. Два самых многочисленных кластера вовлечены в такие процессы, как биологическая адгезия, организация цитоскелета, развитие и организация нервной системы, нейритов и нейронов, в частности, ионный трансмембранный транспорт (Ca, Na), регуляция ГТФазной активности (табл. 1). Только один из пяти кластеров, характерных для низких КС, показал значимое участие в биологических процессах (табл. 1). Наибольший уровень значимости был показан для генов, вовлеченных в биологическую адгезию ($p=4,19 \cdot 10^{-9}$). Стоит отметить, что только для некоторых генов, входящих в состав кластеров, показана ассоциация с КС. Очевидное влияние показанных биологических процессов на когнитивные способности и полученный уровень статистической значимости позволяют предположить, что гены, выявленные с помощью данного подхода, являются кандидатами для более детального рассмотрения в работах, посвященных анализу генетической вариабельности когнитивных функций

Таблица 1

Биологические процессы, выявленные для кластеров, характерных для выборок с высокими и низкими когнитивными способностями

Кл-р ¹	Биологический процесс	Количество генов ²	p ³
Высокие когнитивные способности			
1	Обнаружение химических стимулов, связанных с восприятием запаха	7	0,0017
2	Метаболизм цистеина	3	0,0012
	Клеточная адгезия	240	0,000087
	Морфогенез клеточной компоненты	146	0,0008
	Организация клетки	184	0,0002
	Развитие и организация нейритов и нейронов	119–136	0,007
	Организация актинового цитоскелета	96	0,0002
3	Визуально опосредованный транспорт	203	0,0002
	Экзоцитоз тромбоцитов	27	0,0002
	Трансмембранный транспорт ионов кальция	52	0,0002
	Позитивная регуляция ГТФазной активности	107	0,00009
	Процессинг О-гликанов	17	0,009
	Негативная регуляция заживления ран	18	0,007
	Метаболизм гуанозина	96	0,007
	Биологическая адгезия	218	0,001
	Организация цитоскелета	147	0,04
	Регуляция ГТФазной активности	94	0,05
	Транспорт ионов натрия	38	0,04
4	Развитие ЦНС	118	0,05
	Когниция, обучение, память	45	0,03
	Движение клеточных компонентов или клетки	229	0,001
	Ответ на сторонние стимулы	242	0,02
	Хемосенсорное поведение	8	0,04
Низкие когнитивные способности			
	Биологическая адгезия	246	4,19*10⁻⁹
	Организация межклеточного матрикса	63	0,0001
1	Дифференциация нейронов	39	0,006
	Позитивная регуляция ГТФазной активности	92	0,02
	Негативная регуляция развития НС	47	0,02

Примечание: 1 – кластеры коррелирующих генотипов полиморфных вариантов генов, 2 – количество генов из кластера вовлеченных в данный биологический процесс, 3 – уровень статистической значимости с учетом поправки Бенджамини – Хохберга, жирным выделены значения меньше порога 0,001.

ЛИТЕРАТУРА

1. Langfelder P., Horvath S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. BMC Bioinformatics. 2008 Dec 29; 9: 559. doi: 10.1186/1471-2105-9-559.
2. Zhang B., Kirov S., Snoddy J. WebGestalt: an integrated system for exploring gene sets in various biological contexts. Nucleic Acids Res. 2005 Jul 1; 33(Web Server issue): W741-8. doi: 10.1093/nar/gki475.
3. Wang J., Duncan D., Shi Z., Zhang B. WEB-based GEne SeT AnaLysis Toolkit (WebGestalt): update 2013. Nucleic Acids Res. 2013 Jul; 41(Web Server issue): W77-83. doi: 10.1093/nar/gkt439.

ВЫЯВЛЕНИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ COL1A1 И COL1A2 С ПОМОЩЬЮ ТАРГЕТНОГО МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

О.Ю. Васильева, С.А. Васильев, Л.П. Назаренко, И.Н. Лебедев, Н.А. Скрябин

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Молекулярная диагностика несовершенного остеогенеза затруднена в связи с большим размером генов COL1A1 и COL1A2 и отсутствием часто встречающихся мутаций в этих генах. С целью улучшения эффективности диагностики был разработан метод таргетного массового параллельного секвенирования для выявления мутаций в генах COL1A1 и COL1A2. С помощью данного метода были выявлены мутации в гене COL1A2 у троих больных с диагнозом несовершенный остеогенез I типа.

Ключевые слова: несовершенный остеогенез, массовое параллельное секвенирование.

IDENTIFICATION OF MUTATIONS IN COL1A1 AND COL1A2 GENES BY TARGETED MASSIVE PARALLEL SEQUENCING

O.Yu. Vasilyeva, S.A. Vasilyev, L.P. Nazarenko, I.N. Lebedev, N.A. Skryabin

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Molecular diagnostics of osteogenesis imperfecta is difficult due to the lack of frequent mutations. In this regard, a method of targeted massive parallel sequencing was developed to detect mutations in COL1A1 and COL1A2 genes. Using this method, mutations in COL1A2 gene in three patients with a diagnosis of osteogenesis imperfecta of type I were revealed.

Keywords: osteogenesis imperfecta, massive parallel sequencing.

Актуальность. Несовершенный остеогенез является редким наследственным моногенным заболеванием соединительной ткани. Частота проявления несовершенного остеогенеза составляет от 6 до 7 на 100 000 человек по всему миру [1]. Клиника заболевания включает широкий спектр скелетных и экстраскелетных симптомов [2]. К несовершенному остеогенезу в 85 % случаев приводят мутации с аутосомно-доминантным типом наследования в одном из двух генов (COL1A1, COL1A2), кодирующих коллаген I типа [3]. При этом частых мутаций не обнаруживается, в связи с чем молекулярная диагностика этого заболевания затруднена и требует секвенирования всех экзонов генов COL1A1, COL1A2.

Учитывая большое число экзонов в генах COL1A1 и COL1A2 (по 52 экзона), поиск мутаций в них с помощью классического секвенирования по Сэнгеру связан с большими трудозатратами. Альтернативой является массовое параллельное секвенирование с помощью коммерчески доступных панелей, включающих гены множества различных наследственных заболеваний опорно-двигательной системы, которое также экономически невыгодно. В связи с этим нами был разработан метод таргетного массового параллельного секвенирования для выявления мутаций в генах COL1A1 и COL1A2.

Материал и методы. В основе предполагаемого подхода лежит обогащение образцов с помощью ПЦР (приготовление ДНК-библиотек) с последующим массовым параллельным секвенированием и обработкой полученных данных. Для данного подхода отсутствие частых мутаций не является ограничением, поскольку анализируется вся последовательность экзонов и интронов генов COL1A1 и COL1A2.

Результаты. С помощью разработанного метода были проанализированы образцы ДНК от трех больных с диагнозом несовершенный остеогенез I типа. У двоих из них, дочери и матери, была обнаружена замена G1000A в гене COL1A2. Данная миссенс-мутация приводит к замене Gly244Ser в белке коллагена I типа. Мутация была подтверждена с помощью секвенирования по Сэнгеру. По данным базы данных генетических вариантов, при несовершенном остеогенезе (Osteogenesis Imperfecta Variant Database, <https://oi.gene.le.ac.uk>) такая же мутация была обнаружена лишь у 3 больных по всему миру (двое из них с несовершенным остеогенезом IV типа и один – с несовершенным остеогенезом I типа).

В другой семье у пробанда с несовершенным остеогенезом I типа была выявлена *de novo* мутация G856A в гене COL1A2, приводящая к замене Gly196Ser в коллагене I типа. Присутствие мутации также было подтверждено с помощью секвенирования по Сэнгеру. По данным базы данных генетических вариантов, при несовершенном остеогенезе в мире такая же мутация обнаружена лишь у 1 больного (при несовершенном остеогенезе I типа).

Выводы. Таким образом, разработанный метод таргетного массового параллельного секвенирования позволяет надежно выявлять мутации в генах *COL1A1* и *COL1A2*, менее трудозатратен и более экономически выгоден по сравнению с используемыми в настоящее время методами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Викторова И.А., Кониш Н.В., Иванова Д.С. Несовершенный остеогенез: полиморфизм клинических проявлений и тактика лечения. Архив внутренней медицины. 2015; 2(22): 6973.
2. Byers P.H., Wallis G.A., Willing M.C. Osteogenesis imperfecta: translation of mutation to phenotype. J. Med. Genet. 1991; 28(7): 433-442. doi:10.1136/jmg.28.7.433.
3. Marini J.C., Forlino A., Bächinger H.P., Bishop N.J., Byers P.H., Paeppe A., Fassier F., Fratzl-Zelman N., Kozloff K.M., Krakow D., Montpetit K., Semler O. Osteogenesis imperfecta. Nat. Rev. Dis. Primers. 2017; 3: 17052. doi:10.1038/nrdp.2017.52.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *IL10* (RS1800872) И *TNF* (RS2239704), АССОЦИИРОВАННЫХ С РАЗВИТИЕМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И ТУБЕРКУЛЕЗА

И.Ж. Жалсанова¹, Е.Ю. Брагина¹, М.Б. Фрейдин¹, Н.П. Бабушкина¹,
А.Ф. Гараева¹, О.В. Колоколова², Н.В. Тарасенко^{1,2}, Д.Е. Гомбоева¹,
В.П. Пузырев^{1,2}

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия²

Аннотация

Изучены 10 однонуклеотидных полиморфных вариантов генов *IL10* (rs1800872), *IL1B* (rs16944), *IL8* (rs4073), *TNFRSF1B* (rs525891), *TNF* (rs1800629; rs2239704), *CXCL10* (rs56061981; rs4386624), *IL6* (rs2069832), *CD4* (rs7296859) у 715 человек, включая 314 больных туберкулезом, 121 больного бронхиальной астмой и 280 здоровых индивидов. Полиморфные варианты генов *IL10* (rs1800872) и *TNF* (rs2239704) ассоциированы с развитием БА и ТБ. Установлена контекст-зависимая экспрессия генов *IL10* и *TNF* в культурах мононуклеарных клеток периферической крови. Так, экспрессия гена *IL10* значительно увеличивалась при стимуляции микробным продуктом LPS (100 нг/мл, $p=0,0001$) по сравнению с нестимулированными клетками. Введение в культуру LPS (100 нг/мл), IFN- γ (100 нг/мл), а также комбинации стимуляторов IFN- γ (100 нг/мл) + IL-4 (20 нг/мл) ($p=0,0000$) способствовало значительному увеличению экспрессии гена *TNF*. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о вовлеченности общих механизмов в патогенез изучаемых заболеваний, однако для большего понимания механизма редкого сочетания болезней требуются дальнейшие исследования.

Ключевые слова: коморбидность, дистрофия, астма, туберкулез, гены, полиморфизм.

FUNCTIONAL FEATURES *IL10* (RS1800872) AND *TNF* (RS2239704) GENES VARIANTS, ASSOCIATED WITH THE DEVELOPMENT OF BRONCHIAL ASTHMA AND TUBERCULOSIS

I.Zh. Zhalsanova¹, E.Yu. Bragina¹, M.B. Freidin¹, N.P. Babushkina¹,
A.F. Garaeva¹, O.V. Kolokolova², N.V. Tarasenko^{1,2}, D.E. Gomboeva¹,
V.P. Puzyrev^{1,2}

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, Tomsk, Russia¹
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

Abstract

We have studied 10 single nucleotide polymorphic variants of the genes *IL10* (rs1800872), *IL1B* (rs16944), *IL8* (rs4073), *TNFRSF1B* (rs525891), *TNF* (rs1800629; rs2239704), *CXCL10* (rs56061981; rs4386624), *IL6* (rs2069832), *CD4* (rs7296859) in 715 people, including 314 patients with tuberculosis, 121 patients with bronchial asthma and 280 healthy individuals. Polymorphic variants of the genes *IL10* (rs1800872) and *TNF* (rs2239704) are associated with BA and TB. We established the context-dependent expression of *IL10* and *TNF* genes in cultures of peripheral blood mononuclear cells. *IL10* gene expression was significantly increased after stimulation with LPS (100 ng/ml, $p=0.0001$), compared to non-stimulated cells. Introduction to the culture of LPS (100 ng/ml), IFN- γ (100 ng/ml) and a combination of IFN- γ stimulants (100 ng/ml) + IL-4 (20 ng/ml) ($p=0.0000$), significantly increased the *TNF* gene expression. Thus, the obtained data indicate the involvement of general mechanisms in the pathogenesis of both diseases, but we need further research to understand the mechanism of a rare combination of diseases better.

Keywords: comorbidity, dystrophy, asthma, tuberculosis, gene, polymorphism.

Введение. Гено-фенотипическая характеристика синтропных болезней (сочетания двух и более патологических состояний у индивида, имеющие эволюционно-генетическую основу [1]) и дистропных болезней (клинически полярных фенотипов, исключительно редко сочетающихся у одного индивида [2]), может быть использована как продуктивный подход к идентификации генетических маркеров многофакторных болезней человека.

Дистропные или взаимоисключающие отношения между заболеваниями подразумевают редкое сочетание болезней, в отличие от коморбидных, они не так часто встречаются в популяциях человека. Различные факторы могут участвовать в подавлении одного заболевания в контексте развития другого, среди которых важная роль отводится так называемым дистропным генам [3]. Предполагается, что «общие» гены могут иметь решающее значение во взаимоисключающих отношениях между болезнями [4].

Согласно эпидемиологическим данным, одним из примеров дистропии является редкое сочетание бронхиальной астмы (БА) и туберкулеза легких (ТБ) [5,6]. В основе крайне редкого сочетания этих болезней могут лежать полярные механизмы иммунного ответа на аллерген (посредством Th2-хелперов) и внутриклеточную бактерию (посредством Th1-хелперов).

Цель исследования – изучить ассоциации полиморфных вариантов генов *IL10* (rs1800872), *IL1B* (rs16944), *IL8* (rs4073), *TNFRSF1B* (rs525891), *TNF* (rs1800629; rs2239704), *CXCL10* (rs56061981; rs4386624), *IL6* (rs2069832), *CD4* (rs7296859) в развитии БА и ТБ и оценить функциональную значимость полученных ассоциаций.

Материал и методы. В исследование включены наиболее важные гены, продукты которых могут быть задействованы в развитии как аллергического, так и инфекционного заболевания. Выбор SNP осуществлен на основании данных об их регуляторных функциях и распространенности в европейских популяциях с частотой более 5 %. Генотипирование выполнено с использованием Real-time PCR, HRM- ПЦР-ПДРФ анализа в группах пациентов с ТБ ($n=314$), БА ($n=121$) и здоровых индивидов ($n=280$). В работе использован банк ДНК пациентов НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Для оценки ассоциаций генетического маркера с заболеванием использовали показатель отношения шансов (Odds Ratio, OR).

Для оценки функциональной значимости ассоциированных с заболеванием SNP использовали мононуклеарные клетки (МК) периферической крови здоровых доноров ($n=50$). Выделение МК осуществляли методом градиентного центрифугирования, которые затем в краткосрочной культуре обрабатывали индукторами микробного и немикробного происхождения, включая (LPS в дозе 100 нг/мл, TDM – 100 нг/мл, IFN- γ – 100 нг/мл и IL-4 – 20 нг/мл).

Экстракцию и очистку мРНК проводили сорбентно-колоночным методом, затем осуществляли синтез кДНК с олиго(dT)₁₈ праймерами. Уровень экспрессии генов в стимулированных и нестимулированных культурах МК оценивали при помощи количественной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) с использованием TaqMan-проб. В работе использовали сравнительный $\Delta\Delta C_q$ метод, при котором уровень экспрессии исследуемых генов вначале нормализовали относительно количества мРНК референсных генов (*GAPDH*, *ACTINB*), а затем уровень экспрессии гена в стимулированных клеточных культурах нормализовали относительно соответствующих показателей из нестимулированных культур (контроль). Статистическую значимость различий уровня экспрессии в исследуемых группах оценивали

с помощью непараметрических критериев с помощью пакета программ STATISTICA10.

Результаты. Установлены ассоциации генов *IL10* (rs1800872) и *TNF* (rs2239704) с развитием БА и ТБ. Частота аллеля rs1800872*А у пациентов с БА (25,2 %) и ТБ (25,2 %) статистически значимо превышала таковую в контрольной выборке (17,7 %), что свидетельствует о повышенном риске развития как БА, так и ТБ у носителей аллеля rs1800872*А (OR=1,55 [1,06–2,27], $p=0,022$ для БА и 1,72 [1,16–2,56], $p=0,008$ для ТБ). Отмечается повышение частоты аллеля rs2239704*С гена *TNF* у пациентов с БА (50,3 %) и ТБ (51,3 %) по сравнению с группой контроля (43,3 %) (OR=1,32 [1,00–1,75], $p=0,039$ для БА и OR = 1,38 [1,09–1,75], $p=0,006$ для ТБ).

Согласно полученным данным, экспрессия генов *IL10* и *TNF* зависит от вида стимулятора, то есть является контекст-зависимой. Так, установлено, что в экспериментальных условиях бактериальный стимул LPS 100 нг/мл ($p=0,0001$) индуцирует синтез мРНК генов *IL10* и *TNF*.

В исследовании выявлена IFN- γ -зависимая (100 нг/мл) гиперэкспрессия гена *TNF* ($p=0,0000$), которая сохранялась при введении в культуру индуктора иммунного ответа IL-4 (20 нг/мл). По-видимому, эти эффекты являются специфичными для гена *TNF*, поскольку значимых различий в экспрессии гена *IL10* в культурах, стимулированных IFN- γ и комбинацией индукторов IFN- γ + IL-4, по сравнению с нестимулированными культурами не наблюдали.

Выводы. Таким образом, установлены ассоциации вариантов генов *IL10* (rs1800872) и *TNF* (rs2239704) с развитием дистропных заболеваний, что свидетельствует о вовлеченности общих механизмов в их развитие. Гиперэкспрессия генов *IL10* и *TNF* при введении в культуру клеток микробного агента (LPS) свидетельствует об их участии в регулировании воспалительного ответа. Воздействие LPS приводит к секреции воспалительных цитокинов и других медиаторов из клеток иммунной системы для регуляции иммунного ответа, необходимого для антибактериальной защиты. Чрезмерная активация генов *IL10* и *TNF* для эффективной защиты против патогенов может привести к аллергическим и аутоиммунным болезням, и, видимо, через этот путь возможно их влияние на развитие дистропных отношений между БА и ТБ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, грант № 15-04-05852.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пузырев В.П. Генетические основы коморбидности у человека. Генетика. 2015; 51(4): 491–502. doi: 10.7868/S0016675815040098.
2. Фрейдин М.Б., Пузырев В.П. Синтропные гены аллергических заболеваний. Генетика. 2010; (46): 255–261.
3. Пузырев В.П. Генетический взгляд на феномен сочетанной патологии человека. Медицинская генетика. 2008; (9): 3–9.
4. Брагина Е.Ю., Фрейдин М.Б. Молекулярно-генетические исследования коморбидности. Бюллетень сибирской медицины. 2015; 14(6): 94102. doi: 10.20538/1682-0363-2015-6-94-102.
5. Яблоков Д.Д. Бронхиальная астма и туберкулез легких. Клинич. Медицина. 1968; 46(12): 2028.
6. Fekih L., Boussoffara L., Jemaa M., Fenniche S., Hassene H., Belhabib D., Megdiche M.L. Tuberculosis in patients with asthma. Rev Mal Respir. 2010; 27(7): 679–684. doi: 10.1016/j.rmr.2010.06.010.

КОМБИНИРОВАННОЕ МОЛЕКУЛЯРНОЕ КАРИОТИПИРОВАНИЕ ТРОФЭКТОДЕРЫ И ВНУТРИПОЛОСТНОЙ ЖИДКОСТИ ИЗ ПОЛОСТИ БЛАСТОЦИСТЫ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ПРОГНОЗА АНЕУПОИДИЙ В ЭМБРИОБЛАСТЕ

**Д.И. Жигалина^{1,2}, Н.А. Скрябин¹, О.Р. Канбекова³, В.Г. Артюхова⁴,
А.В. Светлаков⁴, И.Н. Лебедев¹**

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²
ОГАУЗ «Областной перинатальный центр», г. Томск, Россия³
ООО «Красноярский центр репродуктивной медицины», г. Красноярск, Россия⁴

Аннотация

Целью исследования является оценка возможности определения наличия или отсутствия анеуплоидий в эмбриобласте с помощью сравнительного молекулярного кариотипирования геномной ДНК из внутриполостной жидкости бластоцисты и клеток трофэктодермы. Методами CGH, aCGH и NGS была проанализирована 31 бластоциста человека. Детекция анеуплоидий как в трофэктодерме, так и во внутриполостной жидкости высоковероятно (11/12; 91,7 %) указывает на наличие одной или нескольких хромосомных aberrаций в эмбриобласте.

Ключевые слова: внеклеточная ДНК, внутриполостная жидкость бластоцисты, эмбриобласт, трофэктодерма, хромосомный мозаицизм.

COMBINED MOLECULAR KARYOTYPING OF TROPHOECTODERM AND BLASTOCOEL FLUID FROM THE HUMAN BLASTOCYST FOR THE PREDICTION OF ANEUPLOIDY IN THE EMBRYOBLAST

D.I. Zhigalina^{1,2}, N.A. Skryabin¹, O.R. Kanbekova³, V.G. Artyukhova⁴,
A.V. Svetlakov⁴, I.N. Lebedev¹

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Tomsk Regional Perinatal center, Tomsk, Russia³

Krasnoyarsk Center for Reproductive Medicine, Krasnoyarsk, Russia⁴

Abstract

The aim of the study is to evaluate the possibility of determining the presence / absence of aneuploidy in the embryoblast by molecular karyotyping of genomic DNA from the blastocoel fluid of the blastocyst and trophoctoderm cells. With the methods of CGH, aCGH and NGS, 31 human blastocysts were analyzed. The detection of aneuploidy in both trophoctoderm and blastocoel fluid is highly likely (11/12; 91.7 %) to indicate the presence of one or more chromosomal aberrations in the embryoblast.

Keywords: cell-free DNA, blastocoel fluid, blastocyst, embryoblast, trophoctoderm, chromosomal mosaicism.

Актуальность. Хромосомные аномалии присутствуют более чем в 50 % эмбрионов человека, полученных в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [1]. Для повышения результативности циклов ЭКО проводят преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ). Однако в связи с недостаточной изученностью механизмов формирования митотических анеуплоидий в ходе дробления, хромосомный мозаицизм признан основной причиной снижения эффективности ПГТ [2]. При наличии диплоидно-анеуплоидного мозаицизма биопсированные клетки трофэктодермы (ТЭ) могут предоставлять неверные данные относительно хромосомной конституции эмбриобласта (ЭБ), приводя к диагностическим ошибкам [3, 4]. В последние годы все чаще встречаются сообщения о том, что перенос эмбрионов с низким уровнем хромосомного мозаицизма приводит к рождению здоровых детей с нормальным кариотипом [5]. Таким образом, репрезентативность ТЭ и возможность оценки соотношения нормальных и аномальных клеток в составе бластоцисты являются наиболее актуальными вопросами в области ПГТ. Внеклеточная ДНК, присутствующая во внутриполостной жидкости бластоцисты теоретически может быть полезна для решения данных вопросов, являясь дополнительным источником информации о кариотипе эмбриона. **Целью исследования** стала оценка возможности прогнозирования присутствия числовых хромосомных нарушений в эмбриобласте по данным сравнительного молекулярного кариотипирования геномной ДНК из полости бластоцисты и клеток трофэктодермы.

Материалы и методы. Проанализирована 31 бластоциста человека пятого дня развития. Бластоцисты были получены в циклах ЭКО в ОАГУЗ «Областной перинатальный центр» (г. Томск) и ООО «Красноярский центр репродуктивной медицины» в случаях отказа

пациентов от хранения бластоцист после завершения цикла ЭКО и подписания ими информированного согласия на передачу биологического материала на проведение научного исследования. Все эмбрионы были криоконсервированы. После разморозки для каждой бластоцисты проводилась аспирация внутриполостной жидкости и разделение ЭБ и ТЭ. Для всех образцов проводили полногеномную амплификацию (ПГА) ДНК. Для 15 бластоцист был использован набор Rubicon PicoPlex (Rubicon Genomics, США), для 16 бластоцист – набор REPLI-g MiniKit (Qiagen, США). 14 бластоцист анализировали методом метафазной сравнительной геномной гибридизации (CGH), 15 бластоцист – методом микроматричной CGH (array CGH, SurePrint G3 Human CGH Microarrays, 8×60K, Agilent Technologies, США) и 2 бластоцисты – методом секвенирования нового поколения (NGS) с использованием набора PGS VeriSeq (Illumina, США) и секвенатора MiSeq® System (Illumina, США).

Результаты. В работе была оценена возможность использования ТЭ и внеклеточной ДНК из внутриполостной жидкости бластоцисты для определения наличия или отсутствия анеуплоидий в ЭБ. После ПГА в 77,4 % (24/31) образцов внутриполостной жидкости, 96,8 % (30/31) образцов эмбриобласта и 100 % (31/31) образцов трофэктодермы была получена ДНК, позволяющая провести молекулярное кариотипирование. Бластоцисты, у которых в одном из трех образцов не было получено продукта ПГА, были исключены из анализа. В результате дальнейшие расчеты были проведены для 23 эмбрионов. Теоретически можно представить 8 вариантов распределения нормальных и анеуплоидных кариотипов между тремя исследуемыми образцами от одной бластоцисты. В настоящем исследовании было обнаружено 6 из них. Было выявлено 3 бластоцисты (3/23; 13,0 %), у которых все три исследованных образца имели нормальный (или сбалансированный) кариотип. Ко второму варианту распределения, где ткани имели эуплоидный кариотип, а внеклеточная ДНК показала наличие анеуплоидий, было отнесено 4 бластоцисты (4/23; 17,4 %). Эти бластоцисты являются примером того, что на преимплантационном этапе развития, по всей видимости, действительно происходит коррекция эмбрионального кариотипа [6] и ДНК клеток с хромосомными мутациями попадает во внутриполостную жидкость бластоцисты. Была отмечена и обратная ситуация, когда в тканях и ТЭ, и ЭБ присутствовали анеуплоидии, в то время как внутриполостная жидкость была эуплоидной (3/23; 13,0 %). Был обнаружен один эмбрион (1/23; 4,3 %), в котором эуплоидной была только ТЭ. Такие случаи при проведении ПГТ могут приводить к получению ложно-негативных результатов. Наконец, еще два варианта распределения представляются нам особенно значимыми, с точки зрения диагностики. Так, например, в одном варианте распределения ЭБ был эуплоидным, тогда как внутриполостная жидкость и ТЭ – анеуплоидными (1/23; 4,3 %). В другом варианте, самом распространенном, – все три образца имели хромосомные aberrации (11/23; 47,8 %). Таким образом, нами было отмечено, что детекция анеуплоидий и во внутриполостной жидкости и в ТЭ высоковероятно (11/12; 91,7 %) указывает на наличие анеуплоидного кариотипа в ЭБ (11/23 против 1/23, $\chi^2 = 11,275$; $p < 0,001$).

Выводы. Присутствие анеуплоидий как в ТЭ, так и во внутриполостной жидкости с высокой вероятностью может свидетельствовать о наличии хромосомных aberrаций в клетках ЭБ. Соответственно, в случае принятия решения о переносе анеуплоидных мозаичных эмбрионов по результатам анализа биопсии трофэктодермы, целесообразно рекомендовать проведение дополнительного молекулярного кариотипирования внеклеточной ДНК в полости бластоцисты.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 15-04-08265

ЛИТЕРАТУРА

1. Frumkin T., Malcov M., Yaron Y., Ben-Yosef D. Elucidating the origin of chromosomal aberrations in IVF embryos by preimplantation genetic analysis. *Molecular and cellular endocrinology*. 2008 Jan; 282(12): 112119. doi: 10.1016/j.mce.2007.11.009.
2. Mastenbroek S., Repping S. Preimplantation genetic screening: back to the future. *Human Reproduction*. 2014 Sep; 29: 18461850. doi: 10.1093/humrep/deu163.
3. Capalbo A., Rienzi L. Mosaicism between trophectoderm and inner cell mass. *Fertility and Sterility*. 2017 May; 107(5): 10981106. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.03.023.
4. Kushnir V.A., Darmon S.K., Barad D.H., Gleicher N. Degree of mosaicism in trophectoderm does not predict pregnancy potential: a corrected analysis of pregnancy outcomes following transfer of mosaic embryos. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2018 Jan 26; 16(1): 6. doi: 10.1186/s12958-018-0322-5.
5. Greco E., Minasi M.G., Fiorentino F. Healthy babies after intrauterine transfer of mosaic aneuploid blastocysts. *New England Journal of Medicine*. 2015 Nov 19; 373(21): 20892090. doi: 10.1056/NEJMc1500421.
6. Bazrgar M., Gourabi H., Valojerdi M.R., Yazdi P.E., Baharvand H. Self-correction of chromosomal abnormalities in human preimplantation embryos and embryonic stem cells. *Stem Cells and Development*. 2013 Sep 1; 22(17): 244956. doi: 10.1089/scd.2013.0053.

ОЦЕНКА УРОВНЯ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ В АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКЕ НА ОСНОВАНИИ ДАННЫХ О МЕТИЛИРОВАНИИ ДНК

**А.А. Зарубин^{1,2}, А.В. Марков¹, Д.В. Шарыш², М.С. Назаренко^{1,2,3},
О.Л. Барбараш³, В.П. Пузырёв^{1,2}**

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия²
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия³

Аннотация

Лейкоцитарная инфильтрация является важным аспектом воспаления и должна учитываться при интерпретации результатов измерения метилирования ДНК в тканях, поскольку не всегда можно выяснить причину изменения уровня метилирования ДНК в ткани – вызвано ли это изменением соотношением разных типов клеток или внутриклеточными изменениями. Для того чтобы увеличить достоверность подобных исследований, мы предложили метод определения лейкоцитарной инфильтрации, основанный на уровне метилирования определённых CpG-сайтов. Для определения маркерных сайтов были использованы результаты микрочипового анализа метилирования ДНК в тканях атеросклеротических бляшек непораженных артерий, а также лейкоцитах периферической крови, полученных от одних и тех же пациентов. Обнаружено, что на изменения метилирования определённых CpG-сайтов в ткани при патологическом процессе может влиять лейкоцитарная инфильтрация, провести коррекцию на лейкоцитарную инфильтрацию можно, имея образец контрольной ткани и лейкоцитов крови.

Ключевые слова: атеросклероз, воспаление, метилирование.

EVALUATION OF THE LEVEL OF LEUCOCYTAR INFILTRATION IN ATHEROSCLEROTIC BLOOD ON THE BASIS OF DATA ON DNA METHYLATION

**A.A. Zarubin^{1,2}, A.V. Markov¹, D.V. Sharysh², M.S. Nazarenko^{1,2,3},
O.L. Barbarash³, V.P. Puzyrev^{1,2}**

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²
Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia³

Abstract

Leukocyte infiltration is a crucial aspect of the inflammation and should be considered when interpreting the results of DNA methylation measurement in artery tissues affected by atherosclerosis. Since the reasons of alterations in DNA methylation level is not always possible to clarify – whether it caused by changes in ratio of different cell types or intracellular disturbances – we proposed a method for determining of leukocyte infiltration, based on the level of methylation of certain CpG sites. To determine the marker sites, we used the results of microarray analysis of DNA methylation in atherosclerotic plaques, uninjured arteries and peripheral blood leukocytes obtained from the same patients. Methylation variability of certain CpG-sites was demonstrated to be influenced by leukocyte infiltration and can be negotiated using reference tissue and blood leukocyte samples.

Keyword: atherosclerosis, inflammation, methylation.

Актуальность. Лейкоцитарная инфильтрация является важным аспектом воспаления и должна учитываться при интерпретации результатов измерения метилирования ДНК в тканях. По уровню метилирования ДНК клеток крови уже сейчас можно достаточно точно восстановить соотношение различных клеточных фракций [1]. Но в изучении других гетерогенных тканей, особенно вовлечённых в патологический процесс, существуют сложности, поскольку не всегда можно выяснить причину изменения уровня метилирования ДНК в такой ткани – вызвано ли это изменением отношения разных типов клеток или внутриклеточными изменениями. Для того чтобы увеличить достоверность подобных исследований, мы предложили метод определения лейкоцитарной инфильтрации. В качестве примера очень гетерогенной по клеточному составу ткани мы использовали стенку артерий, пораженную атеросклерозом.

Материал и методы. Мы использовали результаты микрочипового анализа метилирования ДНК в атеросклеротических бляшках коронарных артерий (БКА), непоражённых внутренних грудных артериях (ВГА) и лейкоцитах периферической крови (ЛПК), полученных от тех же пациентов (n=6, Accession: GSE62867) [2]. Нами был выведен коэффициент лейкоцитарной инфильтрации (КЛИ), основывающийся на 3 предположениях:

1) ряд геномных локусов не изменяет свой уровень метилирования ни в резидентных клетках пораженных артерий по сравнению с клетками в нормальных артериях, ни в лейкоцитах крови в ходе инфильтрации,

2) уровень метилирования в этих локусах отличается в резидентных артериальных клетках и лейкоцитах,

3) уровень метилирования в образцах соответствует среднему уровню метилирования клеток в образце.

Таким образом, формула расчета коэффициента выглядит так:

$$\text{КЛИ} = (\beta_{\text{БКА}} - \beta_{\text{ВГА}}) / (\beta_{\text{ЛПК}} - \beta_{\text{ВГА}}),$$

где β – индекс метилирования CpG-сайта ДНК в образце.

Влияние КЛИ было подтверждено на другом наборе данных: атеросклеротических бляшках сонных артерий (БСА, n=16), патоморфологические изменения в которых были описаны по результатам гистологического анализа. Измерение уровня метилирования в этих образцах производилось с использованием Infinium MethylationEPIC BeadChip (Illumina). Статистическая обработка результатов была проведена в среде R (The R Foundation).

Результаты. Рассчитанный КЛИ находился в диапазоне от 0 до 1 для 10469-12741 CpG-сайтов в разных образцах, а для 87 CpG-сайтов (85 генов) КЛИ находился в интерквартильном диапазоне для всех образцов. Используя КЛИ, мы провели коррекцию уровня метилирования в БКА и сравнили уровни метилирования ДНК в БКА и ВГА, такая коррекция позволила идентифицировать позиции, которые до этого не преодолевали порог статистической значимости ($p < 0,05$) до коррекции. Также число дифференциально метилированных CpG-сайтов значительно сократилось, что может косвенно служить подтверждением того, что большая их часть приобрела значимые изменения в уровне метилирования только вследствие лейкоцитарной инфильтрации ткани образца. Из отобранных 87 CpG-сайтов метилирование 74 CpG-сайтов было скоррелировано ($|r| > 0,6$) со средним количеством клеток одной или нескольких фракций лейкоцитов, определённых в стабильной или нестабильной бляшке, более сильную корреляцию ($|r| > 0,7$) показали только 38 CpG-сайтов. Из них уровень метилирования 33 CpG-сайтов был сильно коррелирован ($|r| > 0,7$) со средним количеством нейтрофилов в поле зрения в стабильных бляшках из БСА. Для проверки гипотезы, что отобранные нами CpG-сайты были выбраны не случайно, был использован точный критерий Фишера. Для порога $|r| > 0,6$ ($p < 0,001$), а для порога $|r| > 0,7$ при корреляции с количеством нейтрофилов в стабильной бляшке ($p < 10^{-5}$). Это свидетельствует о том, что отобранные, согласно КЛИ, CpG-позиции обогащены сайтами, уровень метилирования которых сильно коррелирует с лейкоцитарной инфильтрацией.

Выводы. На изменения метилирования некоторых CpG-сайтов при патологических процессах может влиять лейкоцитарная инфильтрация. Провести коррекцию на лейкоцитарную инфильтрацию возможно при наличии образцов контрольной (непораженной) ткани и лейкоцитов крови.

Исследование поддержано грантом Российского научного фонда (проект № 17-75-10146)

ЛИТЕРАТУРА

1. Koestler D.C., Christensen B., Karagas M.R., Marsit C.J., Langevin S.M., Kelsey K.T., Wiencke J.K., Houseman E.A. Blood-based profiles of DNA methylation predict the underlying distribution of cell types: a validation analysis. *Epigenetics*. 2013 Aug; 8(8): 81626. doi: 10.4161/epi.25430.

2. Nazarenko M.S., Markov A.V., Lebedev I.N., Freidin M.B., Sleptcov A.A., Koroleva I.A., Frolov A.V., Popov V.A., Barbarash O.L., Puzryev V.P. A comparison of genome-wide DNA methylation patterns between different vascular tissues from patients with coronary heart disease. *PLoS One*. 2015 Apr 9; 10(4): e0122601. doi: 10.1371/journal.pone.0122601.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭКСПОЗИЦИИ РАДОНОМ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

К.А. Иродова

Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Россия

Аннотация

Одним из наиболее опасных канцерогенов, действующих на человека, считается радон. Проведено изучение влияния радона на показатели фрагментации ДНК методом «ДНК-комет» в щелочной модификации, у жителей города Кемерово. Уровень фрагментации ДНК был изучен по 3 показателям, таким как: доля ДНК в хвосте кометы, длина хвоста кометы, момент хвоста кометы. Средний уровень фрагментации составил 3,50 %. Повышенные результаты наблюдались у мужчин, но данная тенденция не достигала статистической значимости. Показатели ДНК-комет не отличались значимо в зависимости от изменения уровня радона. Была обнаружена положительная корреляция показателей ДНК-комет с увеличением мощности гамма-излучения.

Ключевые слова: радон, ДНК-кометы, ионизирующее излучение.

EFFECT OF CHRONIC EXPOSURE TO RADON ON CYTOGENETIC INDICES

K.A. Irodova

Kemerovo state University, Kemerovo, Russia

Abstract

Radon is considered to be one of the most dangerous carcinogens acting on humans. A study was made of the effect of radon on the results of DNA fragmentation by the method of «DNA comets» in alkaline modification among the residents town Kemerovo. The level of DNA fragmentation was carried out on 3 indicators, such as: the proportion of DNA in the tail of the comet, the length of the tail of the comet's, the moment of the tail of the comet's. The average level of DNA fragmentation was 3,50 %. Increased results were observed in men, but this trend did not reach statistical significance. The parameters of the DNA comets did not differ significantly depending on the level of radon changes. A positive correlation of the parameters of the DNA comets with an increase in the gamma radiation power was found.

Keywords: radon, DNA comet, ionizing radiation.

Радон значится вторым по частоте фактором, вызывающим онкологическое заболевание лёгких. Радонное облучение считается шестой по частоте причиной смерти от рака. Вероятность получить данную болезнь зависит от того, насколько много радона в помещении и как долго в нем находится человек. Даже незначительные радиационные эффекты уже приводят к увеличению риска возникновения стохастических эффектов [1].

Радон в концентрациях 200 Бк/м³ и выше обладает канцерогенным эффектом. В 20–30 % жилых помещений уровень объемной активности (ОА) радона равен 72 Бк/м³ и выше. При возрастании концентрации радона на 100 Бк/м³ риск развития рака легких увеличивается на 16 %. Очаги выделения радона в жилых и технических постройках часто располагаются спорадически, радон рассматривается в качестве ведущей причины повышения частоты хромосомных aberrаций в схожих экспонированных группах.

Определение степени повреждения ДНК в клетках крови проводилось методом «ДНК-комет» в щелочной модификации. Для исследования была отобрана группа из 40 человек,

проживающих в г. Кемерове, не подвергающихся потенциально генотоксическим факторам. В местах их постоянного проживания были определены радиационные параметры. В результате исследования была проведена регистрация ОА радона, мощности амбиентной эквивалентной дозы (МАЭД) гамма-излучения и плотности потока бета-излучения. Для генотоксического анализа была отобрана венозная кровь. Оценка параметров фрагментации проводилась путем микрофотографирования препаратов, окрашенных SYBR GREEN. Рассчитывались параметры длины хвоста кометы, момента хвоста, а также доля ДНК в хвосте кометы. Для количественных показателей рассчитывались средние значения и пределы 95 % доверительного интервала (CI 95).

Среднее значение ОА радона в воздухе помещений составило 89,2 Бк/м³, значение МАЭД гамма-фона составило 0,13 мкЗв/ч, плотность потока бета-излучения 0,65 с⁻¹. Уровень фрагментации ДНК был изучен по 3 показателям, таким как: доля ДНК в хвосте кометы, длина хвоста кометы, момент хвоста кометы. Средний уровень фрагментации составил 3,50 %. Повышенные результаты наблюдались у мужчин, но данная тенденция не достигала статистической значимости. Показатели ДНК-комет не отличались значимо в зависимости от изменения уровня радона. Была обнаружена положительная корреляция показателей ДНК-комет с увеличением мощности гамма-излучения.

В данном исследовании не было обнаружено значительной гетерогенности в отношении уровня повреждения ДНК в исследованной популяции, также не удалось выявить статистически значимых корреляций с показателями объемной активности радона, но в то же время обнаружены корреляции с показателями гамма-фона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петренёва И.В., Пузырников А.А. Опасность воздействия высоких концентраций радона на организм человека. Вестник Донбасской национальной академии строительства и архитектуры. 2015; 3(113): 810.

ИЗМЕНЕНИЕ ЧАСТОТЫ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ЛИЦ, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ

Д.С. Исубакова^{1,2}, Н.В. Литвяков^{1,2,3}, М.В. Халюзова¹, Р.М. Тахауов^{1,4},
Т.В. Усова¹, Е.В. Брониковская¹, М.М. Цыганов², Л.Р. Тахауова⁴,
А.Б. Карпов^{1,4}

Северский биофизический научный центр ФМБА России, г. Северск, Россия¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия³

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия⁴

Аннотация

Проведено исследование нестабильных хромосомных aberrаций, aberrаций числа копий ДНК и LOH-генетического ландшафта лейкоцитов у лиц, подвергавшихся в процессе профессиональной деятельности воздействию внешнего γ -излучения, у которых в ходе исследования 2014 г. были обнаружены мозаичные делеции и амплификации. Было установлено, что при неизменившейся дозе внешнего облучения частота нестабильных хромосомных aberrаций в 2017 г. возросла по сравнению с 2014 г. Мозаичные aberrации числа копий ДНК (CNA) сохранились у 6/7 обследованных работников. В одном случае представленность мозаичной амплификации увеличилась в 1,5 раза. Отмечен также один случай элиминации мозаичной амплификации с течением времени.

Ключевые слова: aberrации числа копий; хромосомные aberrации; низкоинтенсивное радиационное воздействие.

CHANGES IN THE FREQUENCY OF CHROMOSOME ABERRATIONS OF BLOOD LEUKOCYTES IN EMPLOYEES EXPOSED TO EXTERNAL IRRADIATION

D.S. Isubakova^{1,2}, N.V. Litvyakov^{1,2,3}, M.V. Khalyuzova¹, R.M. Takhauov^{1,4},
T.B. Usova¹, E.V. Bronikovskaya¹, M.M. Tsyganov², L.R. Takhauova⁴,
A.B. Karpov^{1,4}

Seversk Biophysical Research Center of FMBA Russia, Seversk, Russia¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

Tomsk State University, Tomsk, Russia³

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia⁴

Abstract

The study of unstable chromosomal aberrations and the CNA- and LOH-genetic landscape of blood leukocytes in healthy employees exposed to external irradiation are presented. In 2014, 11 persons with *de novo* induced mosaic deletions and amplifications were detected. We have identified that the frequency of unstable chromosomal aberrations in 2017 increased as compared to 2014. The mosaic deletion we identified in 2014 preserved until 2017. Mosaic amplifications identified in 2014 preserved in five out of six employees. We have identified that in one case the mosaic amplification increased 1.5-fold by 2017. There was also one case of elimination of mosaic amplification over time.

Keywords: copy number aberrations, chromosomal aberrations, low-level radiation exposure.

Актуальность. Ионизирующее излучение способно вызвать образование как нестабильных хромосомных aberrаций (хроматидные и хромосомные фрагменты, дицентрические, кольцевые хромосомы и др.) [1], так и стабильных: транслокаций [2,3], крупных делеций [4] и aberrаций числа копий ДНК – CNA (copy number aberrations), или индуцированных *de novo* CNV (copy number variations), которые широко представлены в геноме [5]. Однако ионизирующее излучение также может быть причиной образования CNA [6].

Материал и методы. Для всех обследованных лиц был проведён стандартный цитогенетический анализ лимфоцитов периферической крови.

ДНК из крови выделяли при помощи набора «QIAamp DNA Blood mini Kit» («Qiagen», Германия) в соответствии с инструкцией производителя.

Микроматричный анализ проводили на микроматрицах (ДНК-чипах) высокой плотности фирмы «Affymetrix» (США) «CytoScan™ HD Array». Процедуры пробоподготовки, гибридизации и сканирования проводили в соответствии с протоколом производителя на системе «Affymetrix GeneChip® SCNVner 3000 7G» «Affymetrix» (США). Для обработки результатов микрочипирования использовали программу «Chromosome Analysis Suite 2.0» «Affymetrix» (США).

Результаты. В 2014 г. было проведено исследование частоты хромосомных aberrаций у 46 здоровых работников (мужчин) Сибирского химического комбината (СХК), которые подвергались длительному радиационному воздействию (внешнему облучению). У 9 работников обнаружены мозаичные амплификации и у 2 работников мозаичные делеции [7].

В исследование 2017 г. были включены 7 из 11 здоровых работников СХК, у которых по итогам исследований 2014 г. были обнаружены индуцированные *de novo* мозаичные делеции и амплификации. Доза внешнего облучения за 3-летний период не изменилась, тем не менее частота aberrантных клеток в 2017 г. возросла в 1,7 раза по сравнению с исходным уровнем, частота aberrаций хромосомного типа возросла в 2 раза, частота парных фрагментов – более чем в 4 раза, и дицентрических хромосом – почти в 2 раза (табл. 1). Повторное исследование показало, что у 6 из 7 обследованных мозаичная делеция (рис. 1) и мозаичные амплификации (рис. 2) сохранились, их представленность в 5/6 случаев не изменилась и в одном случае увеличилась в 1,5 раза. У одного обследованного мозаичная амплификация короткого плеча 3-й хромосомы элиминировалась. Других изменений в CNA- и LOH-генетическом ландшафте не наблюдалось.

Выводы. Исследование изменений с течением времени частоты хромосомных aberrаций и CNA-генетического ландшафта лейкоцитов крови работников, подвергавшихся длительному

радиационному воздействию, свидетельствует о формировании у облученных лиц костно-мозговых самоподдерживаемых клонов, потомки которых дают популяцию aberrантных клеток в крови. Необходимы дальнейшие исследования механизмов сохранения хромосомных aberrаций и выявления клонов aberrантных клеток в костном мозге.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-34-00876 мол_а)

ЛИТЕРАТУРА

1. Luchnik N., Sevankaev A. Radiation-induced chromosomal aberrations in human lymphocytes. I. Dependence on the dose of gamma-rays and an anomaly at low doses. *Mutat Res.* 1976; 36(3): 363–377.
2. Hoffmann G.R., Sayer A.M., Joiner E.E., McFee A.F., Littlefield L.G. Analysis by FISH of the spectrum of chromosome aberrations induced by X-rays in G0 human lymphocytes and their fate through mitotic divisions in culture. *Environ. Mol. Mutagen.* 1999; 33(2): 94–110.
3. Снигирева Г.П. Биологическая дозиметрия на основе цитогенетического анализа. Вестник Российского научного центра рентгенодиагностики Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи. 2011; 1(11): 22.
4. Grososky A.J., De Boer J.G., De Jong P.J., Drobetsky E.A., Glickman B.W. Base substitutions, frameshifts, and small deletions constitute ionizing radiation-induced point mutations in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1988; 5(1): 185–188.
5. Zhang F., Gu W., Hurles M.E., Lupski J.R. Copy number variation in human health, disease, and evolution. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2009; 10: 451–481.
6. Arlt M.F., Rajendran S., Birkeland S.R., Wilson T.E., Glover T.W. Copy number variants are produced in response to low-dose ionizing radiation in cultured cells. *Environmental and molecular mutagenesis.* 2014; 55(2): 103–113.
7. Литвяков Н.В., Хализова М.В., Тахауов Р.М., Сазонов А.Э., Исубакова Д.С., Брониковская Е.В., Карпов А.Б. Aberrации числа копий ДНК в лимфоцитах крови лиц, подвергавшихся профессиональному облучению, как потенциальный маркер их высокой радиочувствительности. Вестник ТГУ. Биология. 2015; 2(30): 113–133.

Таблица 1

Сравнение средней частоты хромосомных aberrаций у работников Сибирского химического комбината в исследованиях 2014 и 2017 гг.

Показатель	Частота хромосомных aberrаций на 100 клеток (M ± SE)		p-value
	2014	2017	
Количество aberrантных клеток	2,757 ± 0,499	4,684 ± 0,538	0,0221
Aberrации хромосомного типа	1,718 ± 0,286	3,465 ± 0,421	0,0050
Хроматидные фрагменты	0,663 ± 0,256	1,088 ± 0,173	0,1939
Парные фрагменты	0,180 ± 0,066	0,773 ± 0,063	0,0000
Кольцевые хромосомы	0,287 ± 0,142	0,384 ± 0,129	0,6207
Дицентрические хромосомы	1,251 ± 0,206	2,308 ± 0,391	0,0338

Примечание: M – среднее арифметическое; SE – ошибка средней; p-value – уровень статистической значимости, определяемой по критерию Вилкоксона – Манна – Уитни; полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

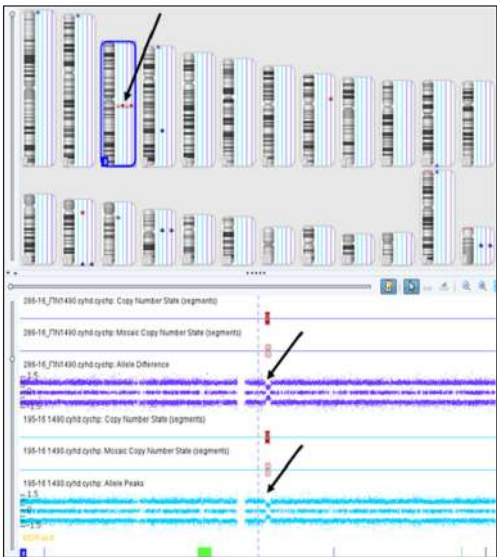


Рис. 1. Мозаичная делеция в длинном плече 3-й хромосомы у работника № 1490 в 2017 г. (А) и 2014 г. (Б) (показана стрелками)

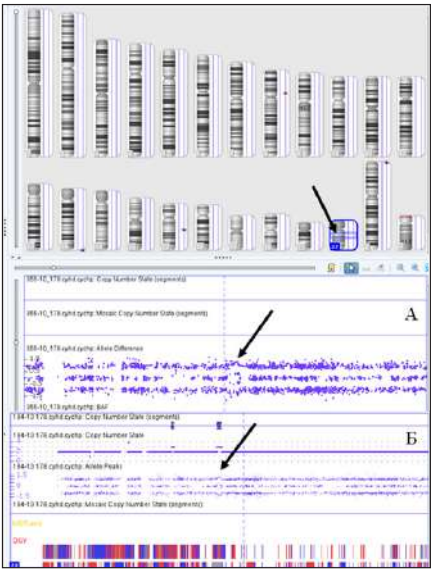


Рис. 2. Мозаичная амплификация в длинном плече 22-й хромосомы у работника № 178 в 2017 г. (А) и 2014 г. (Б) (показана стрелками)

ГЕН UCP2 КАК БИОМАРКЕР РЕЗИСТЕНТНОСТИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Д.А. Каширских, В.Н. Попов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», г. Воронеж, Россия

Аннотация

Цель – изучение паракват-индуцированной болезни Паркинсона, а также исследование изменения экспрессии генов Ubc, Hsp90aa1 и Ucp2 для оценки их вклада в протекание болезни.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, паракват, черная субстанция, белки разобщения, биомаркер, белки теплового шока, окислительный стресс.

THE UCP2 GENE AS A BIOMARKER OF RESISTANCE IN EXPERIMENTAL CONDITIONS OF PARKINSON'S DISEASE

D.A. Kashirskikh, V.N. Popov

Voronezh State University, Voronezh, Russia

Abstract

Paraquat-induced Parkinson's disease was investigated. The changes in the expression of Ubc, Hsp90aa1 and UCP2 genes to evaluate their contribution to the course of the disease have been investigated.

Keywords: Parkinson's disease, substance nigra, paraquat, uncoupling proteins, biomarker, heat shock protein, oxidative stress.

Актуальность. Для определения этиологии и прогрессирования нейродегенеративных заболеваний необходим поиск эффективных биомаркеров болезни. Претендентами на их роль можно считать семейство нейрональных белков UCP, о чем свидетельствуют доказательства их жизненно важной роли в защите нейронов от различных стрессов, в том числе связанных с болезнью Паркинсона (БП). Их экспрессия вполне может быть потенциальной терапевтической мишенью для различных лекарств, направленных на облегчение вредного воздействия патогенных процессов в нейродегенерации и, следовательно, изменение прогрессирования этого заболевания.

Материал и методы. Крысы *Rattus norvegicus* линии Wistar были получены из одной и той же колонии путем размножения и поддерживались на стандартной диете. Особи размещались отдельно, в стандартных клетках с свободным доступом к воде и поддержанием 12-часового светового дня. Для эксперимента крыс распределили на опытную и контрольную когорты – в каждой по 8 животных 8–12-недельного возраста и весом 200–250 г. Для индукции модели болезни Паркинсона животным проводили инъекции параквата (10–15 мг/кг), растворенного в 0,9 % растворе хлорида натрия на протяжении 2 нед по схеме «понедельник-среда-пятница». Контрольная когорта получала инъекции физиологического раствора, для нивелирования вклада стресса в изменение транскриптома. Крыс декапитировали в одно и то же время суток, чтобы контролировать суточные изменения. Провели диссекцию мозга для изъятия substantia nigra (SN).

Фракцию тотальной РНК из тканей крыс получали с помощью «Реагента для выделения суммарной РНК из биологических образцов, ExtractRNA». РНК обрабатывали ДНКазой 1 («Thermo Fisher Scientific», США). Обратную транскрипцию РНК проводили на приборе Mastercycler Personal («Eppendorf», Германия).

Количественную полимеразную цепную реакцию в реальном времени (qPCR) проводили на приборе CFX96 Real-Time PCR Detection System («Bio-Rad», США) с использованием смеси qPCRMix-HS SYBR+LowROX («Евроген», Россия), согласно следующему протоко-

лу: первичная денатурация 95 °С – 3 мин; 45 циклов, включающих денатурацию при 95 °С в течение 20 сек, отжиг праймеров при 60 °С в течение 20 сек, элонгацию цепи при 72 °С в течение 30 сек, регистрацию сигнала. После циклической амплификации проводили анализ кривых плавления продуктов реакции в диапазоне температур от 60 до 95 °С. Для нормализации экспрессии генов использовались housekeeping-гены: Gapdh и Rn18s. Также были оптимизированы температура плавления праймеров и количество кДНК для qPCR. Исследуемые нами генетические мишени: Ubc, Hsp90aa1 и Ucp2.

Результаты. Митохондрии обеспечивают клеточную энергию в форме АТФ путем окислительного фосфорилирования, но в качестве неотъемлемой части этого процесса также производятся супероксиды и другие виды реакционноспособного кислорода. Чрезмерное производство свободных радикалов способствует окислительному стрессу. Появление различных эндогенных антиоксидантных белков позволило противостоять окислительному стрессу. Одно из таких семейств белков – митохондриальные разобщающие белки (UCP), которые являются носителями анионов, расположенными во внутренней мембране митохондрий. UCP2 повсеместно экспрессируется на разных уровнях в разных тканях, включая мозг [1], и это, вероятно, наиболее широко изученный гомолог UCP на данный момент. Наблюдается достоверное увеличение экспрессии Ucp2 (в 7,5 раза), Ubc (в 49 раз), Hsp90aa1 (в 10 раз) по сравнению с контролем в substantia nigra после воздействия параквата. Предположительно, что увеличение экспрессии гена Ucp2 служит для защиты нейронов от токсичности ксенобиотиков [2, 3].

Увеличенный уровень мРНК Ubc указывает на глубокую нейродегенерацию и образование убиквитинированных тел включений [4].

Показано, что Hsp90 стабилизирует переходные конформационные состояния многих белков (например, стероидных рецепторов, патоген-резистентных белков и т. д.). При паракват-индуцированной болезни Паркинсона работа шаперон-опосредованной аутофагии ухудшается, происходит накопление дефектных белков. Таким образом, увеличение уровня мРНК Hsp90aa1 является компенсаторной реакцией на накопление неправильно свёрнутых белков [5].

Выводы. Изменение экспрессии генов-мишеней соответствует молекулярным изменениям при болезни Паркинсона. Была продемонстрирована индукция UCP2, описанная в других исследованиях. Нейронные UCP обладают свойствами, которые могут защитить нейроны от различных клеточных стрессов, например, наблюдаемые в экспериментальных моделях болезни Паркинсона. Кроме того, UCP являются индуцибельными. Соединения, которые могут индуцировать экспрессию эндогенных нейрональных UCP, имеют потенциальную ценность для терапии БП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fleury C. Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nature Genetics*. 1997; 3(15): 269–272.
2. Andrews Z.B. Ghrelin Promotes and Protects Nigrostriatal Dopamine Function via a UCP2-Dependent Mitochondrial Mechanism. *Journal of Neuroscience*. 2009; 45(29): 14057–14065.
3. Ho P.W.L. Mitochondrial neuronal uncoupling proteins: a target for potential disease-modification in Parkinson's disease. *Translational Neurodegeneration*. 2012; 1: 19.
4. Ebrahimi-Fakhari D., Wahlster L., McLean P.J. Protein degradation pathways in Parkinson's disease: curse or blessing. *Acta neuropathologica*. 2012; 2(124): 153–72.
5. Young J.C. Pathways of chaperone-mediated protein folding in the cytosol. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2004; 10(5): 781–791.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ЧАСТОТУ НЕСТАБИЛЬНЫХ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ У НАСЕЛЕНИЯ ПРИБРЕЖНЫХ СЕЛ РЕКИ ТЕЧА

Е.В. Киселёва, А.В. Возилова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, г. Челябинск, Россия

Аннотация

Повышенная частота нестабильных хромосомных aberrаций (НХА) является маркером воздействия на клетку ионизирующего излучения. В работе представлены результаты по

частоте НХА в Т-клетках периферической крови у населения прибрежных сел реки Теча, подвергшегося хроническому кумулятивному облучению. Особое внимание было уделено группе лиц, облучение которых началось во внутриутробном периоде и продолжилось после рождения из-за проживания на загрязненных радионуклидами территориях. В качестве групп сравнения были сформированы: группа лиц, облучение которых началось после рождения, и группа лиц, которые не подвергались аварийному облучению.

Ключевые слова: хроническое облучение, население прибрежных сел реки Теча, хромосомные aberrации, цитогенетические эффекты, внутриутробное облучение.

THE IMPACT OF CHRONIC EXPOSURE ON THE FREQUENCY OF UNSTABLE CHROMOSOME ABERRATIONS IN POPULATION OF THE TECHA RIVERSIDE VILLAGES

E.V. Kiseleva, A.V. Vozilova

Federal State Government-Funded Institution of Science Urals Research Center for Radiation Medicine of the Federal Medical-Biological Agency, Chelyabinsk, Russia

Abstract

Increased frequency of unstable chromosome aberrations (UCA) is a marker of ionizing radiation exposure of a cell. In this paper data on the frequency of UCA in peripheral blood T-lymphocytes are presented for the population of the Techa riverside villages who were affected by chronic cumulative exposure. Special attention was paid to the group of persons who were exposed in utero and in postnatal period due to their residence in areas contaminated with radionuclides. Two comparison groups were formed: a group of postnatally exposed persons and a group of unexposed persons.

Keywords: chronic exposure, population of the Techa riverside villages, chromosome aberrations, cytogenetic effects, *in utero* exposure.

Актуальность. В 1950-е годы с ПО «Маяк» жидкие радиоактивные отходы сбрасывались в реку Теча. В результате жители прибрежных сел подверглись повышенным уровням комбинированного (внутреннего и внешнего) хронического облучения [1]. Как показали результаты многолетнего цитогенетического наблюдения, частота дицентрических и обменных aberrаций у облученных лиц хоть и снижается со временем, но до сих пор остается повышенной [2, 3]. Помимо дозы и мощности облучения, которые являются важными характеристиками для оценки последствий радиоактивного воздействия на организм человека, немаловажным фактором является период развития организма, на который пришлось начало облучения: внутриутробный или постнатальный. Считается, что внутриутробный период наиболее радиочувствительный за счет динамических процессов, протекающих в этот момент – деление и рост клеток, закладка органов и тканей организма. Следовательно, не исключено, что ионизирующее излучение, которое начинает влиять в период внутриутробного развития плода, может вызвать наибольшие цитогенетические эффекты, чем воздействие, которое начинается после рождения.

Цель исследования – сопоставить цитогенетические показатели, полученные в группе лиц, у которых хроническое облучение началось во внутриутробном периоде, с показателями в группах сравнения. Первая группа сравнения включает постнатально облученных лиц, вторая состоит из людей, которые не подвергались аварийному облучению, но проживают на Южном Урале.

Материал и методы. В основную группу вошли 48 человек из когорты *in utero* облученных лиц (внутриутробно и постнатально облученные лица). Средняя доза облучения красного костного мозга (ККМ) обследованных была равна 480 мГр. Возрастной диапазон составил от 49 до 66 лет. В первую группу сравнения вошли 440 постнатально облученных лиц со средней дозой на ККМ 900 мГр, возрастной диапазон обследованных составил от 51 до 89 лет. Вторая группа включала 65 лиц, проживавших на Южном Урале в сходных социально-экономических условиях, но аварийному облучению не подвергавшихся. Все группы на 70 % были представлены женщинами (табл. 1).

Материалом для исследования служили Т-лимфоциты периферической крови человека. Культивировали клетки в культуральной среде 52 ч. Обработка включала два этапа: гипотонию и фиксацию. Готовую суспензию раскапывали на холодные мокрые стекла и сушили на термоплате. Окрашивали хромосомы 2 % красителем Гимза [3]. Оцифровывали изображение метафаз с помощью автоматического поиска на Метафере, анализировали метафазные пластинки с помощью ПО «Ikaros» (MetaSystems, Германия). На каждого обследуемого анализировали от 100 до 500 клеток. Анализировали НХА: дицентрические и кольцевые хромосомы. В 20 % случаев дицентрики сопровождалась парными фрагментами. Также оценивали суммарно показатель обменных aberrаций, который представлял сумму дицентрических, кольцевых хромосом и ацентрических фрагментов. Статистическая обработка данных проводилась с использованием критерия Манна – Уитни.

Результаты. Результаты цитогенетического исследования представлены в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика обследованных групп и результаты оценки частоты нестабильных хромосомных aberrаций (на 100 клеток).

Группы	Количество проанализированных лиц	Возраст, лет minmax	Доза, мГр minmax	Клетки, среднее количество на человека	Дицентрики, %, M±SD	Обменные aberrации, %, M±SD
Внутриутробно и постнатально облученные лица	48	49–66	480 2±2282	26,119±500	0.268±0.627 p<0.001 p1<0.001	0.289±0.626 p<0.001 p1<0.001
Постнатально облученные лица	440	51–89	900 2±4457	78,704±178	0.221±0.635 p1=0.017	0.253±0.688 p1=0.074
Необлученные лица	65	40–79	–	8,931±130	0.085±0.037	0.137±0.401

Примечания: p – статистические различия между группами «внутриутробно и постнатально облученные лица» и «постнатально облученные лица», p1 – статистические различия с группой «необлученные лица».

По сравнению с группой необлученных лиц в обеих группах облученных наблюдается повышенный уровень НХА. Максимальные показатели были отмечены в группе лиц, облучение которых началось внутриутробно. Отметим, что у них средняя доза облучения ККМ по группе примерно в два раза была ниже, чем у постнатально облученных лиц. Полученные нами предварительные данные могут объясняться эффектом повреждения клеток-предшественников Т-лимфоцитов в костном мозге во время внутриутробного развития. Для подтверждения представленной гипотезы необходимо увеличить группу внутриутробно облученных лиц.

Выводы. В течение цитогенетического наблюдения (около 30 лет) за жителями прибрежных сел реки Теча, подвергавшихся хроническому кумулятивному облучению (более 60 лет), отмечается повышенный уровень НХА в Т-клетках периферической крови. Максимальная частота дицентриков и обменов наблюдается в группе людей, облучение которых началось внутриутробно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Degteva M.O., Shagina N.B., Vorobiova M.I. Re-evaluation of waterborne releases of radioactive materials from the “Mayak” Production Association into the Techa River in 1949/1951. *Health. Phys.* 2012; 102(1): 2538.
2. Vozilova A.V., Akleyev A.V. The dynamics of unstable chromosome aberrations frequency among people exposed on the Techa River. *International Conference on Genetic Consequences of Emergency Radiation Situations*; 2002 June 10/13. Moscow; 2002. 230231.
3. Vozilova A.V., Shagina N.B., Degteva M.O., Akleyev A.V. Chronic radioisotope effects on residents of the techa river (russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 2013; 756(12): 115118.

ОСОБЕННОСТИ ГЕНОМНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ РЕГИОНОВ ВЫСОКОЙ ГОМОЗИГОТНОСТИ У КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ СИБИРИ

Н.А. Колесников, А.А. Зарубин, В.Н. Харьков, В.А. Степанов

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Популяции коренных этносов Сибири представляют значительный интерес для популяционной геномики как в силу относительно слабой их изученности с привлечением современных геномных технологий, так и по причине специфичности их генофондов, развивавшихся в условиях длительной генетической изоляции. Мы использовали данные генотипов по 242179 аутосомным SNP 894 человек, из которых 189 представляют коренное население Сибири, для поиска регионов высокой гомозиготности протяженностью более 1 Mb с помощью программы Runs of Homozygosity, реализованной в PLINK. Для популяций Сибири обнаружены большее количество и большая суммарная длина регионов высокой гомозиготности, чем для других популяций Северной Евразии.

Ключевые слова: популяционная генетика, Сибирь, регионы высокой гомозиготности.

CHARACTERISTICS OF GENOMIC DISTRIBUTION OF RUNS OF HOMOZYGOSITY IN THE INDIGENOUS POPULATION OF SIBERIA

N.A. Kolesnikov, A.A. Zarubin, V.N. Kharkov, V.A. Stepanov

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Populations of the indigenous ethnic groups of Siberia are of considerable interest for population genomics, both because they were relatively poor studied with the use of modern genomic technologies, and due to the specificity of their gene pools that developed under conditions of prolonged genetic isolation. We used genotype data on 242179 autosomal SNPs for 894 individuals, of which 189 represented the indigenous Siberian populations, to search for regions with runs of homozygosity more than 1 Mb in length, using the Runs of Homozygosity program implemented in PLINK. For Siberia populations, number of runs of homozygosity, and their total length was higher than for other populations of Northern Eurasia.

Keywords: population genetics, Siberia, ROH, runs of homozygosity.

Актуальность. Генетико-демографические процессы и естественный отбор в популяциях оказывают влияние на структурированность генетического разнообразия в геномах отдельных индивидов и популяциях в целом. Они, в частности, приводят к тому, что формируются особенности распределения регионов высокой гомозиготности (ROH – runs of homozygosity) между отдельными людьми, популяциями, что обеспечивает ценный и часто не используемый ресурс для изучения генетического разнообразия человечества и эволюционной истории [1,2].

Материал и методы. Мы использовали 894 генотипа индивидуумов, опубликованных в работе Petr Triska et al. [3]. Выборка представлена популяциями коренного населения Сибири: кеты (N=31), тувинцы (N=44), ханты (N=29), буряты (N=44), якуты (N=41) и другими популяциями Северной Евразии, численностью от 13 до 45 человек: карелы, молдаване, татары, башкиры, мордва, чуваша, белорусы, чеченцы, адыгейцы, кабардинцы, мегрелы, украинцы, карачаевцы, коми, черкесы, абхазы, удмурты, узбеки, киргизы, китайцы, казахи, русские (Новосибирск), русские (староверы).

ROH были идентифицированы с помощью программы Runs of Homozygosity, реализованной в PLINK версии 1.9 [4] с использованием стандартных настроек. Статистическую значимость межпопуляционных различий оценивали при помощи теста Уилкоксона (уровень значимости = 0,05).

Результаты. У людей в исследуемых популяциях было найдено 7 (4–12) регионов высокой гомозиготности общей длиной 15 (7,5–35,2) Mb. В популяциях коренного населения Сибири, по количеству и суммарной длине ROH образуется два кластера, в первый кластер входят якуты, кеты и ханты, во второй кластер – тувинцы и буряты (рис. 1, 2). В популяциях коренного населения Сибири количество и суммарная длина ROH значительно выше, чем в остальных популяциях Северной Евразии, за исключением карел и удмуртов, не показывающих значимых отличий с бурятами и тувинцами.

Выводы. Количество и общий суммарный размер длинных ROH, показывающих более высокие значения для исследуемых популяций Сибири, могут отражать генетико-демографические события, происходящие в популяциях, такие как эффект основателя или недавний инбридинг, вызванные миграциями и изоляцией расстоянием, что было ранее показано для некоторых популяций Сибири с помощью других генетических маркеров.

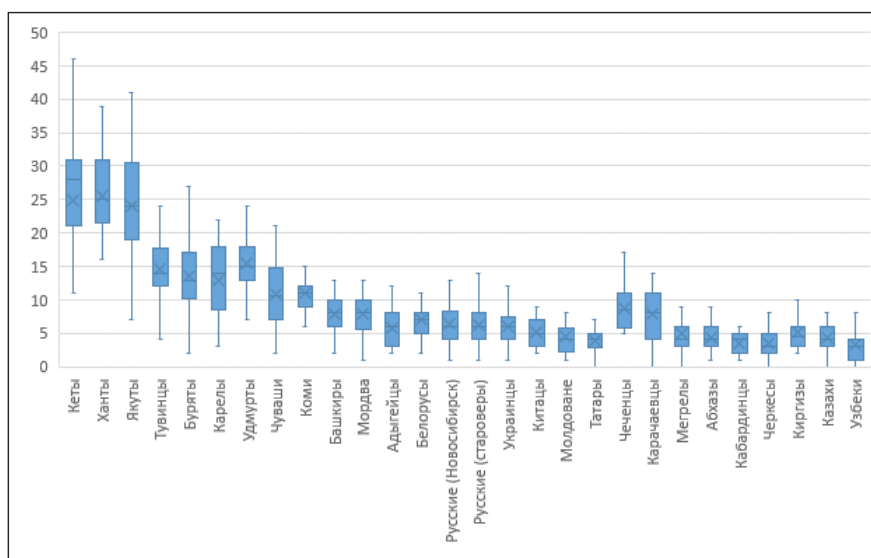


Рис. 1. Диаграмма «ящик с усами», иллюстрирующая количество ROH в исследуемых популяциях

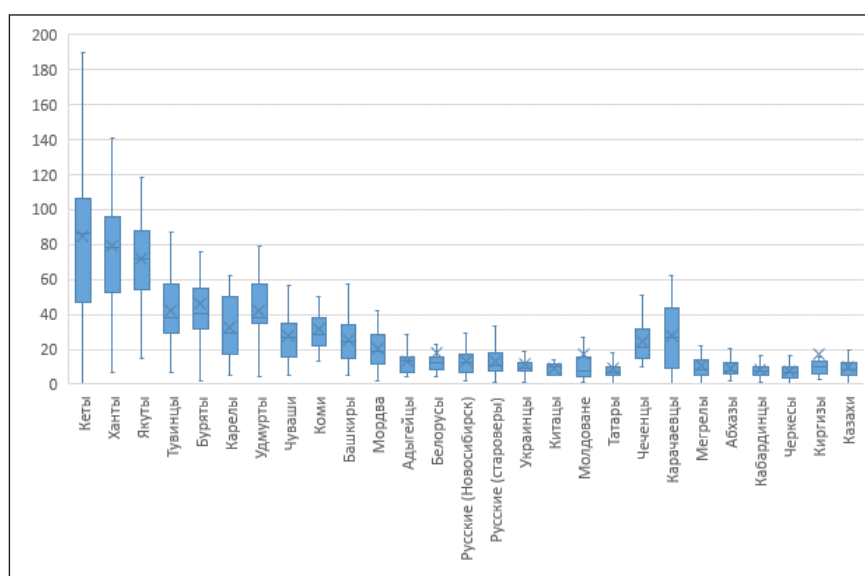


Рис. 2. Диаграмма «ящик с усами», иллюстрирующая сумму длин ROH (Mb) в исследуемых популяциях

ЛИТЕРАТУРА

1. Pemberton T.J., Absher D., Feldman M.W., Myers R.M., Rosenberg N.A., Li J.Z. Genomic Patterns of Homozygosity in World-wide Human Populations. *Am J Hum Genet.* 2012 Aug 10; 91(2): 27592. doi: 10.1016/j.ajhg.2012.06.014.
2. Ropers H.H. New Perspectives for the Elucidation of Genetic Disorders. *Am J Hum Genet.* 2007 Aug; 81(2): 199207.
3. Triska P., Chekanov N., Stepanov V., Khusnutdinova E.K., Kumar G.P.A., Akhmetova V., Babalyan K., Boulygina E., Kharkov V., Gubina M., Khidiyatova I., Khitrinskaya I., Khrameeva E.E., Khusainova R., Kononova N., Litvinov S., Marusin A., Mazur A.M., Puzyrev V., Ivanoshchuk D., Spiridonova M., Teslyuk A., Tsygankova S., Triska M., Trofimova N., Vajda E., Balanovsky O., Baranova A., Skryabin K., Tatarinova T.V., Prokhorichouk E. Between Lake Baikal and the Baltic Sea: genomic history of the gateway to Europe. *BMC Genet.* 2017 Dec 28; 18(Suppl 1): 110. doi: 10.1186/s12863-017-0578-3.
4. Shaun Purcell, Christopher Chang. PLINK [1.9] [Interbet]. URL: www.cog-genomics.org/plink/1.9/ (дата обращения: 1.05.2018).

АНАЛИЗ СВЯЗИ УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ MIR10B И MIR21 С НЕСТАБИЛЬНОСТЬЮ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК СОННЫХ АРТЕРИЙ

Ю.А. Королёва¹, А.В. Марков¹, А.Н. Казанцев², О.Л. Барбараш²,
М.С. Назаренко^{1,2}

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия²

Аннотация

Изменение экспрессии микроРНК miR-10b и miR-21 связано с нестабильностью атеросклеротического поражения артерий и регулируется посредством метилирования. Мы провели исследование уровня метилирования промоторов генов MIR10B и MIR21 в лейкоцитах больных с гистологически и клинически стабильным и нестабильным атеросклеротическим поражением сонных артерий. Установлено, что при клинической нестабильности атеросклеротического поражения сонных артерий в лейкоцитах периферической крови снижается уровень метилирования промотора гена MIR10B.

Ключевые слова: MIR10B, MIR21, атеросклероз, метилирование, микроРНК, нестабильность.

ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF MIR10B AND MIR21 GENES PROMOTERS METHYLATION LEVEL WITH INSTABILITY OF CAROTID ATHEROSCLEROTIC PLAQUES

Yu.A. Koroleva¹, A.V. Markov¹, A.N. Kazantsev², O.L. Barbarash², M.S. Nazarenko^{1,2}

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Federal State Budget Scientific Institution «Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases», Kemerovo, Russia²

Аннотация

The variability of the expression of miR-10b and miR-21 microRNAs is associated with instability of atherosclerotic lesions of the arteries and is regulated by methylation. We performed a study of methylation levels of MIR10B and MIR21 gene promoters in leukocytes in patients with histologically and clinically stable and unstable atherosclerotic lesions of carotid arteries. We found that in clinical instability of carotid atherosclerotic lesions the level of methylation of the MIR10B gene promoter decreases in peripheral blood leukocytes.

Keywords: MIR10B, MIR21, atherosclerosis, instability, methylation, miRNA.

Одной из основных причин смертности в мире является ишемический инсульт – вид острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), в основе которого лежит нестабильность и разрыв атеросклеротической бляшки сонных артерий. Многие биологические процессы, ведущие к дестабилизации атеросклеротической бляшки, регулируются малыми некодирующими молекулами – микроРНК. Согласно данным литературы, с нестабильностью атеросклеротического поражения артерий связано изменение экспрессии таких микроРНК, как miR-10b и miR-21, которое, в свою очередь, регулируется посредством метилирования CpG-сайтов в промоторных областях генов *MIR10B* и *MIR21* [1]. Однако отсутствуют исследования по сравнению уровня метилирования данных генов в лейкоцитах крови и атеросклеротических бляшках между больными со стабильным и нестабильным атеросклеротическим поражением артерий.

Цель исследования – оценить связь уровня метилирования в промоторных регионах генов *MIR10B* и *MIR21* в клетках атеросклеротических бляшек сонных артерий и лейкоцитах

периферической крови с клинической и гистологической нестабильностью атеросклеротического процесса.

Материал и методы. В выборку пациентов с атеросклерозом сонных артерий вошли 135 человек (средний возраст $63,3 \pm 7,5$ лет), из них 113 мужчин ($63,5 \pm 7,7$ года) и 22 женщины ($62,6 \pm 6,3$ года). У всех пациентов при ультразвуковом исследовании ангиографии был обнаружен стеноз $>70\%$ сонной артерии. Комплексное обследование пациентов и сбор биологического материала проводились в ФГБУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово; от всех пациентов получено письменное информированное согласие.

Инфаркт миокарда в анамнезе был зарегистрирован у 47 (35,3 %) больных, а ОНМК (транзиторные ишемические атаки, инсульт) выявлено у 62 (46 %) пациентов. У 100 % больных наблюдалась артериальная гипертензия. Гиперхолестеринемия в анамнезе была отмечена у 107 (80,5 %) пациентов. Сахарный диабет 2 типа и метаболический синдром выявлены у 37 (27,8 %) и 99 (74,4 %) больных соответственно. Факт курения отмечался у 98 (73,7 %) пациентов.

Образцы атеросклеротических бляшек сонных артерий были получены при каротидной эндартерэктомии. Для 22 образцов из выборки было проведено гистологическое исследование, в результате которого атеросклеротические бляшки сонных артерий были разделены на стабильные ($n=9$) и нестабильные ($n=13$) согласно классификации Stary H.C. et al. [2]. Образцы периферической крови получены от тех же пациентов до оперативного вмешательства. Все образцы хранились -80°C . Из каждого образца атеросклеротических бляшек после предварительной гомогенизации, а также из образцов лейкоцитов периферической крови была выделена ДНК с использованием стандартного фенол-хлороформного метода.

Каждый образец ДНК модифицировали бисульфитом натрия, затем проводили полимеразную цепную реакцию на участки промоторов генов *MIR10B* и *MIR21* и проверку её результатов методом электрофореза в 3% агарозном геле. Последовательность ПЦР-праймеров на промоторный регион *MIR10B* была взята из публикации Kim et al. [3], а праймеры на промоторный регион гена *MIR21* – из публикации Adams et al. [4].

Пироквенирование амплифицированных участков, включающих 4 CpG-сайта промоторного региона гена *MIR10B* и 3 CpG-сайта, относящихся к промоторному региону гена *MIR21*, было выполнено на приборе PyroMark Q24 (Qiagen). Для каждого образца были получены данные об уровне метилирования изучаемого CpG-сайта в процентах.

Статистический анализ данных, полученных как для каждого CpG-сайта в отдельности, так и регионов в целом, проводился в программном обеспечении PSPP-0.10.4 (Free Software Foundation). Сравнение проводилось между группами пациентов со стабильным и нестабильным атеросклеротическим поражением сонных артерий. При этом отдельно учитывались критерии как гистологической нестабильности атеросклеротической бляшки (преимущественно тип VI по Stary H.C. et al. [2]), так и клинической нестабильности, определяемой как наличие в анамнезе пациента ОНМК, т.е. транзиторной ишемической атаки или ишемического инсульта.

Сравнение уровней метилирования CpG-сайтов между группами было выполнено с использованием критериев Краскела – Уоллиса и Манна – Уитни.

Результаты и обсуждение. Выявлено, что уровень метилирования CpG-сайтов *cg27160395* и *cg12215739* промоторного региона гена *MIR10B* в лейкоцитах больных с клинической нестабильностью атеросклеротического поражения сонных артерий (то есть наличием ОНМК) статистически значимо ниже, чем в лейкоцитах больных с клинически стабильным атеросклеротическим поражением. Для *cg27160395* наблюдается снижение на 2,9 % ($25,4 \pm 8,6\%$ против $28,3 \pm 8,4\%$, $p=0,03$), а для *cg12215739* – на 2,7 % ($19,0 \pm 5,4\%$ против $21,7 \pm 6,8\%$, $p=0,017$). Для других CpG-сайтов промоторного региона гена *MIR10B*, а также промоторного региона гена *MIR21* не установлено различий между группами больных с клинически стабильным и нестабильным атеросклеротическим поражением сонных артерий как в бляшках артерий, так и в лейкоцитах периферической крови.

При сравнении групп пациентов с гистологически стабильным и нестабильным атеросклеротическим поражением сонных артерий значимых различий уровня метилирования не выявлено ни для одного CpG-сайта. Это может быть связано с малым количеством гистологически охарактеризованных образцов, поэтому для подтверждения или опровержения снижения уровня метилирования ДНК при клинической нестабильности атеросклеротического поражения требуется проведение исследования на расширенной выборке. При подтверждении выявленной закономерности полученные данные смогут послужить для определения новых биомаркеров нарушения стабильности атеросклеротических бляшек и разработки диагностических панелей.

Выводы. Уровень метилирования ДНК отдельных CpG-сайтов в области промотора гена *MIR10B* в лейкоцитах периферической крови пациентов снижается при развитии нестабильности атеросклеротического поражения сонных артерий.

Исследование выполнено при поддержке РНФ (грант № 16-15-10150).

ЛИТЕРАТУРА

1. Feinberg M.W., Moore K.J. MicroRNA regulation of atherosclerosis. *Circulation research*. 2016; 118(4): 703–20.
2. Stary H.C., Chandler A.B., Glagov S., Guyton J.R., Insull W., Rosenfeld M.E., Schaffer S.A., Schwartz C.J., Wagner W.D., Wissler R.W. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1994; 89(5): 2462–78.
3. Kim K., Lee H.C., Park J.L., Kim M., Kim S.Y., Noh S.M., Song K.-S., Kim J.C., Kim Y.S. Epigenetic regulation of microRNA-10b and targeting of oncogenic MAPRE1 in gastric cancer. *Epigenetics*. 2011; 6(6): 740–51. doi: 10.4161/epi.6.6.15874.
4. Adams A.T., Kennedy N.A., Hansen R., Venham N.T., O'Leary K.R., Drummond H.E., Noble C.L., El-Omar E., Russell R.K., Wilson D.C., Nimmo E. R., Satsangi J. Two-stage genome-wide methylation profiling in childhood-onset Crohn's Disease implicates epigenetic alterations at the VMP1/MIR21 and HLA loci/ *Inflamm. Bowel Dis*. 2014; 20(10): 1784–93. doi: 10.1097/MIB.0000000000000179.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МАРКЕРА RS738409 ГЕНА *PNPLA3* У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)

Х.А. Куртанов, Л.А. Сыдыкова, Н.И. Павлова, Н.П. Филиппова,
Г.А. Апсолихова, Н.А. Соловьева, В.В. Додохов, М.А. Варламова,
А.Т. Дьяконова, Л.М. Неустроева, Н.В. Борисова

ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», г. Якутск, Россия

Аннотация

Изучен полиморфизм *I148M* гена *PNPLA3* у больных сахарным диабетом 2-го типа якутской национальности. Выявлено преобладание генотипа GG (58,5 %) с частотой аллеля G 74,1 %. Можно предположить, что высокая частота мутантного аллеля G полиморфизма *I148M* у якутов может являться одной из причин нарушения механизма липидного обмена в печени и СД 2-го типа

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, НАЖБП, ген адипонутрина, *PNPLA3*, rs738409, *I148M*.

MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF THE MARKER RS738409 OF THE *PNPLA3* GENE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES IN THE REPUBLIC OF SAKHA (YAKUTIA)

HA. Kurtanov, L.A. Sydykova, N.I. Pavlova, N.P. Filippova, G.A. Apsolikhova,
N.A. Solovyova, V.V. Dodokhov, M.A. Varlamov, A.T. Dyakonova,
LM Neustroeva, N.V. Borisova

Federal State Budgetary Institution «Yakut science center of complex medical problems», Yakutsk, Russia

Abstract

Polymorphism of the *I148M* gene of the *PNPLA3* gene was studied in patients with type 2 diabetes of the Yakut nationality. The predominance of the GG genotype (58.5 %) was found with a G 74.1 % allele frequency. It can be assumed that the high frequency of the mutant allele G of *I148M* polymorphism in the Yakuts can be one of the causes of disturbance of the mechanism of lipid metabolism in the liver and type 2 diabetes

Keywords: type 2 diabetes mellitus, NAFLD, adiponuclear gene, *PNPLA3*, rs738409, *I148M*, Yakuts.

Актуальность. Одной из наиболее социально значимых патологий в Якутии является сахарный диабет 2-го типа (СД 2). По данным Росстат, общая численность пациентов с СД 2-го типа в республике составляет 20508 чел. Эпидемиологические данные свидетельствуют о частом сочетании сахарного диабета 2-го типа и неалкогольной жировой болезни печени

(НАЖБП) [1]. Пациенты с СД 2 инсулинорезистентны, часто страдают ожирением, имеют дислипидемию и повышенную активность печеночных ферментов, для них характерна тенденция к накоплению жира в печени независимо от ИМТ (индекс массы тела), тем самым они имеют более высокий риск развития тяжелого заболевания печени по сравнению с пациентами без диабета [2].

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) относится к наиболее часто встречающимся хроническим заболеваниям печени. Частота встречаемости данного заболевания оценивается в 20–30 % в общей популяции и 67–75 % в популяции людей, страдающих ожирением [3]. Распространенность НАЖБП среди пациентов СД 2-го типа составляет 60–80 % [8].

Одним из кандидатных генов, вовлеченных в патогенез НАЖБП, является ген *PNPLA3*. Ряд исследований выявил ассоциацию гена *PNPLA3* с развитием НАЖБП [4]. Полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) показал, что SNP в гене *PNPLA3* влияют на уровни ферментов печени в плазме [4]. Ассоциация полиморфизма rs738409 *I148M* с сахарным диабетом 2 типа и НАЖБП была подтверждена в нескольких этнических и географических группах. **Цель работы** – провести анализ вариабельности гена *PNPLA3* при сахарном диабете 2-го типа у якутов.

Материал и методы. Исследование проводилось в лаборатории наследственной патологии ЯНЦ КМП. Для исследования использованы образцы ДНК из коллекции биоматериала ЯНЦ КМП, г. Якутск. Выборка включает 106 пациентов якутской национальности из эндокринологического отделения РБ № 2-Центра экстренной медицинской помощи с диагнозом СД 2 (79 женщин и 27 мужчин) в возрасте от 31 до 82 лет. У всех пациентов изучался полиморфизм rs738409 гена *PNPLA3*. Образцы геномной ДНК выделяли из цельной крови пациентов стандартным фенол-хлороформным методом. Однонуклеотидный полиморфизм (SNP) определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Использовались специфичные праймеры (форвард праймер: 5'-TGGGCCTGAAGTCCGAGGGT-3' и реверс праймер: 5'-CCGACACCAGTGCCCTGCAG-3') (ООО «Биотех-Индустрия», г. Москва). После ПЦР амплификат разрезался с помощью эндонуклеазы рестрикции BstF5 I (ООО «СибЭнзим», г. Новосибирск) при индивидуальных для фермента условиях (рис. 1).

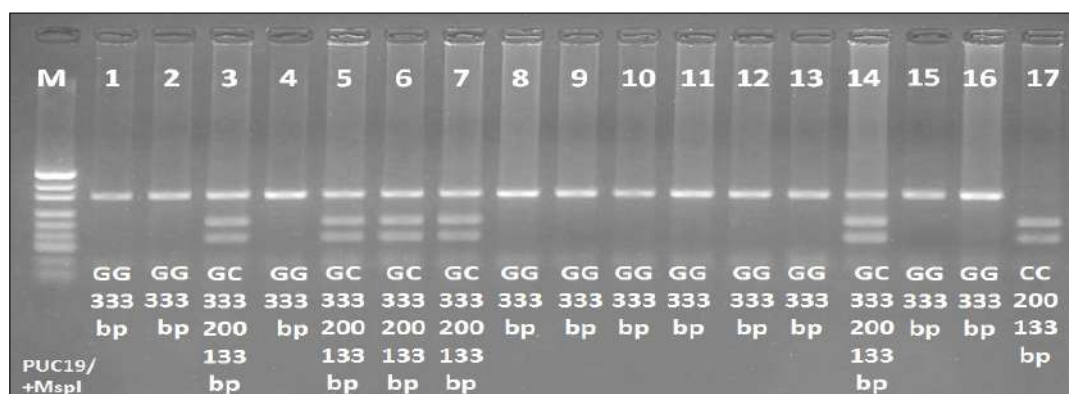


Рис. 1. Электрофореграмма продукта амплификации участка гена *PNPLA3* в 4 % агарозном геле. 17 – генотип CC, 3, 5, 6, 7, 14 – генотип GC, 1, 2, 4, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16 – генотип GG. М – маркер *PUC19/+Msp I*. bp – пар оснований

Результаты и обсуждение. Сравнительный анализ распределения частоты аллелей и генотипов полиморфного гена *PNPLA3* (rs738409) в выборке якутов, страдающих СД 2-го типа, выявил преобладание генотипа GG (58,5 %), значительно реже – генотип CC (10,4 %). Гетерозиготный генотип GC наблюдали у 31,1 % пациентов. Анализ распределения аллелей полиморфного локуса *PNPLA3* (rs738409) показал более высокую частоту аллеля G – 74,1 %. Распределение генотипов полиморфизма rs738409 в исследованной выборке ($p > 0,05$) находилось в равновесии Харди – Вайнберга. Высокая частота аллеля G (74,1 %) у больных СД 2-го типа связана с высокой частотой его встречаемости среди здоровой популяции якутов (76,8 %) [5].

Заключение. Частота мутантного аллеля полиморфизма rs738409 гена *PNPLA3* выше, чем в других популяциях мира. Можно предположить, что высокая частота мутантного аллеля G полиморфизма *I148M* у якутов может являться одной из причин нарушения механизма

липидного обмена в печени и СД 2-го типа, что требует тщательного исследования на более крупных выборках больных сахарным диабетом 2-го типа.

Исследование поддержано программой развития биоресурсных коллекций ФАНО (проект №0556-2017-0003)

ЛИТЕРАТУРА

1. Бирюкова Е.В., Родионова С.В. Сахарный диабет 2-го типа и неалкогольная жировая болезнь печени – болезни современности. Медицинский альманах. 2017; 6(51): 130135.
2. Sinha A., Rajan M., Hoerger T., Pogach L. Costs and consequences associated with newer medications for glycemic control in type 2 diabetes. Diabetes Care. 2010 Apr;33(4): 695700. doi: 10.2337/dc09-1488.
3. Каримов М.М., Далимова Д.А., Собирова Г.Н., Саатов З.З., Хамдамова Ш.Ж. Исследование ассоциации полиморфизма гена PNPLA3 с неалкогольной жировой болезнью печени в узбекской популяции. Евразийский журнал внутренней медицины. 2015; 02(02): 2527.
4. Romeo S., Sentinelli F., Dash S., Yeo G.S., Savage D.B., Leonetti F., Capoccia D., Incani M., Maglio C., Iacovino M., O'Rahilly S., Baroni M.G. Morbid obesity exposes the association between PNPLA3 I148M (rs738409) and indices of hepatic injury in individuals of European descent. Int J Obes (Lond). 2010 Jan; 34(1): 1904. doi: 10.1038/ijo.2009.216.
5. Куртанов Х.А., Павлова Н.И., Филиппова Н.П., Ансолихова Г.А., Додохов В.В., Соловьева Н.А. Молекулярно-генетический анализ маркера rs738409 гена адипонутрина (PNPLA3) в популяции якутов. В кн.: Степанов В.А. Генетика человека и патология. Материалы XI научной конференции; 2017 ноября. 2730. Томск: Изд-во Литературное бюро; 2017. 8284.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕНОВ В НЕЙРОНАХ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК ПАЦИЕНТОВ С ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ И РЕЦИПРОКНЫМИ МИКРОСТРУКТУРНЫМИ ХРОМОСОМНЫМИ МИКРОДЕЛЕЦИЯМИ И МИКРОДУПЛИКАЦИЯМИ

М.Е. Лопаткина¹, В.С. Фишман²

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия²

Аннотация

Проведен полнотранскриптомный анализ генной экспрессии в нейронах, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток с микроделецией и микродупликацией гена CNTN6, выделенного в наших предыдущих исследованиях в качестве кандидата для интеллектуальных нарушений. При сравнении уровней экспрессии генов в нейронах с делецией и нормальным кариотипом было выявлено 756 дифференциально экспрессирующихся генов – 142 гипер- и 614 гипозэкспрессирующихся генов. Сравнение уровней экспрессии генов в нейронах с дупликацией и нормальным хромосомным набором выявило 3741 дифференциально экспрессирующийся ген – 2926 гипер- и 815 гипозэкспрессирующихся генов. Показано, что в нейронах с вариациями числа копий CNTN6 наблюдается сниженная экспрессия генов, продукты которых вовлечены в ключевые для развития мозга биологические процессы: регуляцию синаптической передачи, рост и функционирование нервной системы и нейронов, нейрогенез, а также в регуляцию клеточного морфогенеза.

Ключевые слова: идиопатические интеллектуальные расстройства, микроделеционные/микродупликационные синдромы, CNTN6, дифференциальная экспрессия генов, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки.

DIFFERENTIAL GENE EXPRESSION IN NEURONS, DERIVED FROM INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS OF PATIENTS WITH MENTAL RETARDATION AND RECIPROCAL CHROMOSOMAL MICRODELETIONS AND MICRODUPLICATIONS

M.E. Lopatkina¹, V.S. Fishman²

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia²

Abstract

The transcriptome analysis of iPSC-derived neurons with the microdeletion and microduplication of CNTN6 gene was performed. The comparison of gene expression levels in neurons with deletion and normal CNTN6 copy number revealed 756 differentially expressed genes – 142 upregulated and 614 downregulated genes. The comparison of gene expression levels in neurons with duplication and normal CNTN6 copy number revealed 3741 differentially expressed genes – 2926 upregulated and 815 downregulated genes. The transcriptome analysis of iPSC-derived neurons with CNTN6 copy number variations revealed the downregulation of genes, whose products are involved in key biological processes for brain development: synaptic signalling, nervous system and neurons development, neurogenesis and regulation of cellular morphogenesis.

Keywords: idiopathic intellectual disability, microdeletion/microduplication syndromes, CNTN6, differential gene expression, induced pluripotent stem cells.

Актуальность. Синдромы реципрокных микроделений и микродупликаций (так называемые genomic sister-disorders) входят в активно изучаемую группу заболеваний, обусловленных микроструктурными абберациями хромосом, и характеризуются разнонаправленным изменением копийности одного и того же участка ДНК [1]. Данные синдромы представляют особый интерес для ученых и врачей-генетиков, поскольку позволяют проследить, как влияет на фенотип пациента увеличение или уменьшение числа копий определенных генов, и сделать предположение об их роли в патогенезе хромосомного синдрома. Изучение случаев реципрокных микроделений и микродупликаций, затрагивающих единственный ген, позволяет детальнее изучить патогенез данных состояний.

Проводимое в лаборатории цитогенетики НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ изучение недифференцированных форм умственной отсталости позволило впервые описать 2 случая уникальных реципрокных хромосомных мутаций, затрагивающих единственный ген CNTN6, экспрессирующийся преимущественно в ЦНС [2]. Показано, что мутации, затрагивающие ген CNTN6, могут приводить к возникновению аутизма, интеллектуальных нарушений, шизофрении, синдрома дефицита внимания и гиперактивности и биполярного расстройства [3].

В проведенной нами работе на материале нейронов, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) с дупликацией гена CNTN6, было показано снижение уровня экспрессии данного гена по сравнению с его уровнем экспрессии в нейронах без дупликации [4]. Настоящее исследование было направлено на полнотранскриптомный анализ дифференциальной экспрессии генов в нейронах с вариациями числа копий CNTN6.

Материал и методы. Два клона ИПСК с делецией CNTN6, 2 клон ИПСК с дупликацией CNTN6 и 3 клон ИПСК, полученных от здоровых доноров с нормальным кариотипом, были дифференцированы с кортикальными нейронами. Выделенная из полученных нейронов РНК была использована для полнотранскриптомного анализа на микрочипах SurePrint G3 Human Gene Expression 8×60K Microarray Kit (Agilent Technologies, США), содержащих последовательности для 27958 РНК-транскриптов генов и 7419 длинных некодирующих РНК. Полученные результаты были использованы в биоинформационном анализе (уровень значимости $p < 0,05$; минимальные различия в уровне экспрессии в группе «делеция-норма»=2, в группе «дупликация-норма»=4). Для выявления функциональных групп генов был проведен анализ обогащения генов с помощью ресурса WEB-based GENE SeT Analysis Toolkit.

Результаты. Сравнение уровней экспрессии генов в группе «делеция CNTN6 – норма» выявило 756 дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) – 142 гипер- и 614 гипоекспрессирующихся генов. Проведенный анализ обогащения показал, что продукты гиперэкспрессирующихся генов в нейронах с делецией CNTN6 участвуют в процессах регуляции ответа на действие глюкокортикоидов и кортикостероидов, формировании астроцитов и трансмембранном транспорте основных аминокислот. Сниженная экспрессия была характерна для генов, продукты которых вовлечены в регуляцию синаптической передачи, трансинаптической передачи, антероградной транссинаптической передачи, передачи сигнала в химическом синапсе и сигналов между клетками, в развитие и формирование нервной системы и нейронов, а также регуляцию потенциала постсинаптической мембраны.

Сравнение уровней экспрессии в группе «дупликация CNTN6 – норма» выявило 3741 ДЭГ – 2926 гипер- и 815 гипоекспрессирующихся генов. Было показано, что продукты гиперэкспрессирующихся генов в нейронах с дупликацией CNTN6 вовлечены в регуляцию таких биологических процессов, как гистогенез, регуляция клеточной пролиферации и организация внеклеточного матрикса. Продукты гипоекспрессирующихся генов участвуют в процессах развития и формирования нервной системы, нейрогенезе, генерации и дифференцировке предшественников нейронов, регуляции клеточного морфогенеза, негативной регуляции метаболических процессов в клетке, в частности, связанных с метаболизмом азотсодержащих соединений.

Выводы. Примечательно, что, несмотря на значительные различия в количестве ДЭГ в группах «делеция CNTN6 – норма» и «дупликация CNTN6 – норма», отмечается тенденция к снижению экспрессии генов, продукты которых вовлечены в ключевые для развития мозга биологические процессы: регуляцию синаптической передачи, рост и функционирование нервной системы и нейронов, нейрогенез, а также в регуляцию клеточного морфогенеза. В дальнейшем проведение более тщательного анализа поможет сузить круг ДЭГ, что позволит детальнее изучить молекулярные и клеточные механизмы патогенеза данных реципрокных синдромов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ «Клеточные и молекулярные механизмы патогенеза хромосомных болезней» (грант РНФ, № 14-15-00772).

ЛИТЕРАТУРА

1. Crespi B, Summers K, Dorus S. Genomic sister-disorders of neurodevelopment: an evolutionary approach. *Evol Appl.* 2009 Feb; 2(1): 81–100. doi: 10.1111/j.1752-4571.2008.00056.x.
2. Kashevarova A.A., Nazarenko L.P., Schultz-Pedersen S., Skryabin N.A., Salyukova O.A., Chechetkina N.N., Tolmacheva E.N., Rudko A.A., Magini P., Graziano C., Romeo G., Joss S., Tümer Z., Lebedev I.N. Single gene microdeletions and microduplication of 3p26.3 in three unrelated families: CNTN6 as a new candidate gene for intellectual disability. *Mol Cytogenet.* 2014 Dec 31; 7(1): 97. doi: 10.1186/s13039-014-0097-0.
3. Oguro-Ando A., Zuko A., Kleijer K.T.E., Burbach J.P.H. A current view on contactin-4, -5, and -6: Implications in neurodevelopmental disorders. *Mol Cell Neurosci.* 2017 Jun; 81: 7283. doi: 10.1016/j.mcn.2016.12.004.
4. Gridina M.M., Matveeva N.M., Fishman V.S., Menzorov A.G., Kizilova H.A., Beregovoy N.A., Kovrigin I.I., Pristiyazhnyuk I.E., Osorbin I.P., Filipenko M.L., Kashevarova A.A., Skryabin N.A., Nikitina T.V., Sazhenova E.A., Nazarenko L.P., Lebedev I.N., Serov O.L. Allele-specific biased expression of the CNTN6 gene in iPS Cell-derived neurons from a patient with intellectual disability and 3p26.3 microduplication involving the CNTN6 gene. *Mol Neurobiol.* 2018 Jan 11. doi: 10.1007/s12035-017-0851-5.

СВЯЗЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ МИКРОРНК СО СТАБИЛЬНОСТЬЮ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКИ

**А.В. Марков¹, М.С. Назаренко^{1,2,3}, А.Н. Кучер¹, Ю.А. Королева¹,
А.А.Зарубин^{1,2}, Д.В. Шарыш², О.Л. Барбараш³, В.П. Пузырёв^{1,2}**

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия²
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия³

Аннотация

МикроРНК вовлечены в различные патологические процессы, протекающие при формировании и осложнении атеросклеротической бляшки. В настоящем исследовании была изучена связь профилей

метилирования генов микроРНК в клетках атеросклеротических бляшек сонных артерий со стабильностью атеросклеротической бляшки и другими патогенетически значимыми признаками атеросклероза. Выявлено умеренное изменение уровня метилирования по 120 CpG-сайтам, расположенным в пределах 1,5 кб от 105 известных генов микроРНК в клетках нестабильных атеросклеротических бляшек по сравнению со стабильными в сочетании с сохранением тканеспецифического паттерна метилирования ДНК.

Ключевые слова: метилирование ДНК, микроРНК, атеросклероз.

THE RELATIONSHIP BETWEEN DNA METHYLATION OF MICRORNA GENES AND ATHEROSCLEROTIC PLAQUE STABILITY

A.V. Markov¹, M.S. Nazarenko^{1,2,3}, A.N. Kucher¹, Iu.A. Koroleva¹, A.A. Zarubin^{1,2}, D.V. Sharysh², O.L. Barbarash³, V.P. Puzyrev^{1,2}

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia³

Аннотация

MicroRNAs are involved in different pathological processes occurring in atherosclerotic plaque formation and destabilization. We investigated the relationship between DNA methylation profile within microRNA genes in cells of carotid atherosclerotic plaques and plaque stability as well as other clinical features pathogenetically significant for atherosclerosis. DNA methylation level of 120 CpG sites located within 1,5 kb regions neighboring known 105 microRNA genes showed moderate alteration in unstable atherosclerotic lesions compared to stable plaques in combination with preservation of tissue specific DNA methylation pattern.

Keywords: DNA methylation, microRNA, atherosclerosis.

Введение. МикроРНК – малые некодирующие РНК, которые участвуют в регуляции экспрессии генов на посттранскрипционном уровне. В последнее время активно изучается роль данных молекул в развитии атеросклероза [1]. Одним из ключевых этапов атерогенеза является процесс дестабилизации атеросклеротической бляшки – перехода стабильной фиброатеромы в уязвимую бляшку, нарушение целостности её покрышки, приводящее к тромбозу, окклюзии артерий и острым ишемическим нарушениям (ишемический инсульт, инфаркт миокарда). Изменение экспрессии ряда микроРНК зарегистрировано и предложено в качестве биомаркеров нестабильности атеросклеротической бляшки [2]. Однако имеется недостаток сведений в отношении метилирования генов микроРНК при данном процессе – одного из ключевых механизмов регуляции транскрипционной активности генов. Поэтому в настоящей работе мы провели сравнительную характеристику профилей метилирования генов микроРНК в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках сонных артерий.

Материал и методы. Атеросклеротические бляшки сонных артерий были получены от 16 пациентов (5 мужчин, 11 женщин в возрасте 65±6 лет). Биологический материал был разделен на несколько частей. Одна часть использовалась для гистологической верификации типа (стадии) атеросклеротической бляшки, оценки её стабильности и ряда патоморфологических параметров бляшки. Анализируемые образцы были поровну распределены на 2 группы стабильных и нестабильных бляшек (N=8 в каждой). Другая часть материала была использована для выделения ДНК с последующей обработкой бисульфитом натрия и анализом метилирования ДНК на микрочипах «Infinium MethylationEPIC BeadChip» (Illumina). Данные микрочипы содержат ДНК-зонды для оценки уровня метилирования более 850 000 CpG-сайтов, распределенных по всему геному. Обработка результатов гибридизации на микрочипах и статистический анализ были проведены в программной среде R с использованием пакетов Bioconductor (minfi, shinyMethyl, limma). Оценкой уровня метилирования ДНК служила величина β, отражающая долю метилированных остатков цитозина в отдельной CpG-позиции ДНК в образце. Для сравнения групп образцов с разной стабильностью был использован дисперсионный анализ с эмпирической байесовской коррекцией дисперсии для выборок малого объема [3].

Результаты. Согласно аннотации к микрочипам, с учетом данных о хромосомной локализации CpG-сайтов и микроРНК в соответствии с версией генома человека GRCh37 и базы данных miRBase 21, для 9906 CpG-сайтов в регионе их локализации и на расстоянии $\pm 1,5$ кб находились гены микроРНК. Из них только 5727 CpG-сайтов имели размах (разницу между максимальным и минимальным значениями) межиндивидуальной изменчивости метилирования более 10 % и поэтому считались вариабельными. Сравнительный анализ метилирования вариабельных CpG-сайтов между стабильными и нестабильными атеросклеротическими бляшками выявил умеренное снижение уровня метилирования в нестабильных бляшках по 116 CpG-сайтам, которые расположены в 89 хромосомных регионах, содержащих 101 ген микроРНК ($\Delta\beta = -0,1$; $p < 0,01$). Регионы, включающие 2 и более CpG-сайтов, гипометилированных в нестабильных бляшках, располагались в области генов микроРНК (*MIR1-1HG*, *MIR17HG*, *MIR431*, *MIR657* и др.), участие которых на разных стадиях атерогенеза было описано в литературе [1]. Среди них были локусы, кодирующие miR-100, miR-127, miR-133a и miR-133b, для которых показано повышение уровня экспрессии в нестабильной бляшке и участие в пролиферации и миграции гладкомышечных клеток [4].

Гиперметилирование в нестабильных бляшках относительно стабильных образцов было характерно только для 4 CpG-сайтов, расположенных в районе генов *MIR587*, *MIR1250*, *MIR4500* и *MIR7704* ($\Delta\beta = 0,1$; $p < 0,01$). При этом паттерн метилирования дифференциально метилированных (ДМ) CpG-сайтов сохранял тканеспецифичность, характерную для атеросклеротических бляшек сонных артерий, независимо от их состояния.

При анализе главных компонент, основанных на профиле метилирования ДМ сайтов, первые две компоненты коррелировали с особенностями морфологии бляшки: величиной липидного ядра, наличием разрывов покрышки и кровоизлияния ($\rho = -0,5 \div -0,6$), а также количеством макрофагов в бляшке ($\rho = 0,6$; $p < 0,05$).

Выводы. При дестабилизации атеросклеротической бляшки наблюдается изменение (преимущественно снижение) уровня метилирования целого ряда генов микроРНК, участвующих в ключевых патологических процессах на данной стадии развития атеросклероза.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ, грант № 16-15-10150.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кучер А.Н., Назаренко М.С. Роль микро-РНК при атерогенезе. Кардиология. 2017; 57(9): 6576.
2. Королева Ю.А., Назаренко М.С., Кучер А.Н. Роль микроРНК в формировании нестабильности атеросклеротических бляшек. Биохимия. 2018; 83(1): 3446.
3. Smyth G.K. Linear models and empirical bayes methods for assessing differential expression in microarray experiments. Stat Appl Genet Mol Biol. 2004; 3: Article3.
4. Cipollone F, Felicioni L, Sarzani R, Uchino S, Spigonardo F, Mandolini C, Malatesta S, Bucci M, Mammarella C, Santovito D., de Lutis F, Marchetti A., Mezzetti A., Buttitta F. A unique microRNA signature associated with plaque instability in humans. Stroke. 2011 Sep; 42(9): 255663. doi: 10.1161/STROKEAHA.110.597575.

МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СЕМЕЙНОГО СЛУЧАЯ КОМПЛЕКСНОЙ ХРОМОСОМНОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ

М.Е. Миньженкова, Ж.Г. Маркова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», г. Москва, Россия

Аннотация

Комплексные хромосомные перестройки (КХП) являются структурными аномалиями с участием двух и более хромосом и наличием более чем двух точек разрывов. Сбалансированные КХП могут быть образованы как путем простого трехэтапного обмена между тремя хромосомами, так и вследствие сложных комплексных транслокаций, вовлекающих четыре или пять хромосом со множеством точек разрывов, инверсий и инсерций. Подавляющее большинство КХП представлено комбинациями транслокаций. Представлен семейный случай молекулярно-цитогенетической диагностики комплексной хромосомной перестройки.

Ключевые слова: комплексные хромосомные перестройки, мейотическая сегрегация, FISH-анализ.

MOLECULAR CYTOGENETIC DIAGNOSIS OF THE FAMILIAL COMPLEX CHROMOSOMAL REARRANGEMENT

M.E. Minzhenkova, Z.G. Markova

Federal State budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics», Moscow, Russia

Abstract

Complex chromosomal rearrangements (CCRs) are structural abnormalities involving more than two chromosomes and more than two breakpoints. The balanced CCRs range from simple three-way exchanges between three chromosomes to highly complex translocations involving four or five chromosomes with multiple breaks, inversions and insertions. The great majority of CCRs are combinations of translocations. We report a molecular cytogenetic diagnosis of the familial CCR.

Keywords: Complex chromosomal rearrangements, meiotic segregation, FISH-analysis.

Актуальность. По литературным данным, примерно 70 % случаев КХП обнаружены у фенотипически нормальных индивидов, 20–25 % – у пациентов с различными врожденными пороками развития и/или умственной отсталостью и 5–10 % случаев диагностированы пренатально [1]. Идентификация структуры и происхождения КХП позволяет оценить повторный риск рождения ребенка с хромосомным дисбалансом, который у носителей сбалансированных КХП повышен.

Материал и методы. Представлен семейный случай молекулярно-цитогенетической диагностики комплексной хромосомной перестройки. Пациент, 5 лет, обследован по поводу задержки физического и психоречевого развития. При стандартном цитогенетическом исследовании по месту жительства определен кариотип 46,XY,t(2;18)(q32;q23). При исследовании кариотипа родителей пациента у матери обнаружена идентичная сбалансированная транслокация. Из анамнеза известно, что у матери была одна неразвивающаяся беременность, в семье есть здоровый ребенок с нормальным кариотипом. Для уточнения цитогенетического диагноза семья обратилась в МГНЦ.

Результаты. FISH-анализ хромосомного препарата пробанда с использованием центромерного ДНК-зонда на хромосому 18 и субтеломерных ДНК-зондов на хромосомы 2, 18 позволил определить, что субтеломерный район длинного плеча хромосомы 2 присутствует на длинном плече дериватной хромосомы 18. Однако на дериватной хромосоме 2 какой-либо сигнал отсутствовал. Аналогичное FISH-исследование, проведенное матери пробанда, помогло установить, что субтеломерный район длинного плеча хромосомы 18 присутствует на длинном плече дериватной хромосомы 3. Следовательно, мать пробанда является носителем сбалансированной транслокации t(2;3;18), что было подтверждено при использовании субтеломерного ДНК-зонда на хромосому 3. Ревизия кариотипа позволила установить точки разрывов (q31;q27;q21), соответственно. mFISH подтвердил наличие у пробанда двух дериватных хромосом – der(2)t(2;3;18), der(18)t(2;3;18), образовавшихся вследствие несбалансированной транслокации материнского происхождения. Таким образом, хромосомный дисбаланс у пробанда определялся частичной трисомией по хромосоме 3 (q27→qter) и частичной моносомией по хромосоме 18 (q21→qter).

Выводы. Как и в случаях с простыми реципрокными транслокациями, носители сбалансированных КХП имеют повышенный риск рождения ребенка с хромосомным дисбалансом, спонтанного прерывания беременности и бесплодия, вследствие мейотической сегрегации и образования дериватных или рекомбинантных хромосом. Различные варианты патологической сегрегации могут быть определены в соответствии со структурой КХП. Представленный в данном исследовании тип КХП, так называемый трехэтапный обмен (three-way exchange), является наиболее распространенным. Он характеризуется образованием гексавалента в период I мейотического деления, позволяя полный синапсис гомологичных сегментов. При этом возможны следующие теоретические варианты патологической мейотической сегрегации: 3: 3, 4: 2, 5: 1 и 6: 0, что приводит к формированию гамет (зигот) с хромосомным дисбалансом [2]. В представленном случае у пробанда наблюдается сегрегация 4: 2. Оценка этих данных необходима для определения повторного риска рождения ребенка с хромосомным дисбалансом.

Диагностика КХП значительно улучшилась благодаря внедрению современных молекулярно-цитогенетических методов. Использование внутривитального арсенала ДНК-зондов (WCP, PCP, CEP, subtelomeric probes, LSI, mFISH, mBAND) иногда является просто необходимым в рутинной цитогенетической практике для полной и качественной диагностики КХП. Представленный семейный случай КХП удалось идентифицировать только с помощью FISH-метода. Все большее число сообщений демонстрируют, что КХП могут быть более сложными и распространенными [3, 4], чем первоначально предполагалось, что требует от цитогенетиков более пристального внимания к определению их точной структуры и происхождения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pellestor F., Anahory T., Lefort G. Complex chromosome rearrangements: origin and meiotic behavior. Hum Reprod Update. 2011; 17(4): 476494. doi:10.1093/humupd/dmr010.
2. Madan K. Balanced complex chromosome rearrangements: reproductive aspects. A review. Am J Med Genet. 2012; Part A 158A: 947963. doi:10.1002/ajmg.a.35220.
3. Gruchy N., Barreau M., Kessler K. A paternally transmitted complex chromosomal rearrangement (CCR) involving chromosomes 2, 6 and 18 includes eight breakpoints and five insertional translocations (ITs) through three generations. Am J Med Genet A. 2010 Jan; 152A(1): 18590. doi: 10.1002/ajmg.a.33154.
4. Guelherme R.S., Cernach M.C.S.P. A complex chromosome rearrangements involving four chromosomes, nine breakpoints and a cryptic 0.6-Mb deletion in a boy with cerebellar hypoplasia and defects in skull ossification. Cytogenet Genome Res. 2013; 141: 317323. doi:10.1159/000353302.

РОЛЬ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В РАЗВИТИИ ЛЕКАРСТВЕННО-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ У ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ

Д.З. Османова, А.С. Бойко

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Одним из распространенных и серьезных побочных эффектов нейролептиков является гиперпролактинемия, которая существенно снижает качество жизни пациентов и в целом затрудняет продолжение антипсихотической терапии. Настоящее исследование было направлено на исследование роли аллельных вариантов генов серотонинергической системы (*HTR1A*, *HTR2A*, *HTR2C*, *HTR3A*) в патогенезе антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии. Было обследовано 446 пациентов с шизофренией. Мы обнаружили статистически значимые результаты для полиморфных вариантов гена *HTR2C* (rs569959, rs17326429, rs12858300).

Ключевые слова: серотонин, пролактин, шизофрения, гиперпролактинемия, гены, рецепторы, фармакогенетика.

THE ROLE OF ALLELIC VARIANTS GENES OF SEROTONERGIC SYSTEM IN THE DEVELOPMENT OF DRUG-INDUCED HYPERPROLACTINAEMIA IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

D.Z. Osmanova, A.S. Boiko

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

One of the widespread and serious side effects of antipsychotic therapy is hyperprolactinemia, which significantly reduces the quality of life of patients and generally complicates continued antipsychotic therapy. The present study aimed to investigate the role of allelic variants of genes of serotonergic system (*HTR1A*,

HTR2A, *HTR2C*, *HTR3A*) in the pathogenesis of antipsychotic-induced hyperprolactinemia. Were examined 446 patients with schizophrenia. We found statistically significant results for polymorphic variants of the gene *HTR2C* (rs569959, rs17326429, rs12858300).

Keywords: serotonin, prolactin, schizophrenia, hyperprolactinemia, genes, receptors, pharmacogenetics.

Актуальность. Синдром гиперпролактинемии встречается у 42–93 % пациентов с шизофренией, длительно получающих нейролептическую терапию [1]. Вероятность развития гиперпролактинемии зависит от фармакологических свойств антипсихотика, его дозы, схемы и длительности приема, а также индивидуальной чувствительности и генетических особенностей пациента [2–4]. Нейролептики являются антагонистами дофаминовых и серотониновых рецепторов, они тормозят выброс дофамина и уменьшают его концентрацию в синаптической щели, ослабляя тормозящее действие нейромедиатора на синтез и выброс пролактина, что, в свою очередь, приводит к гиперпролактинемии [5]. В связи с тем что антипсихотики второй генерации имеют более высокую аффинность к серотониновым рецепторам, гены *HTR1A*, *HTR2A*, *HTR2C* и *HTR3A* являются интересными и перспективными кандидатами для исследования.

Материал и методы. Выборка для исследования составила 446 пациентов Сибирского региона (русская этническая группа), из них 225 женщин и 221 мужчина, средний возраст 42,1±1,4 года. При проведении исследования были соблюдены принципы информированного согласия Хельсинской Декларации Всемирной медицинской ассоциации. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Выделение ДНК проводили из венозной крови стандартным фенол-хлороформным методом. Генотипирование по генам *HTR1A*, *HTR2A*, *HTR2C*, *HTR3A* проводили с использованием The MassARRAY® System by Agena Bioscience™. Контрольные измерения концентрации ДНК производили на приборе Thermo Scientific NanoDrop 8000 UV–Vis Spectrophotometers. Концентрацию пролактина определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов PRL Test System (Monobind Inc., США). Границы нормальных значений содержания гормона пролактина в крови: для мужчин – до 20 нг/мл, для женщин – до 25 нг/мл.

Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы «SPSS 23.0». Распределение частот генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Сравнение частот генотипов в исследуемых группах проводили по критерию χ^2 . Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. Исследуемые больные шизофренией были разделены на две группы в зависимости от концентрации пролактина: с гиперпролактинемией и с нормальным уровнем пролактина. В общей сложности, изучаемый побочный эффект наблюдался у 227 пациентов: 129 женщин и 98 мужчин.

При сравнении частот генотипов генов *HTR1A* (rs6295, rs749099), *HTR2A* (rs6311, rs2224721, rs9316233, rs6313, rs1928040) и *HTR3A* (rs1062613, rs1176713) между группами пациентов с гиперпролактинемией и пациентов без неё статистически значимых различий выявлено не было.

В связи с тем что ген рецептора серотонина *HTR2C* локализован в X-хромосоме и его наследование сцеплено с полом, распределение генотипов изучаемых аллельных вариантов rs569959, rs17326429, rs1801412 и rs12858300 было проанализировано отдельно у женщин и мужчин в группе пациентов с гиперпролактинемией и с нормальным уровнем пролактина.

Для полиморфного варианта rs12858300 гена *HTR2C* была показана ассоциация с развитием гиперпролактинемии у женщин с шизофренией ($\chi^2=9,429$; $p=0,002$). Гомозиготный генотип GG значимо чаще встречается в группе пациентов без гиперпролактинемии и обладает протективным эффектом в отношении развития изучаемого побочного эффекта (OR=0,08; 95 % CI 0,01–0,61).

Статистически значимые результаты были получены для аллельного варианта rs569959 гена *HTR2C* ($\chi^2=5,248$; $p=0,022$), что говорит о его участии в развитии гиперпролактинемии у мужчин с шизофренией. Аллель G ($\chi^2=10,501$, $p=0,001$; OR=2,00; 95 % CI 1,31–3,05) и генотип GG ($\chi^2=5,248$, $p=0,022$; OR=2,00; 95 % CI 1,10–3,63) являются предрасполагающими к развитию нейролептической гиперпролактинемии, тогда как аллель A ($\chi^2=10,501$, $p=0,001$; OR=0,50; 95 % CI 0,33–0,76) полиморфного варианта rs569959 и генотип AA ($\chi^2=5,248$, $p=0,022$; OR=0,50; 95 % CI 0,28–0,91) значимо чаще встречаются у пациентов без изучаемого побочного эффекта и обладают протективными свойствами.

В группе мужчин с шизофренией также были выявлены статистически значимые результаты для аллелей полиморфного варианта rs17326429 гена серотонинового рецептора *HTR2C*. Аллель А является предрасполагающим к развитию гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии ($\chi^2=6,420$, $p=0,010$; OR=2,03; 95 % CI 1,17–3,54). Проективными свойствами в отношении изучаемого побочного эффекта обладает аллель G ($\chi^2=6,420$, $p=0,010$; OR=0,49; 95 % CI 0,28–0,86).

Выводы. В основе нейролептической гиперпролактинемии лежит целый ряд генетических, фармакокинетических и фармакодинамических факторов. Дальнейший поиск генетических маркеров, ассоциированных с развитием побочных действий нейролептической терапии, позволит прогнозировать ответ на введение лекарственного средства, а значит, повысит эффективность терапии и устранил нежелательные лекарственные реакции, что будет способствовать комплаентности пациентов с психическими расстройствами к психотропной терапии.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 14-35-00023 «Лаборатория фармакогенетических исследований персонализированной терапии психических и нейродегенеративных расстройств»

ЛИТЕРАТУРА

1. Горобец Л.Н. Нейроэндокринные дисфункции и нейролептическая терапия. Москва: Медпрактика. 2007. 312.
2. Корнетова Е.Г., Иванова С.А., Семке А.В., Бородюк Ю.Н., Бойко А.С. Гиперпролактинемия как побочный эффект антипсихотической терапии больных шизофренией: пособие для врачей. Томск, 2015.
3. Fedorenko O.Y., Vyalova N.M., Boiko A.S., Pozhidaev I.V., Osmanova D.Z., Rakhmazova L.D., Bokhan N.A., Ivanova S.A., Loonen A.J.M., Ivanov M.V., Freidin M.B. Hyperprolactinemia and cyp2d6, drd2 and htr2c genes polymorphism in patients with schizophrenia. *Physiology and Pharmacology*. 2017 21(1): 2533.
4. Османова Д.З., Фрейдлин М.Б., Федоренко О.Ю., Иванова С.А. Прогноз риска развития антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии на основе генетических показателей. *Фармакогенетика и фармакогеномика*. 2017; 2: 2223.
5. Kapur S., Remington G. Dopamine (D2) receptors and their role in atypical antipsychotic action: still necessary and may even be sufficient. *Biol. Psychiatry*. 2001; 50(Suppl.11): 873–883.

РОЛЬ ЭПИСТАЗА В ФОРМИРОВАНИИ МЕНАРХЕ

И.В. Пономаренко, Е.А. Решетников

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,
г. Белгород, Россия

Аннотация

В статье приведены результаты анализа межгенного взаимодействия двух молекулярно-генетических маркеров rs1544410, rs2241423 у 1613 женщин. Установлено, что эпистатическое взаимодействие полиморфных локусов rs1544410 и rs2241423 ассоциировано с ранним возрастом менархе у женщин Центрального Черноземья России.

Ключевые слова: менархе, генетический полиморфизм, эпистатическое взаимодействие.

THE ROLE OF EPISTASIS IN THE FORMATION OF MENARCHE

I.V. Ponomarenko, E.A. Reshetnikov

FGAOU VO «Belgorod State National Research University», Belgorod, Russia

Abstract

The article presents the results of an analysis of the intergenic interaction of two molecular-genetic markers rs1544410, rs2241423 in 1613 women. It has been established that the epistatic interaction of the polymorphic loci rs1544410 and rs2241423 is associated with the early age of menarche in women in the Central Chernozem Region of Russia.

Keywords: menarche, genetic polymorphism, epistatic interaction.

Актуальность. Возраст менархе является одним из важных показателей пубертатного развития женщины, маркирует начало репродуктивного периода ее жизни и связан с возможными проблемами со здоровьем в ее дальнейшей жизни. Раннее менархе является фактором риска развития в дальнейшей жизни у женщины ожирения [1], рака молочной железы [2], сахарного диабета 2-го типа [3], сердечно-сосудистых заболеваний [4], а позднее менархе связано с повышенным риском развития остеопороза [5], преэклампсии [6].

Цель исследования – изучить роль эпистатического взаимодействия rs1544410 и rs2241423 в формировании возраста менархе у женщин Центрального Черноземья России.

Материал и методы. Группу исследования составили 1613 женщин русской национальности, родившиеся в Центральном Черноземье России, не являющиеся родственниками, добровольно согласившиеся на проведение исследования. Информация о возрасте менархе была получена при опросе женщин. Возрастом менархе считался возраст (лет) первых менструальных кровянистых выделений от даты рождения. Материалом для исследования послужила венозная кровь в объеме 6 мл, взятая из локтевой вены пробанда. Выделение геномной ДНК из периферической крови проведено методом фенольно-хлороформной экстракции. Исследование полиморфных локусов проводилось с помощью метода полимеразной цепной реакции с использованием соответствующих праймеров и зондов на амплификаторе IQ5. Анализ ген-генного взаимодействия выполнен методом линейной регрессии в программном обеспечении gPLINK v2.050 с использованием процедуры «epistasis».

Результаты. Проведено генотипирование двух молекулярно-генетических маркеров: rs1544410 и rs2241423. При изучении распределения частот генотипов по изучаемым локусам выявлено, что для них выполняется равновесие Харди – Вайнберга ($p > 0,05$). Выявлено эпистатическое взаимодействие полиморфных локусов rs1544410 и rs2241423, ассоциированное с возрастом менархе ($\beta = -0,015$; $p = 0,0006$). У индивидуумов с сочетанием генотипов GG rs1544410 и AA rs2241423 менархе наступает в возрасте $12,60 \pm 1,14$ года, что на 0,72 года раньше, чем у женщин с другими сочетаниями генотипов по данным полиморфным локусам $13,32 \pm 1,28$.

Выводы. Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что эпистатическое взаимодействие двух полиморфных локусов rs1544410 и rs2241423 вовлечено в формирование возраста менархе среди женщин Центрального Черноземья России.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант «Изучение генетических факторов менархе у женщин Центрального Черноземья России».

ЛИТЕРАТУРА

1. Guo X., Ji C. Earlier menarche can be an indicator of more body fat: study of sexual development and waist circumference in Chinese girls. *Biomedical and Environmental Sciences*. 2011; 24(5): 451–458.
2. Tanikawa C., Okada Y., Takahashi A., Oda K., Kamatani N., Kubo M., Nakamura Y., Matsuda K. Genome Wide Association Study of Age at Menarche in the Japanese Population. *PLoS ONE*. 2013; 8(5): e63821. doi:10.1371/journal.pone.0063821.
3. Dreyfus J.G., Lutsey P.L., Huxley R., Pankow J.S., Selvin E., Fernández-Rhodes L., Franceschini N., Demerath E.W. Age at menarche and risk of type 2 diabetes among African-American and white women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetologia*. 2012; 55(9): 2371–2380.
4. Feng Y., Hong X., Wilker E., Li Z., Zhang W., Jin D., Liu X., Zang T., Xu X., Xu X. Effects of age at menarche, reproductive years, and menopause on metabolic risk factors for cardiovascular diseases. *Atherosclerosis*. 2008; 196(2): 590–597.
5. Trikanathan S., Pedley A., Massaro J.M., Hoffmann U., Seely E.W., Murabito J.M., Fox C.S. Association of female reproductive factors with body composition: the framingham heart study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2013; 98(1): 236–244.
6. Rudra C.L., Williams M.A. BMI as a modifying factor in the relations between age at menarche, menstrual cycle characteristics, and risk of preeclampsia. *Gynecol Endocrinol*. 2005; 21: 200–205.

ЭВОЛЮЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ SNP, СВЯЗАННЫХ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ХОЛОДУ, В ПОПУЛЯЦИЯХ ЧЕЛОВЕКА

А.А. Попович, К.В. Вагайцева, А.В. Бочарова, В.А. Степанов

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Популяции Северной Евразии проживают в условиях среды обитания, которые требуют адаптации. Действие адаптивной эволюции отражается и на генетической структуре популяций. Исследовано гене-

тическое разнообразие популяций коренного населения Северной Евразии по генетическим маркерам, ассоциированным с адаптацией к холодному климату. Выявлены сигналы направленного отбора для маркеров генов адаптации к холоду с помощью теста Юинса–Ваттерсона.

Ключевые слова: однонуклеотидные полиморфные маркеры, популяции человека, генетическое разнообразие, естественный отбор.

EVOLUTIONARY-GENETIC ANALYSIS OF SNP ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO COLD IN HUMAN POPULATIONS

A.A. Popovich, K.V. Vagaitseva, A.B. Bocharova, V.A. Stepanov

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Populations of North Eurasia live in environmental conditions that require adaptation. The action of adaptive evolution is also reflected on populations' genetic constitution. Genetic diversity of native populations of North Eurasia is investigated using of genetic markers associated with cold climate adaptation. Using the Evens-Watterson test, signals of directional selection for markers of genes were found.

Keywords: single nucleotide polymorphisms, human populations, genetic diversity, natural selection.

Актуальность. Действие естественного отбора имеет направленный характер в отличие от других факторов популяционной динамики. Анализ влияния естественного отбора раскрывает некоторые механизмы формирования генетических различий между популяциями человека, обеспечивает лучшее понимание эволюционной истории, а также помогает в поиске генетических основ сложных заболеваний. Адаптация к климату является хорошим объектом для изучения действия естественного отбора по генетическим маркерам. Весьма вероятно, что этот процесс находится под селективным давлением, учитывая широкий диапазон климатических условий, в которых проживает современный человек.

Материал и методы. В работе исследовано генетическое разнообразие популяций Северной Евразии совместно с мировыми популяциями из проектов «1000 геномов» и HGDP по 25 SNP. Выбранные генетические маркеры демонстрируют сигналы естественного отбора, согласно данным литературы, и/или относятся к генам, связанным с устойчивостью к холоду, то есть участвуют в таких процессах, как терморегуляция, метаболизм липидов, регуляция мышечных сокращений, регуляция артериального давления и др. [1, 2]. Работа выполнена с привлечением научно-исследовательского оборудования ЦКП «Медицинская геномика» при НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Результаты. Согласно результатам теста Юинса – Ваттерсона, для локусов rs11202656 межгенной области, rs12203649 гена *LOC102724168*, rs2370985 межгенной области, rs3811787 гена *UCP1*, rs659366 гена *UCP2*, rs7225574 гена *RPTOR* и rs8136867 гена *MAPK1* показано накопление отклонений от селективной нейтральности в 11, 13, 27, 13, 19, 12 и 18 из 69 популяционных выборок соответственно. Продукты данных генов задействованы в терморегуляции (*UCP1*, *UCP2*), трансдукции сигнала и межклеточном взаимодействии (*RPTOR*, *MAPK1*). Полиморфизмы rs1171279 и rs8136867 ранее в других исследованиях показали ассоциацию с раком, rs3811787 связан с накоплением жира в брюшной области, rs659366 – с сахарным диабетом второго типа [3–6]. Ассоциация генетических маркеров rs12203649, rs2370985 и rs7225574 с различными фенотипами в настоящее время не известна.

Выявлено 4 селективно нейтральных SNP (rs10158579 гена *LEPR*, rs2846063 гена *GRAMD1B*, rs4745450 межгенной области, rs5759333 гена *MPPED1*), где значения ожидаемой и наблюдаемой гомозиготности во всех изученных популяциях значимо не отличались.

Выводы. Таким образом, в данной работе обнаружены локусы, находящиеся под действием естественного отбора, влияющего на генетическую дифференциацию и разнообразие популяций. Механизмы селекции аллелей исследованных маркеров в популяциях, вероятно, связаны с функцией генов изученных SNP, показавших ассоциацию с адаптацией к холоду.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cardona A., Pagani L., Antao T., Lawson D.J., Eichstaedt C.A., Yngvadottir B., Shwe M.T., Wee J., Romero I.G., Raj S., Metspalu M., Vilems R., Willerslev E., Tyler-Smith C., Malyarchuk B.A., Derenko M.V., Kivisild T. Genome-wide analysis of cold adaptation in indigenous Siberian populations. PLoS One. 2014; 9(5): e98076.
2. Lappalainen T., Salmela E., Andersen P.M., Dahlman-Wright K., Sistonen P., Savontaus M.L., Schreiber S., Lahermo P., Kere J. Genomic landscape of positive natural selection in Northern European populations. Eur. J. Hum. Genet. 2010; 18(4): 471–478.
3. Gu F., Kraft P., Rice M., Michels K.B. Leptin and leptin receptor genes in relation to premenopausal breast cancer incidence and grade in Caucasian women. Breast Cancer Res Treat. 2012; 131(1): 17–25.
4. Reyes-Gibby C.C., Wang J., Silvas M.R., Yu R., Yeung S.C., Shete S. MAPK1/ERK2 as novel target genes for pain in head and neck cancer patients. BMC Genet. 2016; 17:40.
5. Cha M.H., Kim K.S., Suh D., Chung S.I., Yoon Y. A UCP1-412A>C polymorphism is associated with abdominal fat area in Korean women. Hereditas. 2008; 145(5): 231–7.
6. Krishnan M., Thompson J.M.D., Mitchell E.A., Murphy R., McCowan L.M.E., Shelling A.N., On Behalf Of The Children Of Scope Study Group G. Analysis of association of gene variants with obesity traits in New Zealand European children at 6 years of age. Mol Biosyst. 2017; 13(8): 1524–1533.

ВЛИЯНИЕ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ НА ЛОКАЛИЗАЦИЮ И РАЗМЕРЫ ЯЗВЕННОГО ДЕФЕКТА У БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

О.В. Рашина

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород, Россия

Аннотация

В работе не выявлено влияния наследственной предрасположенности на локализацию и размеры язвенного дефекта у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки.

Ключевые слова: язвенная болезнь, размер и локализация язвенного дефекта, наследственная предрасположенность.

INFLUENCE OF HEREDITARY PREDISPOSITION ON THE LOCALIZATION AND SIZES OF ULCERATIVE DEFECT IN PATIENTS WITH PEPTIC ULCER OF THE STOMACH AND DUODENUM

O.V. Rashina

Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

Abstract

The effect of hereditary predisposition on the localization and sizes of ulcerative defect in patients with peptic ulcer of the stomach and duodenum was not revealed in the work.

Keyword: ulcer disease, the size and localization of a peptic ulcer, a hereditary predisposition.

Актуальность. Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки – это хроническое полиэтиологическое рецидивирующее заболевание, в основе развития которого лежат сложные изменения нервных, гипоталамо-гипофизарных, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковых и местных гастродуоденальных процессов, приводящие к изменению трофических процессов в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки.

Существует множество факторов риска и причин развития язвенного дефекта, среди которых одно из ведущих мест занимает наследственная предрасположенность [1–4].

Материал и методы. Материалом для исследования послужили данные 44 больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. Выборка формировалась на базе гастроэнтерологического отделения Белгородской областной клинической больницы Свяителя Иоасафа. Всем пациентам проведено клинко-инструментальное обследование.

Результаты. Нами установлено, что из 44 больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки 29 (66 %) имеют родственников с аналогичной патологией.

Размер язвенных дефектов среди выборки пациентов варьирует от 0,4 до 2,5 см. У пациентов с наследственной отягощенностью язвы малого диаметра (до 0,5 см) обнаружены у 9 индивидуумов (31,1 %), среднего (0,5–1 см) – у 17 (58,6 %), большого (более 1 см) – у 3 (10,3 %). У больных, не имеющих родственников с язвенной болезнью, язвенные дефекты малого размера выявлены у 5 человек (33,3 %), среднего – у 9 (60 %), большого – у 1 (6,7 %). Таким образом, в двух группах пациентов преобладают поражения среднего диаметра, размер язвенного дефекта не зависит от наследственных факторов.

У пациентов, имеющих больных язвенной болезнью родственников, обнаружены язвы в пилорическом отделе желудка у 2 человек (6,9 %), в антральном отделе желудка – у 12 (41,4 %), в двенадцатиперстной кишке – у 15 (51,7 %). У больных без наследственной отягощенности язвенные поражения выявлены в пилорическом отделе желудка у 1 индивидуума (6,7 %), в антральном отделе желудка – у 7 (46,6 %), в двенадцатиперстной кишке – у 6 (40 %), в теле желудка – у 1 (6,7 %). Следовательно, основная локализация язвенных дефектов – антральный отдел желудка и двенадцатиперстная кишка, зависимости между наследственностью и локализацией язвенных поражений не обнаружено.

Выводы. 29 больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки из 44 (66 %) имеют родственников с аналогичной патологией. В двух группах пациентов преобладают язвенные поражения среднего диаметра, основная локализация – антральный отдел желудка и двенадцатиперстная кишка. Наследственная предрасположенность не влияет на размеры и локализацию язвенного дефекта у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вялов С.С. Язвенная болезнь и маастрихт-4: внедрение в клиническую практику. Эффективная фармакотерапия. 2012; 28: 1623.
2. Циммерман Я.С. Язвенная болезнь: актуальные проблемы этиологии, патогенеза, дифференцированного лечения. Клиническая медицина. 2012; 90(8): 1118.
3. Шилова М.В. Язвенная болезнь желудка. Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2014; 4(5): 527.
4. Литовский И.А., Гордиенко А.В. Дискуссионные вопросы патогенеза гастродуоденальных язв. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2015; 4(52): 197204.

ПОЛИМОРФНЫЕ ЛОКУСЫ И ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА У БЕРЕМЕННЫХ С ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Е.А. Решетников

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород, Россия

Аннотация

Цель – изучить ассоциации полиморфизмов генов факторов коагуляции с показателями гемостаза у беременных с плацентарной недостаточностью. **Материал и методы.** В группу исследования вошли 250 женщин с плацентарной недостаточностью с синдромом задержки роста плода и 247 женщин с физиологической беременностью. Всем женщинам проводилось типирование четырех молекулярно-генетических маркеров: фибриногена (-455G/A FI, rs1800790), протромбина (20210G/A FII, rs1799963), мутации Leiden фактора коагуляции V (1691G/A FV, rs6025), проконвертина (10976G/A FVII, rs6046). **Результаты.** У беременных с плацентарной недостаточностью с синдромом задержки роста плода с генотипом -455GA FI и -455AA FI выявлен более высокий уровень фибриногена (медиана – 4,7 г/л, интерквартильный размах – 4,0–5,5 г/л) по сравнению с женщинами контрольной группы с генотипом -455GG FI (медиана – 4,5 г/л, интерквартильный размах – 4,0–5,1 г/л; $p=0,04$). **Выводы.** Таким образом, в результате проведенного исследования выявлено, что генетические маркеры -455GA и -455AA FI ассоциированы с повышенным уровнем фибриногена у беременных с синдромом задержки роста плода.

Ключевые слова: беременность, плацентарная недостаточность, синдром задержки роста плода, генетический полиморфизм.

POLYMORPHIC LOCI AND HEMOSTASIS PARAMETERS IN PREGNANT WOMEN WITH PLACENTAL INSUFFICIENCY

E.A. Reshetnikov

Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

Aim: To study associations of polymorphisms of genes of coagulation factors with indicators of hemostasis in pregnant women with placental insufficiency. **Materials and methods.** The study group included 250 women with placental insufficiency with fetal growth retardation and 247 women with physiological pregnancy. The participants were genotyped for four genetic markers of hereditary thrombophilia: fibrinogen (-455G/A FI, rs1800790), prothrombin (20210G/A FII, rs1799963), factor V Leiden (1691G/A FV, rs6025), factor VII (10976G/A FVII, rs6046). **Results.** In pregnant women with placental insufficiency with fetal growth retardation with genotype -455GA FI and -455AA FI was detected a higher level of fibrinogen (median – 4.7 g/l, interquartile range – 4.0–5.5 g/l) compared with women of the control group with genotype -455GG FI (median – 4.5 g/l, interquartile range 4.0–5.1 g/l, $p=0.04$). **Conclusion.** Genetic markers -455GA FI and -455AA FI are associated with an increased level of fibrinogen in pregnant women with fetal growth retardation syndrome.

Keyword: pregnancy, placental insufficiency, fetal growth retardation, genetic polymorphism.

Актуальность. Плацентарная недостаточность – это синдром, обусловленный морфо-функциональными изменениями в плаценте, при прогрессировании которых развивается синдром задержки роста плода (СЗРП), нередко сочетающийся с гипоксией [1]. СЗРП увеличивает риск преждевременных родов, мертворождений, является второй по частоте причиной перинатальной смертности [2, 3]. Одним из факторов, приводящих к развитию плацентарной недостаточности и СЗРП, является врожденная тромбофилия [4,5].

Материал и методы. В группу исследования вошли 497 беременных женщин в третьем триместре беременности. Среди них 250 женщин с плацентарной недостаточностью с синдромом задержки роста плода и 247 женщин с физиологической беременностью.

Все клинико-лабораторные исследования проводились с информированного согласия пациенток на использование материалов лечебно-диагностических мероприятий для научно-исследовательских целей.

Средний возраст беременных в группе с плацентарной недостаточностью и СЗРП составил $26,78 \pm 4,81$ года (варьировал от 16 до 45 лет), в группе контроля – $26,20 \pm 5,01$ года (варьировал от 19 до 41 года) ($p > 0,05$).

Диагностика синдрома задержки роста плода проводилась на основании клинических данных – соответствие высоты стояния дна матки (ВДМ) гестационному сроку беременности. Данные клинического обследования подтверждались результатами ультразвуковой фетометрии (с определением бипариетального размера головки плода, окружностей грудной клетки и живота, длины плечевой и бедренной костей).

Всем женщинам с плацентарной недостаточностью и синдромом задержки роста плода и контрольной группы проводилось типирование четырех молекулярно-генетических маркеров: фибриногена (-455G/A FI, rs1800790), протромбина (20210G/A FII, rs1799963), мутации Leiden фактора коагуляции V (1691G/A FV, rs6025), проконвертина (10976G/A FVII, rs6046).

Для описания изучаемых показателей применяли медиану (Me) и интервальный размах (Q25–Q75), при сравнении индивидуумов с разными генотипами по этим показателям использовали непараметрический метод – критерий Манна – Уитни.

Результаты. В группе беременных с плацентарной недостаточностью и СЗРП, имеющих генотипы -455GA FI и -455AA FI, выявлен более высокий уровень фибриногена (медиана – 4,7 г/л, интерквартильный размах – 4,0–5,5 г/л) по сравнению с женщинами с генотипом -455GG FI (медиана – 4,5 г/л, интерквартильный размах – 4,0–5,1 г/л; $p=0,04$).

Значимые ассоциации генетических полиморфизмов 20210G/A FII, 1691G/A FV, 10976G/A FVII факторов коагуляции с другими клинико-лабораторными показателями у беременных с плацентарной недостаточностью и СЗРП нами не установлены.

Выводы. Таким образом, в результате проведенного исследования выявлено, что генетические маркеры -455GA и -455AA FI ассоциированы с повышенным уровнем фибриногена у беременных с синдромом задержки роста плода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стрижаков А.Н., Игнатко И.В., Тимохина Е.В., Белоцерковцева Л.Д. Синдром задержки роста плода. Патогенез, диагностика, лечение, акушерская тактика. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013; 120.
- Gardosi J., Madurasinghe V., Williams M., Malik A., Francis A. Maternal and fetal risk factors for stillbirth: population based study. *BMJ*. 2013 Jan; 346: f108. doi: 10.1136/bmj.f108.
- Lausman A., Kingdom J., MATERNAL FETAL MEDICINE COMMITTEE. Intrauterine growth restriction: screening, diagnosis, and management. *J Obstet Gynaecol Can.* 2013 Aug; 35(8): 741748. doi: 10.1016/S1701-2163(15)30865-3.
- Facco F., You W., Grobman W. Genetic thrombophilias and intrauterine growth restriction: a meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2009 Jun; 113(6): 120616. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181a6e96a.
- Coriu L., Copaciu E., Tulbure D., Talmaci R., Secara D., Coriu D., Cirstoiu M. Inherited thrombophilia in pregnant women with intrauterine growth restriction. *Maedica (Buchar)*. 2014 Dec; 9(4): 3515.

РАЗРАБОТКА РЕШЕНИЯ ДЛЯ АНАЛИЗА КЛИНИЧЕСКОГО ЭКЗОМА

О.П. Рыжкова, А.Л. Чухрова, О.Л. Миронович, А.В. Поляков

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», г. Москва, Россия

Аннотация

Разработана система анализа «клинического» экзема, включающего 6277 генов (не включены гены, единственным описанным вариантом в которых является миссенс-замена неопределенного значения). При анализе «клинического» экзема в 26 % случаев обнаружены патогенные варианты, в 33,3 % вероятно-патогенные, в 18,5 % неопределенного значения и в 22,2 % случаев вариантов, объясняющих развитие заболевания, не обнаружено. Информативность анализа «клинического» экзема для диагностики наследственных заболеваний относительно анализа полного экзема не уменьшается, при этом её стоимость в два раза ниже.

Ключевые слова: гены, клинический экзосом, система анализа.

DEVELOPMENT OF A SOLUTION FOR THE ANALYSIS OF CLINICAL EXOME

O.P. Ryzhkova, A.L. Chukhrova, O.L. Mironovich, A.V. Polyakov

Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia

Abstract

A system for the analysis of a «clinical» exome has been developed, including 6277 genes (genes with only one variant, which is the missense replacement of an unknown significance, were not included). When analyzing the «clinical» exome, pathogenic variants were found in 26 % of cases, 33.3 % were probably pathogenic, 18.5 % of unknown significance and in 22.2 % of the cases the variants explaining the development of the disease were not found. The informativeness of the analysis of the «clinical» exome for the diagnosis of hereditary diseases with respect to the analysis of total exome does not decrease, at half the cost.

Keywords: genes, clinical exosome, analysis system.

Мотивация и цели. «Клинический» экзом – совокупность генов, патогенные варианты в которых приводят к развитию наследственных заболеваний. На данный момент описано чуть более 7000 таких генов. Их число увеличивается примерно на 500–700 генов в год, что обуславливает необходимость ежегодного обновления как списка генов, так и реактивов, используемых при исследовании. В ФГБНУ «МГНЦ» разработана система анализа «клинического» экзема, включающего 6277 генов (не включены гены, единственным описанным вариантом в которых является миссенс-замена неопределенного значения).

Методы. Создание «библиотек» по протоколу NimbleGen SeqCap EZ (Roche) с последующим секвенированием на приборе Illumina NextSeq500. Обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения Basespace (Illumina). Патогенность вариантов определялась на основе «Руководств по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS)».

Результаты. При анализе «клинического» экзома в 26 % случаев обнаружены патогенные варианты, в 33,3 % – вероятно-патогенные, в 18,5 % – неопределенного значения и в 22,2 % случаев вариантов, объясняющих развитие заболевания, не обнаружено.

Заключение. Информативность разработанной системы (патогенные и вероятно-патогенные варианты) составила 59,3 %, что выше, чем при исследовании полного экзома (48,8 %), но сравнимо с таковой при анализе ДНК пациентов, направленных на исследование «нервно-мышечной панели», для которых было проведено исследование полного экзома (57,3 %). При анализе «клинического» экзома у пациентов, направленных на исследование «нервно-мышечной панели» (17 случаев), информативность диагностики составила 58,8 %. Таким образом, информативность анализа «клинического» экзома для диагностики наследственных заболеваний относительно анализа полного экзома не уменьшается, при этом её стоимость в два раза ниже. Также имеется возможность редактирования разработанной системы в дальнейшем без кардинальных изменений в работе с ней.

ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ ГЕНОВ *RBFOX2* И *THBS1* НА МЕТИЛИРОВАНИЕ ГИСТОНОВ В НОКАУТНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ

Р.Р. Савченко¹, С.А. Васильев¹, В.С. Фишман², А.А. Мурашкина³,
А.В. Дорофеева⁴, И.Н. Лебедев¹

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Россия²

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия³

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия⁴

Аннотация

В работе проведена оценка уровня триметилированного гистона H3K9 и H3K27 в нокаутных линиях, созданных с помощью технологии редактирования генома CRISPR/Cas9. Было показано, что опухолевые линии HeLa с мутациями в генах *THBS1* и *RBFOX2* характеризовались повышенным уровнем H3K9me3 – в 1,8 и 1,6 раза соответственно, в то время как в линиях с мутациями генов *ADAMTS1* и *WHSC1* значимых отличий не выявлено. Уровень метилирования H3K27 значительно отличался только в линии с мутацией в гене *THBS1*, возрастая в 1,2 раза по сравнению с интактной линией HeLa.

Ключевые слова: CRISPR/Cas9, метилирование гистонов, радиационно-индуцированный клеточный ответ.

EFFECT OF THE PRODUCTS OF THE *RBFOX2* AND *THBS1* GENES ON HISTONE METHYLATION IN KNOCKOUT CELL LINES

R.R. Savchenko¹, S.A. Vasilyev¹, V.S. Fishman², A.A. Murashkina³,
A.V. Dorofeeva⁴, I.N. Lebedev¹

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, Tomsk, Russia¹

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Science, Novosibirsk, Russia²

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia³

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia⁴

Abstract

In this study, we investigated the trimethylated H3K9 and H3K27 histone level in the knockout cell lines created using the CRISPR/Cas9 technology. It was shown that the HeLa cell lines with *THBS1* and *RBFOX2* gene

mutation were characterized by an elevated the histone H3K9me3 level of 1.8 and 1.6 times, respectively, while no significant differences were found in the *ADAMTS1* and *WHSC1* gene mutation cell lines. The H3K27methylation level was significantly different only in *THBS1* gene mutation cell line, increasing by 1.2 times in comparison with the intact HeLa.

Keywords: CRISPR/Cas9, histone methylation, radiation-induced cell response.

Актуальность. Несмотря на известные механизмы репарации ДНК, роль в поддержании стабильности генома других косвенных участников радиационно-индуцированного клеточного ответа остается недостаточно изученной. Проведенные нами ранее на лимфоцитах периферической крови человека эксперименты позволили выявить связь дифференциальной экспрессии генов *ADAMTS1*, *RBFOX2*, *THBS1* и *WHSC1* со спонтанным уровнем фокусов γ H2AX и частотой радиационно-индуцированных микроядер, которая затем была подтверждена в фибробластах экстраэмбриональной мезодермы.

В попытке оценить возможность участия выявленных генов в транскрипционной регуляции радиационно-индуцированного ответа клеток в опухолевых линиях с мутациями генов *THBS1*, *WHSC1*, *ADAMTS1* и *RBFOX2* был проведен анализ одного из механизмов эпигенетической регуляции – уровня триметилирования гистона H3 по лизину в позициях 9 и 27.

Материал и методы. Материалом для данного исследования послужили опухолевые линии HeLa с мутациями в генах *ADAMTS1*, *RBFOX2*, *THBS1* и *WHSC1*, созданными с помощью технологии редактирования генома CRISPR/Cas9. Последовательности мутаций были установлены с помощью секвенирования нового поколения (NGS). Уровень метилирования гистонов был оценен с помощью иммуноокрашивания с антителами к H3K9me3 и H3K27me3.

Результаты. Анализ уровня метилирования гистона H3 по лизину в позициях 9 и 27 показал, что линии с мутациями в генах *THBS1* и *RBFOX2* характеризовались повышенным уровнем H3K9me3 по сравнению с интактной опухолевой линией HeLa (в 1,8 и 1,6 раза соответственно). Кроме того, в линии с мутацией в гене *THBS1* наблюдалось значимое повышение уровня H3K27me3 (в 1,2 раза) (рис. 1).

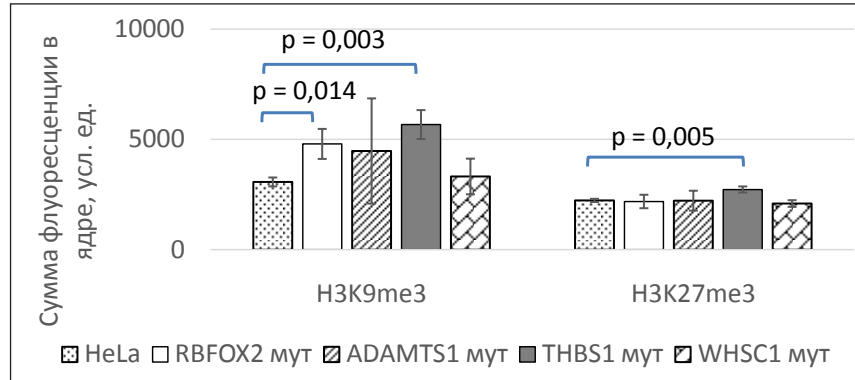


Рис. 1. Влияние мутаций в генах *ADAMTS1*, *RBFOX2*, *THBS1* и *WHSC1* в клеточной линии HeLa на уровень метилированных гистонов H3K9me3 и H3K27me3 в необлученных клетках

В линии с мутацией гена *ADAMTS1* наблюдалась тенденция к повышению уровня H3K9me3 (в 1,5 раза), однако значимых отличий, как и для линии с мутацией гена *WHSC1*, не выявлено.

Изменение паттерна метилирования гистона H3K9, показанное нами в линии с мутацией *THBS1*, может быть обусловлено участием продукта данного гена в сигнальном пути оксида азота [1]. Снижение экспрессии *THBS1* влечет за собой повышение синтеза NO, который, в свою очередь, является непосредственным ингибитором деметилаз гистонов на уровне мРНК [2].

Механизмы влияния *RBFOX2* на эпигенетическую регуляцию экспрессии генов через уровень метилирования гистонов в настоящий момент остаются неясными. Однако, учитывая выявленные нами ранее свидетельства регуляции экспрессии *RBFOX2* за счет продукта гена *THBS1*, возможно, что оба обсуждаемых гена оказывают общее влияние на метилирование гистонов.

Выводы. Таким образом, в работе были выявлены гены, опосредованно влияющие на уровень метилирования гистона H3. Возможно, изменение рисунка метилирования данного

гистона может приводить к изменению уровня экспрессии генов и, как следствие, участвовать в регуляции радиационно-индуцированного ответа клеток на повреждение ДНК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Roberts D.D., Kaur S., Isenberg J.S. Regulation of Cellular Redox Signaling by Matricellular Proteins in Vascular Biology, Immunology, and Cancer. *Antioxid Redox Signal.* 2017 Oct 20; 27(12): 874911.

2. Socco S., Bovee R.C., Palczewski M.B., Hickok J.R., Thomas D.D. Epigenetics: The third pillar of nitric oxide signaling. *Pharmacol Res.* 2017 Jul; 121: 5258.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЧИСЛА КОПИЙ МТДНК НА КЛЕТКУ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

**Р.Р. Салахов^{1,2}, М.В. Голубенко^{1,2}, А.В. Марков¹, А.А. Слепцов¹,
М.С. Назаренко^{1,2}**

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия²

Аннотация

В работе проведено исследование числа копий мтДНК в клетке в связи с уровнем метилирования ретротранспозона LINE-1 у пациентов с каротидным атеросклерозом и в контрольной выборке. Установлено, что среднее число копий мтДНК в лейкоцитах крови пациентов значительно отличалось от числа копий в атеросклеротической бляшке: 1303 против 3369 ($p < 0,001$). Кроме того, показана отрицательная корреляция числа копий мтДНК в атеросклеротических бляшках с уровнем метилирования ретротранспозона LINE-1 как в бляшке, так и в крови ($r = -0,52$ и $r = -0,41$ соответственно, $p < 0,05$). Выявлена положительная корреляция количества копий мтДНК в клетках крови у здоровых индивидуумов с возрастом ($r = 0,62$; $p < 0,05$).

Ключевые слова: число копий мтДНК, метилирование LINE-1, атеросклероз.

STUDY OF MTDNA COPY NUMBER PER CELL IN ATHEROSCLEROSIS

**R.R. Salakhov^{1,2}, M.V. Golubenko^{1,2}, A.V. Markov¹, A.A. Sleptcov¹,
M.S. Nazarenko^{1,2}**

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia²

Abstract

The study estimates mtDNA copy number per cell in relation to methylation level of retrotransposon LINE-1 in patients with carotid arteriosclerosis and in control group. It was found that the average number of mtDNA copies in blood leukocytes differs significantly from the number of mtDNA copies in the atherosclerotic plaque in patients: 1303 vs. 3369 ($p < 0,001$). In addition, a negative correlation of mtDNA copy number in atherosclerotic plaques with the level of methylation of retrotransposon LINE-1 both in plaque and blood ($r = -0,52$ and $r = -0,41$, respectively, $p < 0,05$). The mtDNA copy number in blood cells of healthy individuals was significantly correlated with age ($r = 0,62$, $p < 0,05$).

Keywords: mtDNA copy number, LINE-1 methylation, atherosclerosis.

Введение. Согласно современным представлениям, митохондриальная ДНК является наиболее подверженной воздействию окислительного стресса, так как она расположена непосредственно рядом с источником активных форм кислорода – ферментными комплексами дыхательной цепи [1]. Известно, что с возрастом и при некоторых заболеваниях относительное

число копий мтДНК в клетках снижается и коррелирует с состоянием здоровья индивида [2]. Это ведет, в свою очередь, к уменьшению экспрессии мтДНК и синтеза белков-субъединиц дыхательной цепи и, как следствие, к снижению синтеза АТФ, что также неблагоприятно сказывается на клеточном здоровье. Метилирование ядерного генома также может быть связано с возрастом и состоянием здоровья: механизмы, которые поддерживают определенный профиль метилирования ДНК в клетках различных тканей, с возрастом нарушаются, приводя к изменению метилирования – «эпигенетическому дрейфу» [3]. В частности, происходит гиперметилирование в CpG-островках промоторов отдельных генов и гипометилирование отдельных CpG-сайтов в геноме. Уровень метилирования генома оценивают с помощью суррогатного маркера – ретротранспозона LINE1, т.к. данный элемент занимает 18 % генома. Метилирование этого локуса с возрастом снижается [4].

Активные формы кислорода, концентрация которых в клетке повышается при окислительном стрессе, могут индуцировать эпигенетические изменения генома и повреждать мтДНК [2, 5]. Число копий мтДНК в клетке может быть ассоциировано с многофакторными заболеваниями и изменением активности генов, однако связь этого показателя с метилированием ядерного генома остается практически не исследованной.

Материал и методы. В исследование были включены пациенты с каротидным атеросклерозом – 67 человек (только мужчины). Средний возраст в выборке больных составил 63 года. Контрольную группу составили 26 добровольцев, здоровых в отношении сердечно-сосудистой системы. Средний возраст в контрольной группе составил 72 года. Материалом исследования послужила венозная кровь (в обеих выборках) и фрагменты атеросклеротических бляшек, полученных в ходе эндартерэктомии внутренней сонной артерии у пациентов с каротидным атеросклерозом. Выделение ДНК из крови проводили с помощью наборов «QIAamp DNA mini Kit», а из атеросклеротических бляшек – с помощью набора «DNeasy Tissue Kit» компании «Qiagen» (Германия). Уровень метилирования ретротранспозона LINE-1 определяли с помощью пиросеквенирования. Определение копийности мтДНК проводили с помощью мультиплексной количественной ПЦР в режиме реального времени.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью регрессионного, корреляционного и дисперсионного методов и непараметрических аналогов этих методов, в зависимости от вида значений и характера распределений между пациентами и контрольной выборкой.

Результаты. Число копий мтДНК в лейкоцитах крови пациентов значительно отличалось от числа копий мтДНК в атеросклеротической бляшке и было существенно ниже: в среднем 1303 копии на клетку, по сравнению со средним значением – 3369 копий на клетку в бляшке ($p < 0,001$). Расчет коэффициентов корреляции числа копий мтДНК в различных тканях, а также с уровнем метилирования LINE-1 элемента выявил отрицательную корреляцию числа копий мтДНК в атеросклеротических бляшках с уровнем метилирования LINE-1, причем как с уровнем метилирования LINE-1 в бляшках ($r = -0,52$, $p < 0,05$), так и с уровнем метилирования LINE-1 в крови ($r = -0,41$, $p < 0,05$). При этом число копий мтДНК в крови не коррелировало ни с показателями уровня метилирования LINE-1, ни с числом копий мтДНК в бляшках. Согласно нашим данным, корреляции числа копий мтДНК с возрастом также не было выявлено. Сравнение числа копий мтДНК между группами с различными генотипами мтДНК также не выявило статистически значимых различий. Количество копий мтДНК в клетках крови здоровых индивидов положительно коррелировало с возрастом ($r = 0,62$; $p < 0,05$), и статистически значимо отличалось от числа копий мтДНК в клетках атеросклеротических бляшек пациентов ($p = 0,0006$).

Выводы. Корреляция числа копий мтДНК в образцах ДНК, выделенной из атеросклеротических бляшек, с уровнем метилирования LINE-1 указывает на возможность существования эпигенетической регуляции репликации митохондриального генома, выраженной в участках атеросклеротического поражения сосудов. Учитывая то, что снижение общего уровня метилирования генома является в целом неблагоприятным фактором, отрицательный характер этой корреляции может говорить о вероятной компенсаторной амплификации мтДНК в ответ на снижение митохондриальной функции и усиление окислительного стресса в области атеросклеротических бляшек.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ, проект № 16-04-01481-А.

ЛИТЕРАТУРА

1. Taylor R.W., Turnbull D.M. Mitochondrial DNA mutations in human disease. Nat Rev Genet. 2005; 6: 389–402.
2. Mengel-From J., Thinggaard M., Dalgard C., Kyvik K.O., Christensen K., Christiansen L. Mitochondrial DNA copy number in peripheral blood cells declines with age and is associated with general health among elderly. Hum Genet 2014; 133: 1149–1159.
3. Teschendorff A.E., West J., Beck S. Age-associated epigenetic drift: implications, and a case of epigenetic thrift? Hum Mol Genet. 2013 Oct15; 22(R1): 7–15.
4. Wei L., Liu S., Su Z., Cheng R., Bai X., Li X. LINE-1 hypomethylation is associated with the risk of coronary heart disease in Chinese population. Arq Bras Cardiol. 2014 May; 102(5): 481–488.
5. Ohtani K., Dimmeler S. Epigenetic regulation of cardiovascular differentiation. Cardiovasc Res. 2011 Jun 1; 90(3): 404–412.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *WHSC1* С УРОВНЕМ ХРОСОМНЫХ ОБМЕНОВ ПРИ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ЛЁГОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ ШАХТЁРОВ

Е.С. Сердюкова, А.В. Ларионов

Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Россия

Аннотация

Генотоксические эффекты ввиду своей тесной связи с канцерогенезом подлежат пристальному изучению. Значительная генотоксичность среды угледобывающих шахт является хорошо изученным явлением, в то же время влияние легочной профпатологии шахтеров на показатели геномной стабильности ранее не оценивалось. Были изучены генотоксические эффекты синергичного воздействия профессиональной среды и профессиональной легочной патологии.

Ключевые слова: генотоксические факторы, шахтёры, хромосомные aberrации, *WHSC1*, воспалительные процессы, обмены хромосомного типа.

INTERRELATION OF *WHSC1* GENE EXPRESSION WITH CHROMOSOME EXCHANGES IN THE PROFESSIONAL PATHOLOGY OF COAL MINERS

E.S. Serdyukova, A.V. Larionov

Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

Abstract

The genotoxic effects due to their close connection with carcinogenesis are subject to close scrutiny. Significant genotoxicity environment of coal mines is a proven fact, at the same time the effect of pulmonary occupational diseases of coal miners on the performance of genomic stability has not previously been assessed. The genotoxic effects of the synergistic impact of environment and professional pathologies were studied. The influence of the leading factor was considerably assessed.

Keywords: genotoxic factors, coal miners, chromosomal aberrations, *WHSC1*, inflammation, chromosomal exchanges.

Кузбасс является одним из крупнейших регионов по добыче угля в России. Люди, работающие на угледобывающих производствах, становятся объектом постоянного воздействия генотоксических факторов (угольная пыль, радон и продукты его разложения, окись углерода, фенол, сероводород и др.). Кроме того, среди профессиональных контингентов крайне велика частота профессиональных заболеваний лёгких, таких как пневмокониозы (антракоз, антракосиликоз, силикоз) и рак лёгкого, которые также могут влиять на генотоксический статус.

Цель исследования – изучить синергическое влияние генотоксических факторов вкупе с легочными профессиональными заболеваниями на генетическую нестабильность в клетках человека, а также определить ведущий фактор, определяющий данный процесс.

Для проведения исследования были отобраны некурящие добровольцы мужского пола с продолжительным стажем работы в подземных условиях, а также популяционный контроль,

состоящий из жителей Кемеровской области, которые не связаны со сферой угледобычи. Данные люди не подвергались рентгенографии в течение 3 мес, не совершали перелётов на воздушном транспорте и не принимали лекарственные препараты, способные оказывать генотоксическое воздействие. Были сформированы когорты, в каждую из которых входило по 100 человек: репрезентативный популяционный контроль (люди, проживающие географически на той же территории, где проживают шахтеры, но не контактирующие с производственной средой угледобывающих предприятий); здоровые шахтёры (не имеющие патологий); шахтёры с легочным заболеванием – хронический пылевой бронхит – и шахтеры, страдающие антракосиликозом. Получалось согласие на исследование и отбиралась кровь, которая в последующем подвергалась пробоподготовке. Цитогенетический анализ проводился на рутинной окраске путём оценки 200 метафазных пластинок лимфоцитов периферической крови. Учитывались следующие параметры: уровень аберрантных метафаз и аберраций (ХА), уровень аберраций хроматидного и хромосомного типа, уровень обменов хромосомного типа (ХО). Для проведения молекулярно-генетического анализа из цельной крови тризольным методом выделялась РНК и в дальнейшем была проведена количественная ОТ-ПЦР для определения уровня экспрессии генов, ассоциированных с радиочувствительностью: *ADAMTS*, *RBFOX1*, *THBS1*, *WHSC1* [1].

У здоровых шахтёров уровень ХА всех типов был увеличен в 3 раза по сравнению с популяционным контролем ($p < 0,001$). При сопоставлении групп с патологией и здоровых шахтёров было отмечено достоверное увеличение основных типов ХА у работников с профессиональными заболеваниями ($p < 0,01$). При сравнении групп цитогенетических показателей между группами больных шахтеров было отмечено достоверное увеличение уровня ХО у шахтеров с антракосиликозом по сравнению с шахтерами, страдающими хроническим пылевым бронхитом ($p < 0,05$). Молекулярно-генетический анализ выявил прямую корреляцию между уровнем ХО и уровнем экспрессии гена *WHSC1* (гистон-метилтрансферазы NSD2) у больных антракосиликозом.

Таким образом, была подтверждена генотоксичность среды угледобывающих шахт Кузбасса, а также выявлена способность легочных профзаболеваний модулировать уровень основных ХА в сторону увеличения. Кроме того, с учетом наблюдаемой прямой корреляции между уровнем экспрессии *WHSC1* – гена, обладающего наряду с репарационными свойствами способностью усиливать синтез провоспалительного NF-κB, – можно предположить, что значительную роль в наблюдаемом повышении уровня ХО имеет воспалительный процесс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев С.А., Агаб А.В., Фишман В.С., Климова В.С., Сухих Л.Г., Сухих Е.С. Ответ на радиационно-индуцированное повреждение ДНК в нокаутных модельных системах. Актуальные вопросы фундаментальной и клинической онкологии. Томск. 2728 апреля 2017; 26.

РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ УЧАСТКОВ ГЕНА *SYDE1* В ФОРМИРОВАНИИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ПРЕЭКЛАМПСИИ

В.Н. Сереброва, Е.А. Трифонова, В.А. Степанов

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Результаты проведенного исследования демонстрируют ассоциацию наиболее значимых rSNP нового гена-кандидата *SYDE1*, выявленного впервые по результатам анализа транскриптома плацентарной ткани, с развитием преэклампсии в этнических выборках бурятов (rs56153523) и русских (rs56153523, rs8109071).

Ключевые слова: преэклампсия, регуляторный однонуклеотидный полиморфный вариант (rSNP), ген *SYDE1*.

THE ROLE OF SYDE1 GENE REGULATORY SITES IN DEVELOPMENT PREDISPOSITION TO PREECLAMPSIA

V.N. Serebrova, E.A. Trifonova, V.A. Stepanov

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

We have detected associations of the more significant rSNPs of new candidate gene *SYDE1*, identified for the first time by the results of the transcriptome analysis in placental tissue, with the development of preeclampsia in ethnic groups Buryat (rs56153523) and Russian (rs56153523, rs8109071).

Keywords: preeclampsia, regulatory single-nucleotide polymorphisms (rSNPs), *SYDE1* gene.

Преэклампсия (ПЭ) является одним из наиболее тяжелых гипертензивных расстройств беременности и рассматривается как основной фактор риска материнской и перинатальной заболеваемости и смертности. Высокая частота возникновения ПЭ (от 7 до 22 %), наряду с отсутствием в настоящее время предсказательных биомаркеров и эффективной фармакологической терапии, является причиной все большего внимания исследователей, направленного на изучение молекулярных механизмов данной патологии беременности. В связи с ключевой ролью плаценты в этиопатогенезе ПЭ наиболее перспективным направлением является изучение вариабельности уровня экспрессии генов плацентарной ткани и механизмов регуляции данных изменений.

Цель исследования – охарактеризовать генетическую архитектуру ПЭ по системе регуляторных однонуклеотидных полиморфизмов (rSNP) нового гена-кандидата *SYDE1*, выявленного впервые благодаря анализу транскриптома плацентарной ткани.

Нами было проанализировано 1269 образцов ДНК женщин из трех этнических выборок: буряты из г. Улан-Удэ (n=344 чел.), русские из г. Томска (n=498 чел.), якуты из г. Якутска (n=427 чел.). В группу больных ПЭ включена 551 пациентка с умеренной и тяжелой степенью ПЭ (буряты, n=139 чел., русские, n=195 чел., якуты, n=217 чел.). В состав контрольной группы включены 718 женщин (буряты, n=205 чел., русские, n=303 чел., якуты, n=210 чел.) с физиологично протекавшей беременностью и родами, а также отсутствием неблагоприятного акушерского анамнеза. В работе изучены два наиболее значимых, известных на сегодняшний день rSNP гена *SYDE1*: rs56153523, rs8109071. Генотипирование проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. Соответствие распределения частот аллелей и генотипов равновесию Харди – Вайнберга (PXB), попарное сравнение частот аллелей и генотипов между группами проводили с помощью критерия χ^2 . Для оценки ассоциации rSNP с ПЭ вычисляли отношение шансов (OR) и его 95 % доверительный интервал (95 % CI). Экспериментальные исследования проведены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ).

В обследованных этнических выборках все исследуемые rSNP гена *SYDE1* оказались полиморфными, не было выявлено отклонений от PXB. В табл. 1 представлены результаты распределения частот аллелей изученных rSNP в исследуемых этнических выборках. Статистически значимая ассоциация с развитием ПЭ для rs56153523 была выявлена в популяциях бурят и русских. Так, в этнической выборке бурят наблюдается значимое повышение частоты генотипа CC ($p=2 \times 10^{-5}$, OR=2,58; CI:1,59–4,19) и аллеля C ($p=2 \times 10^{-6}$, OR=2,16; CI:1,57–2,98) и снижение частоты встречаемости генотипа TT ($p=2 \times 10^{-5}$, OR=0,34; CI:0,190,61) и аллеля T ($p=2 \times 10^{-6}$, OR=0,46; CI:0,34–0,64) в группе больных ПЭ. В выборке русских при ПЭ характерно статистически значимое повышение частоты встречаемости генотипа CC ($p=0,0007$, OR=1,73; CI:1,16–2,57) и аллеля C ($p=0,0002$, OR=1,74; CI:1,30–2,34) и снижение частоты встречаемости генотипа TT ($p=0,0007$, OR=0,33; CI:0,18–0,64) и аллеля T ($p=0,0002$, OR=0,57; CI:0,43–0,77) при сравнении с физиологично протекающей беременностью. Для rs8109071 выявлена статистически значимая ассоциация с развитием ПЭ у русских. Показано значимое повышение частоты генотипа GG ($p=3 \times 10^{-5}$, OR=3,92; CI:1,927,98) и аллеля G ($p=8 \times 10^{-6}$, OR=1,98; CI:1,46–2,67) в группе больных ПЭ, в то же время генотип CC ($p=3 \times 10^{-5}$, OR=0,50; CI:0,330,74) и аллель C ($p=8 \times 10^{-6}$, OR=0,51; CI:0,37–0,68) статистически значимо чаще

встречался в контрольной группе, что указывает на их протективные свойства. В этнической выборке якутов не было выявлено статистически значимых различий при сравнении группы больных ПЭ и группы контроля.

Таблица 1

Распределения частот (%) аллелей rSNP в исследуемых группах

rSNP (значение «score»)	ПА	Обследованные группы					
		Контрольная группа			Преэклампсия		
		Буряты	Русские	Якуты	Буряты	Русские	Якуты
rs56153523 (2b)	C	45	59	48	64	71	44
rs8109071 (2b)	C	53	75	41	50	60	41

Примечание: Значение «score» базы данных «RegulomeDB», характеризует степень доказательности регуляторности SNP, обозначено цифровыми и буквенными символами (регуляторные свойства уменьшаются с увеличением цифрового значения и в алфавитном порядке). ПА – предковый аллель.

Продукт гена *SYDE1* – (Rho GTPase-activating protein SYDE1) белок, принадлежащий семейству Rho GTP-аз, способствует клеточной миграции, инвазии и ремоделированию цитоскелета. Показано, что белок SYDE1 участвует в развитии плаценты и способен стимулировать миграцию клеток трофобласта [1]. Важно отметить, что для ПЭ характерно увеличение уровня экспрессии гена *SYDE1* в плацентарной ткани [2], в то время как снижение экспрессии данного гена связано с внутриутробной задержкой роста плода. Следует отметить, что регуляторный полиморфизм rs56153523 располагается в сайте связывания с транскрипционным репрессором ZNF263 (белок цинковых пальцев 263), тогда как rs8109071 расположен в сайте связывания с транскрипционным фактором CEBPB, который способен ингибировать инвазию трофобласта [3]. Можно предположить, что rs56153523 и rs8109071 вовлечены в этиопатогенез преэклампсии на стадии формирования плаценты. Так, rs56153523, вероятно, приводит к снижению экспрессии гена *SYDE1*, посредством транскрипционного фактора ZNF263, тогда как взаимодействие rs8109071 и CEBPB в условиях гипоксии может приводить к нарушению инвазии трофобласта.

Результаты, полученные в данной работе, показали значимую ассоциацию двух rSNP гена *SYDE1* с развитием ПЭ в этнических выборках бурят (rs56153523) и русских (rs56153523, rs8109071). Не выявлено ассоциации изученных rSNP с ПЭ в этнической выборке якутов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lo H.F., Tsai C.Y., Chen C.P., Wang L.J., Lee Y.S., Chen C.Y., Liang C.T., Cheong M.L., Chen H. Association of dysfunctional synapse defective 1 (SYDE1) with restricted fetal growth SYDE1 regulates placental cell migration and invasion. J.Pathol. 2017 Feb; 241(3): 324336. doi: 10.1002/path.4835.
2. Трифонова Е.А., Габидулина Т.В., Еришов Н.И., Сереброва В.Н., Ворожищева А.Ю., Степанов В.А. Характеристика транскриптома плацентарной ткани у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией. Acta Naturae. 2014; 6(2): 7790.
3. Zhuang B., Luo X., Rao H., Li Q., Shan N., Liu X., Qi H. Oxidative stress-induced C/EBPβ inhibits β-catenin signaling molecule involving in the pathology of preeclampsia. Placenta. 2015 Aug; 36(8): 83946. doi: 10.1016/j.placenta.2015. 06.016.

CNVs В НОЗОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ СЕРДЦА

А.А. Слепухина^{1,2}, Н.А. Скрябин¹, М.Е. Лопаткина¹, А.А. Кашеварова¹,
А.В. Зубрицкий³, М.А. Новикова³, Г.И. Лифшиц^{1,2}, И.Н. Лебедев¹

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия²

Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск, Россия³

Аннотация

Вариации числа копий ДНК (CNVs) играют значительную роль в развитии врожденных пороков сердца, несмотря на это, остается малоизученным их влияние на развитие определенных нозологий. Нами был обследован 31 ребенок с врожденным пороком сердца, сочетающимся с экстракардиальной патологией.

У 32 % пациентов (10/31) выявлены патогенные CNV. У детей с комплексными пороками сердца CNVs были обнаружены чаще, чем у детей с изолированными пороками сердца ($p < 0,05$).

Ключевые слова: CNVs, врожденные пороки сердца.

CNVs IN THE NOSOLOGICAL STRUCTURE OF CONGENITAL HEART DISEASE

A.A. Slepukhina^{1,2}, N.A. Skryabin¹, M.E. Lopatkina¹, A.A. Kashevarova¹,
A.V. Zubritskiy³, M.A. Novikova³, G.I. Lifshits^{1,2}, I.N. Lebedev¹

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Science, Tomsk, Russia¹
Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia²
Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russia³

Abstract

Copy number variations (CNVs) play a significant role in the development of congenital heart defects, despite this, their influence on the development of certain nosologies remains poorly understood. We examined 31 children with congenital heart disease, combined with extracardiac pathology. 32 % of patients (10/31) had pathogenic CNVs. In children with complex heart defects CNVs were detected more often than in children with isolated heart defects ($p < 0,05$).

Keywords: CNVs, congenital heart diseases.

Актуальность. Вариации числа копий ДНК (CNVs) являются одной из причин развития врожденных пороков сердца, занимая условно промежуточное положение между крупными хромосомными перестройками и моногенными мутациями, и выявляются у пациентов с частотой 3–26 %. Несмотря на высокую пенетрантность ВПС при различных микроделеционных и микродупликационных синдромах, понимание механизмов возникновения пороков сердца и отражение влияния CNV на кардиогенез остаются неопределенными. Генетические нарушения являются значимыми факторами для планирования операции, ее исхода и постоперационного прогноза у пациентов. В дальнейшем исследование связи CNVs и нозологии пороков сердца может стать инструментом определения тактики ведения пациента.

Материал и методы. Проведено молекулярное кариотипирование 31 ребенка, перенесших оперативное лечение по поводу ВПС в 2016 году. Средний возраст больных ($M \pm s$) соответствовал 21 ± 13 мес (от 1 мес до 4 лет). Диагноз ВПС устанавливался на основании эхокардиографических данных, согласно рекомендациям Российского кардиологического общества, а также клинических, электрокардиографических, биохимических и патологических характеристик этого заболевания с оценкой физиологических изменений кровотока и гемодинамики порока [1]. Диагнозы представлены в табл. 1.

Таблица 1

Тетрада Фалло	4
Общий артериальный ствол	1
ДМЖП. Двустворчатый аортальный клапан	1
Атрезия легочной артерии с ДМЖП	1
ДМЖП. Частичный аномальный дренаж легочных вен в верхнюю полую вену	1
Аорто-легочное окно. Перерыв дуги аорты	1
ДМЖП. Предклапанная аортальная мембрана	1
Открытый артериальный проток. ДМЖП	1
Надклапанный аортальный стеноз. Стеноз истока правой легочной артерии	1
Атрезия трикуспидального клапана	2
Коарктация аорты. ДМЖП	1
Транспозиция магистральных сосудов с ДМЖП	1
Аномалия Эбштейна	1
Дефект межжелудочковой перегородки	4

Дефект межпредсердной перегородки	4
Декстрокardia. ДМЖП	1
Единственный левый желудочек сердца с общим притоком	1
Синдром гипоплазии левого сердца	1
ДМПП. Стеноз клапана легочной артерии. Двустворчатый аортальный клапан	1
ДМПП. Частичный аномальный дренаж правых легочных вен в верхнюю полую вену	1
Частичный аномальный дренаж правых легочных вен в верхнюю полую вену	1
ДМЖП – дефект межжелудочковой перегородки. ДМПП – дефект межпредсердной перегородки.	

Согласно протоколу исследования, критерием включения являлось сочетание ВПС с множественными аномалиями развития, включая микроаномалии развития, лицевые дизморфии, анатомические особенности строения тела и внутренних органов, установленные заболевания и/или глобальное отставание в развитии, задержку психического, психоречевого, речевого, психомоторного, интеллектуального и физического развития.

Мечение флуорохромами обеих (анализируемой и контрольной) ДНК-библиотек проводилось с использованием набора SureTag Complete DNA Labeling Kit в соответствии с протоколом производителя (Agilent Technologies, США). Гибридизацию проводили на ДНК-микрочипах SurePrint G3 Human Genome CGH+SNP Microarray Kit, 8×60K в соответствии с протоколом, рекомендованным производителем (Agilent Technologies, США). Данные получали с помощью программы Scan (v.9.1.1.1), визуализировали в программе Cytogenomics (v.3.0) (Agilent Technologies, США) и анализировали с использованием публично доступных баз данных DGV и DECIPHER. Верификацию выявленных патогенных и условно патогенных вариантов проводили с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени по ранее опубликованному подробному описанию технологии [2]. Сравнение групп по качественному бинарному признаку производили с помощью четырехпольных таблиц с использованием критерия Хи-квадрат с поправкой Йейтса.

Результаты и обсуждение. Пациенты были разделены на группы в зависимости от типа ВПС в нозологической структуре. При разделении пациентов на подгруппы по наличию/отсутствию септальных дефектов (дефекты межжелудочковой, межпредсердных перегородок), аномалий конотрункуса, аортальных пороков статистически значимых отличий по частоте выявления CNVs не наблюдалось. В то же время для аномалий конотрункуса у 3 из 7 пациентов определены патогенетически значимые CNVs, и у 3 из 5 пациентов с микроделецией 22q11 были аномалии конотрункуса, в дальнейшем эти факторы могут учитываться у пациентов с указанной патологией. Статистически значимыми ($p < 0.05$) были отличия подгрупп по признаку комплексных (сложных) пороков сердца, у 9 из 18 пациентов со сложными пороками были выявлены CNVs, в то время как в подгруппе с изолированными пороками сердца – у 1 из 13. Вероятно, присутствие CNVs в большей мере одновременно влияет на развитие нескольких структур сердца. Общая доля выявленных патогенетически значимых CNVs составила 32 % (10/31). Таким образом, у пациентов с комплексными пороками сердца и экстракардиальной патологией с большей вероятностью возможно обнаружение клинически значимых вариаций копий ДНК, что должно учитываться клиническими специалистами при планировании обследования и оценке прогноза заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lang R.M., Bierig M., Devereux R.B., Flachskampf F.A., Foster E., Pellikka P.A., Solomon S. Рекомендации по количественной оценке структуры и функции камер сердца. Российский кардиологический журнал. 2012; 3(95): 3–28.
2. Слепухина А.А., Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Новикова М.А., Лифшиц Г.И., Лебедев И.И. Алгоритм молекулярно-цитогенетической диагностики микроделеционных синдромов врожденных пороков развития. Методические рекомендации по медицинским технологиям диагностики и лечения хромосомных, орфанных и многофакторных заболеваний человека. Академиздат. Новосибирск, 2016; 175–194.

СТРУКТУРНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ГЕНОМА ПРИ БОЛЕЗНЯХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО КОНТИНУУМА

А.А. Слепцов¹, М.С. Назаренко^{1,2}, О.А. Макеева¹, О.Л. Барбараш²,
В.П. Пузырев¹

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово, Россия²

Аннотация

В исследовании проведен анализ ассоциаций однонуклеотидного полиморфизма (SNP) и вариаций по числу копий участков ДНК (CNV) с болезнями сердечно-сосудистого континуума (ССК). В результате установлено существенное различие генетических профилей болезней ССК по ассоциированным SNP-маркерам. Показано, что уменьшение числа копий участков ДНК в хромосомном субсегменте 3p21.1 (*SFMBT1*) связано с риском развития ССК.

Ключевые слова: вариации по числу копий участков ДНК, структурные вариации, однонуклеотидный полиморфизм, сердечно-сосудистые заболевания, сердечно-сосудистый континуум.

STRUCTURAL VARIATION IN THE HUMAN GENOME AND ITS ROLE IN DISEASES OF THE CARDIOVASCULAR CONTINUUM

A.A. Sleptsov¹, M.S. Nazarenko^{1,2}, O.A. Makeeva¹, O.L. Barbarash²,
V.P. Puzyrev²

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Science, Tomsk, Russia¹
Institute for complex issues of cardiovascular diseases, Kemerovo, Russia²

Abstract

In the present study, the association of single nucleotide polymorphism (SNP) and copy number variation (CNV) with diseases of cardiovascular continuum (CVC) were analyzed. We found a significant difference in the genetic profiles of CVC's diseases by the SNP association analysis. Also, CNV loss in chromosomal subsegment 3p21.1 (*SFMBT1*) was associated with the risk of developing CVC.

Keywords: CNV, structural variation, SNP, cardiovascular disease, cardiovascular continuum.

Актуальность. Согласно существующей концепции «сердечно-сосудистого континуума» (ССК), ишемическая болезнь сердца (ИБС) является конечным результатом патогенетической цепи событий, в которые входят артериальная гипертензия (АГ), дислипидемия (ДЛЕ), ожирение и сахарный диабет 2 типа (СД2) [1]. С этой точки зрения болезни ССК могут рассматриваться как один из вариантов феномена «синтропии», в патогенез которых вносит вклад определенный набор «синтропных» генов [2]. Однако работы, в которых анализировалась генетическая основа «сочетанности» болезней ССК, единичны [3]. В исследованиях подобного рода проводился метаанализ результатов отдельных GWAS какого-то определенного фенотипа ССК, а не сочетания данных патологий у одного и того же индивида. Кроме того, остается неясным, отличается ли генетическая структура предрасположенности «сочетанности» болезней ССК от ИБС, которая развивается у индивида без традиционных факторов риска заболевания. Особенностью данного исследования является то, что для проведения анализа ассоциации с заболеваниями в качестве генетических маркеров использовался не только однонуклеотидный полиморфизм (SNP), но и такие структурные варианты генома, как вариации по числу копий участков ДНК (copy number variation, CNV).

Цель исследования заключалась в характеристике генетической структуры подверженности болезням ССК.

Материал и методы. Выборки пациентов с «ИБС без факторов риска» включали 61 человека, «ИБС в сочетании с АГ» – 364 человека и «ССК» – 154 человек. Контрольная группа состояла из лиц, не имеющих клинических симптомов поражения сердечно-сосудистой системы и сопоставимых по полу и возрасту с группой пациентов ($n=344$). Для детекции SNP использовался микрочип (iSelect HD Custom BeadChip, 4400 SNP, Illumina) и метод масс-спектрометрии MALDI-TOF (SEQUENOM, Agena Bioscience). Матричная сравнительная геномная гибридизация (SurePrint G3 Human CGH+SNP Microarray 2×400 K, Agilent) и ПЦР в режиме реального времени с TaqMan-зондами применялись для оценки CNV.

Анализ ассоциаций SNP с заболеваниями ССК проводили с использованием программных пакетов GenABEL и genetics для статистической среды R. Уровень статистической значимости принимали за $p<0,05$ при проведении пермутационного теста. Анализ данных матричной сравнительной геномной гибридизации проводился с помощью алгоритмов ADM-2 (Agilent) и CBS (DNAcopy, R.Bioconductor). Аннотирование CNV проведено в Database of Genomic Variants. Функциональная аннотация генов, содержащих SNP и CNV, которые были связаны с заболеваниями, проводилась с помощью STRING-DB.

Результаты. В результате исследования с фенотипом «ИБС без факторов риска» ассоциировано 14 SNP, в том числе относящиеся к генам *APOB*, *CD226*, *NKX2-5*, *TLR2*, *DPP6*, *KLRB1*, *VDR*, *SCARB1*, *NEDD4L*, *SREBF2* и варианты в межгенных промежутках rs12487066, rs7807268, rs10896449 и rs944289. С фенотипом «ИБС в сочетании с АГ» ассоциировано 13 SNP, в том числе в генах *BTNL2*, *CNTNAP2*, *EGFR*, *HNFI1A*, *SCARB1*, *SEZ6L*, *XRCC5* и шесть в межгенных промежутках (rs801114, rs10499194, rs13207033, rs2398162, rs6501455 и rs1160312). С сочетанием нескольких болезней в виде ССК ассоциировано 14 SNP, в том числе в генах *TAS2R38*, *SEZ6L*, *APOA2*, *KLF7*, *CETP*, *ITGA4*, *RAD54B*, *LDLR* и *MTAP* и маркеры в межгенных регионах (rs1333048, rs1333049 и rs6501455).

Со всеми тремя фенотипами болезней ССК ассоциирован однонуклеотидный полиморфизм генов, функционально аннотированных с липидным обменом (*APOB*, *APOA2*, *SCARB1*, *SREBF2*, *CETP*, *LDLR*, *SEZ6L*, *HNFI1A*, *VDR* и *TLR2*). Полиморфизм генов иммунновоспалительного ответа (*TLR2*, *KLRB1*, *VDR* и *CD226*) связан с фенотипом «ИБС без факторов риска».

У больных ССК в лейкоцитах идентифицировано 90 CNV. Белковые продукты генов, локализованные в области CNV, преимущественно участвуют в иммунновоспалительном ответе (*GBP3*, *IGSF3*, *PRKRA*, *BTNL3*, *APOBEC3B*, *APOBEC3A*, *UNG*, *GSTT1*, *LOC391322*, семейство генов *DEFB* и *APOBEC*), а также обеспечивают функционирование обонятельных рецепторов (*OR2*, *OR4* и *OR11*).

Анализ делеции в хромосомном субсегменте 3p21.1 (*SFMBT1*) в исследуемых выборках показал, что у 14 (16,3 %) больных ССК и 22 (8,6 %) индивидов из контрольной выборки выявлена данная CNV (OR=2,97; 95 % CI: 1,44–6,11; $p=0,0067$).

Выводы. Генетический профиль подверженности болезням ССК по ассоциированным SNP-маркерам существенно различается. Общим SNP, связанным с «ИБС без факторов риска» и «ИБС в сочетании с АГ», является rs4765623 гена *SCARB1*, а для «ИБС в сочетании с АГ» и «ССК» – rs663048 гена *SEZ6L* и rs6501455. Уменьшение копияности в хромосомном субсегменте 3p21.1 (*SFMBT1*) ассоциировано с риском развития ССК.

ЛИТЕРАТУРА

1. D'Zau V.J., Antman E.M., Black H.R., Hayes D.L., Manson J.E., Plutzky J., Popma J.J., Stevenson W. The cardiovascular disease continuum validated: Clinical evidence of improved patient outcomes: Part II: Clinical trial evidence (acute coronary syndromes through renal disease) and future directions. *Circulation*. 2006; 114(25): 2871–2891. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.655761.
2. Пузырев В.П., Макеева О.А., Голубенко М.В. Гены синтропии и сердечно-сосудистый континуум. *Вестник ВОГиС*. 2006; 10(3): 479–491.
3. Rankinen T., Sarzynski M.A., Ghosh S., Bouchard C. Are There Genetic Paths Common to Obesity, Cardiovascular Disease Outcomes, and Cardiovascular Risk Factors? *Circ Res*. 2015; 116(5): 909–922. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.302888.

РАЗРАБОТКА ПРОТОКОЛА ДИАГНОСТИКИ НИЗКОУРОВНЕВОЙ МОЗАИЧНОЙ X-АНЕУПЛОИДИИ

А.А. Тарлычева, Ж.Г. Маркова

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Медико-генетический научный центр»,
г. Москва, Россия

Аннотация

Проведено исследование женщин различных возрастных групп для диагностики клинически значимого гомосомного мозаицизма X-анеуплоидии в препаратах крови и препаратах буккального эпителия (БЭ). Установлено, что в клетках крови присутствует низкоуровневый гомосомный мозаицизм с выраженной тенденцией к повышению доли аномальных клеток с увеличением возраста 20–29 лет – 1,83 %, 30–39 лет – 2,23 %, 40–49 лет – 5,88 %. Для БЭ доля анеуплоидных клонов во всех возрастных группах соответствует 4,01 %. На основании этих данных составлен протокол диагностики низкоуровневой мозаичной X-анеуплоидии.

Ключевые слова: мозаицизм, X-анеуплоидия, флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH).

CREATION OF A DIAGNOSTIC PROTOCOL FOR LOW-LEVEL MOSAIC X-ANEUPLOIDY

A.A. Tarlycheva, Zh.G. Markova

Federal Budgetary State Institution «Research Centre for Medical Genetics», Moscow, Russia

Abstract

A study of women in different age groups was conducted to diagnosis of clinically significant gonosomal mosaicism of X-aneuploidy in blood and buccal smear. The study found that in the blood of healthy women there is a physiological low-level mosaicism with a clear trend in increased proportion of abnormal cells associated with the increasing age to 1.83 %, 2.23 % and 5.88 % for 2029, 3039 and 4049 years, respectively. The buccal smear also exhibited physiological pattern of a low-level mosaicism, however, the level of mosaicism was statistically insignificant in different age groups and, on average, was 4.01 %. The obtained data became a basis for the making diagnostic protocol of low-level mosaicism in fertile women.

Keywords: mosaicism, X-aneuploidy, FISH.

Актуальность. Мозаицизм по хромосоме X отмечается у фенотипически нормальных женщин, при этом доля мозаичного клона увеличивается с возрастом [1,2]. Однако не всегда в процессе диагностики очевидно, является ли обнаруженный мозаицизм истинным, клинически значимым или физиологическим, связанным с возрастом женщины. Целью исследования являлась разработка протокола диагностики соматического тканеспецифического мозаицизма по хромосоме X у фенотипически нормальных женщин.

Материал и методы. Материалом для исследования являлись препараты из клеток БЭ и периферической венозной крови 34 и 32 здоровых женщин, соответственно, имеющих одного или более детей без фенотипических аномалий. Были сформированы три группы: 20–29 лет (1), 30–39 лет (2), 40–49 лет (3). Анализ проводили методом FISH с ДНК-зондами на центромерные районы хромосом X и 18 в соответствии со стандартным протоколом.

Результаты. Установлено, что в крови у здоровых женщин имеет место физиологический низкоуровневый мозаицизм с четко выраженной тенденцией к повышению доли аномальных клеток с увеличением возраста (для 1-й группы – 1,83 %, для 2-й группы – 2,23 %, для 3-й группы – 5,88 %, $p=0,0042$). В БЭ также имеет место физиологический низкоуровневый мозаицизм, однако уровень мозаицизма статистически достоверно значимо не отличается в различных возрастных группах и составляет 4,01 % ($p=0,530$). На основании этих данных разработан алгоритм обследования, позволяющий установить клиническую значимость мозаицизма по X-анеуплоидии (рис. 1).



Рис. 1. Алгоритм обследования пациентов при подозрении на наличие низкоуровневого гоносомного мозаицизма

Выводы. Как установлено в данном исследовании, в БЭ не наблюдается возрастзависимого изменения уровня мозаицизма, тем не менее его оценка может стать контролем для выявления соматического мозаицизма. Нами был разработан протокол обследования женщин при подозрении на наличие низкоуровневого гоносомного мозаицизма. Так, если уровень анеуплоидного клона в БЭ повышен в сравнении с референсными значениями, можно сделать вывод о наличии клинически значимого мозаицизма. Если же уровень мозаицизма в БЭ соответствует референсному значению, гипотеза о наличии клинически значимого мозаицизма должна быть отвергнута, даже если доля аномальных клонов в крови несколько повышена. Представленный протокол обследования женщин позволяет провести дифференциальную диагностику физиологического и истинного мозаицизма.

Таким образом, благодаря последовательному анализу двух тканей можно исключить или подтвердить наличие клинически значимого мозаицизма. Разработанный протокол обследования пациентов для выявления диагностически значимой низкоуровневой мозаичной X-анеуплоидии позволит в будущем упростить постановку правильного диагноза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Russell L.M., Strike P., Browne C.E., Jacobs P.A. X chromosome loss and ageing. *Cytogenet Genome Res.* 2007; 116: 181–185.
2. Назаренко С.А., Тимошевский В.А., Островерхова Н.В. Интерфазный анализ X-анеуплоидии методом флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) в разных тканях здоровых лиц. *Генетика.* 1997; 33(10): 14261430.

SNP-МАРКЕРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К КОСТНОМУ ФЛЮОРОЗУ

С.Ф. Шамигова, Е.Э. Калюжная, Е.Л. Романова

Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Россия

Аннотация

Хроническая интоксикация высокими дозировками фтора и его соединений может приводить к развитию скелетного флюороза. Помимо общепринятого механизма патогенеза данного заболевания возможен альтернативный, опосредованный через генотоксичность, путь развития заболевания. **Целью исследования** было изучение состоятельности альтернативного пути. Проведено генотипирование выборки людей со скелетным флюорозом и экспонированного фтором контроля по значимым SNP генов репарации ДНК. Была выявлена значимая роль аллеля G полиморфизма гена *RAD51* – rs1801320 в развитии скелетного флюороза.

Ключевые слова: скелетный флюороз, SNP, репарация ДНК.

SNP MARKERS OF PREDISPOSITION TO BONE FLUOROSIS

S.F. Shamigova, E.E. Kaluzhnaya, E.L. Romanova

Kemerovo state University, Kemerovo, Russia

Abstract

Chronic intoxication with high doses of fluoride and its compounds can lead to the development of skeletal fluorosis. In addition to the generally accepted mechanism of pathogenesis of this disease, an alternative, mediated through genotoxicity, pathway of the disease development is possible. The aim of the study was to study the consistency of the alternative pathway. Genotyping of samples of people with skeletal fluorosis and fluorine-exposed control, by significant SNP genes for DNA repair, was carried out. A significant role of the G allele of the polymorphism of the *RAD51* – rs1801320 gene in the development of skeletal fluorosis was revealed.

Keywords: skeletal fluorosis, SNP, DNA repair.

При длительной интоксикации фтористыми соединениями в высоких дозировках развивается заболевание под названием скелетный флюороз. Это заболевание костной системы, которое характеризуется деминерализацией костной ткани, что в дальнейшем приводит к развитию остеосклероза и остеопороза. Основным механизмом патогенного действия фтора считают его способность замещать кальций, находящийся в составе кальциевых апатитов костного матрикса. Но также существуют данные о генотоксическом влиянии фторидов. Можно предположить, что существует альтернативный механизм развития болезни. Были изучены генотоксические эффекты воздействия профессиональной среды.

Учитывая генотоксичность фторидов, а также их способность концентрироваться в костной ткани, вероятно, что они способны индуцировать увеличение уровня повреждений ДНК в остеобластах, в связи с чем развивается генотоксический стресс, приводящий к гибели данного типа клеток, с последующим нарушением процессов ремоделирования межклеточного матрикса, что инициирует патологию.

Цель исследования заключается в оценке жизнеспособности выдвинутой теории. Для этого было проведено генотипирование выборки людей, страдающих скелетным флюорозом, и группы контроля по функционально значимым SNP генов репарации ДНК (*NBS1* – rs1805794; *RAD51* – rs1801320; *ADPRT* – rs1136410; *XRCC1* – rs25487; *XRCC3* – rs861539).

Материалом для исследования послужили образцы крови рабочих НкАЗа с установленным диагнозом профессиональный флюороз (средний стаж работы во вредных условиях составил $18,16 \pm 1,73$ года) – группа «Случай». В группу «Контроль» вошли рабочие НкАЗа (стаж $16,63 \pm 1,29$ года) без данного заболевания. Экстракция ДНК проводилась фенол-хлороформным методом. Генотипирование осуществляли с помощью TaqMan PCR. Частоту генотипов в группах сравнивали при помощи критерия Стьюдента для выборочной доли, частоту аллелей – на основе показателя отношения шансов (OR) при заданном доверительном интервале (CI).

Проведенный анализ показал значимую роль аллеля G полиморфизма гена *RAD51* – rs1801320 для развития костного флюороза. Частота аллеля в группе с патологией составила 0,29, в то время как в группе без нее – 0,13. Величина показателя OR в отношении аллеля G составила 2,72 (95 % CI, $p=0,0032$). Аллель G в отличие от аллеля С определяет сниженный уровень экспрессии *RAD51*. Продукт гена *RAD51* играет одну из ключевых ролей в механизме репарации двунитевых разрывов, в связи с чем наблюдаемая ассоциация указывает на правомерность выдвинутой гипотезы.

ПОИСК АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ МИКРО-РНК С ОСТЕОАРТРОЗОМ У ЖЕНЩИН

Д.А. Шаповалова¹, А.В. Тюрин², С.С. Литвинов¹, Р.И. Хусаинова¹

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа, Россия¹

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа, Россия²

Аннотация

Остеоартроз (ОА) – это распространенное многофакторное заболевание суставов, которое характеризуется сложной полигенной природой. Дисплазия соединительной ткани (ДСТ) рассматривается как фактор развития соматических патологий, в том числе патологий опорно-двигательного аппарата. Нами проведен анализ 6 полиморфных локусов, расположенных в сайтах связывания микро-РНК, и выявлены ассоциации с развитием гонартроза аллеля G локуса *rs229077* гена *ADAMTS5* и генотипа AA локуса *rs11540149* гена *VDR*. Аллель A локуса *rs11540149* гена *VDR* также ассоциирован с поздним дебютом заболевания и гонартрозом. Аллель A и генотип AA локуса *rs1042673* гена *SOX9* оказались маркерами повышенного риска развития ДСТ у женщин, а также ОА в сочетании с ДСТ. Аллель C локуса *rs2463018* гена *CHST11* ассоциирован с ОА в сочетании с ДСТ. Генотип AA локуса *rs13317* гена *FGFR1* и аллель C локуса *rs1054204* гена *SPARC* оказались ассоциированы с ОА в целом.

Ключевые слова: остеоартроз, остеоартрит, дисплазия соединительной ткани, коморбидность, полиморфизм, гены, микро-РНК.

THE SEARCH FOR ASSOCIATIONS OF POLYMORPHIC VARIANTS OF MICRO-RNA BINDING SITES WITH OSTEOARTHRITIS IN WOMEN

D.A. Shapovalova¹, A.V. Tyurin², S.S. Litvinov¹, R.I. Khusainova¹

Institute of Biochemistry and Genetics Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia¹

Bashkir State Medical University, Ufa, Russia²

Abstract

Osteoarthritis (OA) is a common multifactorial joint disease, which is characterized by complex polygenic etiology. Connective tissue dysplasia (CTD) is considered to be a factor for the development of somatic diseases, including the musculoskeletal pathology. We have analyzed 6 polymorphic loci which are located in the miRNA binding sites, and associations of allele G (*rs229077* of *ADAMTS5*) and genotype AA (*rs11540149* of *VDR*) with knee OA was revealed. Allele A was associated with late onset of OA and knee OA. Allele A and genotype AA (*rs1042673* of *SOX9*) were associated with CTD in women, and OA with CTD signs. Allele C (*rs2463018* of *CHST11*) was associated with OA with CTD signs. Genotype AA (*rs13317* of *FGFR1*) and allele C (*rs1054204* of *SPARC*) were associated with OA.

Keywords: Osteoarthritis, osteoarthritis, connective tissue dysplasia, comorbidity, polymorphism, genes, micro-RNA.

Актуальность. Остеоартроз (ОА) – является одной из ведущих причин снижения трудоспособности и инвалидности населения старшего возраста [1]. ОА обладает сложной полигенной природой, в патогенез которого вовлечено множество генетических и эпигенетических факторов. Одним из факторов, участвующих в патогенезе ОА, могут быть недифференцированные формы дисплазии соединительной ткани (ДСТ) – генетически детерминированные нарушения структуры соединительной ткани, приводящие к различным морфофункциональным нарушениям висцеральных и локомоторных органов и не укладывающиеся в структуру

наследственных синдромов. Проблема сочетания ОА с фенотипическими проявлениями ДСТ чрезвычайно актуальна, представляет собой как фундаментальную, так и практическую задачу, разрешение которой будет способствовать разработке подходов ранней диагностики ОА. В последнее время большое внимание уделяется роли эпигенетических факторов в формировании многофакторных заболеваний человека. Идентифицированы ряд микроРНК, которые играют важную роль в регуляции работы генов, поддерживающих гомеостаз кости и хряща [2]. Полиморфизм сайтов связывания микроРНК может нарушить сродство микроРНК со своими таргетными мРНК и влиять на эффективность данного комплекса, однако остаются открытыми вопросы о прогностической ценности выявленных закономерностей.

Цель исследования – изучение полиморфных вариантов *rs11540149* гена агреканазы-2 (*ADAMTS5*), *rs2463018* хондроитинсульфата (*CHST11*), *rs13317* рецептора 1 фактора роста фибробластов (*FGFR1*), *rs1042673* транскрипционного фактора (*SOX9*), *rs1054204* остеонектина (*SPARC*), и *rs11540149* рецептора витамина D (*VDR*), располагающихся в сайтах связывания микроРНК, и поиск ассоциаций с ОА у женщин с учетом локализации, возраста манифестации ОА, а также наличия признаков ДСТ.

Материал и методы. Материалом для исследования послужили образцы ДНК 190 женщин в возрасте от 40 до 73 лет (средний возраст 56,5), 99 из которых с признаками ОА. Признаки ДСТ диагностированы у 83 женщин, и оценивались в баллах, согласно критериям Кадуриной (2007). В качестве основного метода генотипирования была использована технология конкурентной аллель-специфичной ПЦР (KASP®).

Результаты. Аллель *G* полиморфного локуса *rs229077* гена *ADAMTS5*, продукт которого является основным ферментом, участвующим в деградации агрекана, основного компонента внеклеточного матрикса хряща (ВКМ), оказался ассоциирован с развитием гонартроза у женщин в общей выборке ($\chi^2=4,172$; $p=0,041$, OR=2,06; 95 % ДИ 1,02–4,15), а генотип *GG* показал тенденцию к ассоциации ($p=0,077$). Аллель *G* имеет сродство с *miR-3912-3p*, в то время как аллель *A* имеет сродство с *miR-105-5p*, *miR-4719*, *miR-5700*, *miR-586*, *miR-7853-5p*.

Генотип *AA* полиморфного локуса *rs11540149* гена рецептора витамина D (*VDR*) оказался ассоциирован с развитием гонартроза ($\chi^2=4,027$, $p=0,044$, OR=9,56; 95% ДИ 1,08–84,30), аллель *A* – с развитием ОА в целом ($\chi^2=4,701$, $p=0,030$, OR=4,28; 95% ДИ 1,20–15,30), у женщин с поздним дебютом заболевания ($\chi^2=5,960$, $p=0,020$, OR=4,42; 95% ДИ 1,21–16,16), а также гонартрозом ($\chi^2=9,467$, $p=0,002$, OR=7,09; 95 % ДИ 1,9225,91), и имеет сродство с *miR-1260a*, *miR-1260b*, *miR-188-3p*, *miR-3156-3p*, *miR-4446-5p*.

Аллель *A* и генотип *AA* полиморфного локуса *rs1042673* гена транскрипционного фактора *SOX9* оказались маркером повышенного риска ДСТ у женщин в общей выборке ($\chi^2=4,506$; $p=0,034$, OR=4,28; 95 % ДИ 1,20–15,29 и $\chi^2=9,682$; $p=0,002$, OR=2,77; 95 % ДИ 1,42–5,39), а также ОА и ДСТ в коморбидном состоянии ($\chi^2=4,421$; $p=0,035$; OR=1,64; 95 % ДИ 1,02–2,72 и $\chi^2=4,496$; $p=0,034$; OR=2,33; 95% ДИ 1,06–5,13). Аллель *A* имеет сродство с *miR-190a-3p* и *miR-5011-5p*, тогда как аллель *G* – с *let-7d-3p*.

Генотип *AA* локуса *rs13317* гена рецептора 1 фактора роста фибробластов (*FGFR1*), участвующего в регуляции множества клеточных процессов, включая рост, дифференцировку, миграцию, выживаемость клеток, оказался ассоциированным с ОА в целом ($\chi^2=4,519$; $p=0,033$; OR=2,32; 95% ДИ 1,065,06). Аллель *A* имеет сродство с *miR-3128* и *miR-4470*.

Аллель *C* полиморфного локуса *rs2463018* гена фермента сульфотрансферазы (*CHST11*), участвующего в образовании хондроитинсульфата, важного компонента протеогликана хряща, ассоциирован с ОА в сочетании с ДСТ ($\chi^2=5,227$; $p=0,022$; OR=1,78; 95% ДИ 1,082,91), и является потенциальным сайтом связывания для *miR-8069* и *miR-8075*.

Аллель *C* локуса *rs1054204* мРНК гена остеонектина (*SPARC*) является маркером повышенного риска развития ОА ($\chi^2=4,001$; $p=0,045$, OR=1,52; 95 % ДИ 1,01–2,29) и имеет сродство с *miR-3617-5p* и *miR-641*. Аллель *G* и генотип *GG* – маркерами пониженного риска ОА ($\chi^2=4,001$; $p=0,045$, OR=0,66; 95 % ДИ 0,44–0,91 и $\chi^2=5,470$, $p=0,019$ OR=0,43; 95 % ДИ 0,21–0,88). Роль перечисленных выше микро-РНК в патогенезе ОА еще предстоит выяснить.

Выводы. Таким образом, нами выявлена значимость полиморфных вариантов в сайтах связывания микро-РНК генов *ADAMTS5*, *CHST11*, *FGFR1*, *SOX9*, *SPARC*, *VDR* в формировании предрасположенности к ОА при наличии симптомокомплекса ДСТ, что подтверждает значимость ДСТ в формировании суставной патологии и существование общих генетических маркеров развития данных состояний.

Исследование поддержано РФФИ (грант №16-04-01487_а.) и программой поддержки биоресурсных коллекций ФАНО.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhang M., Egan B., Wang J. Epigenetic mechanisms underlying the aberrant catabolic and anabolic activities of osteoarthritic chondrocytes. *Int J Biochem Cell Biol.* 2015 Oct; 67: 101–109. doi:10.1016/j.biocel.2015.04.019.
2. Yu X.M., Meng H.Y., Yuan X.L., Wang Y., Guo Q.Y., Peng J., Wang A.Y., Lu S.B. MicroRNAs' Involvement in Osteoarthritis and the Prospects for Treatments. *Institute of Orthopedics, Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.* 2015(1): 113 Nov. 2015. doi: 10.1155/2015/236179.

ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯТОРОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК НА ПРОДУКЦИЮ ПРО- И ПРОТИВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ФИБРОБЛАСТОПОДОБНЫМИ СИНОВИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ IN VITRO, ИХ МИГРАЦИЮ И ИНВАЗИЮ

М.А. Шнайдер

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Аннотация

С целью изучения влияния модуляторов метилирования ДНК на продукцию про- и противовоспалительных цитокинов фибробластоподобными синовиальными клетками (ФСК) использовались клетки, полученные из синовиальной ткани 9 больных активным ревматоидным артритом (РА) после 3–7 пассажей культивирования in vitro. Показано, что добавление S-аденозилметионина (SAME) в культуры увеличивало на 35 % уровень 5-метилцитозина в ФСК, а гидралазин и генистеин уменьшали показатели метилирования в 2 раза. Выявлена спонтанная продукция IL-6, IL-17, IL-18 и IL-10 в культурах ФСК, добавление IL-1β значительно усиливало синтез цитокинов. Донаторы метилирования ДНК снижали содержание IL-6 в культурах ФСК. SAME в максимальной концентрации, в отличие от гидралазина и генистеина снижал продукцию IL-18. Уровень IL-17 уменьшался при действии модуляторов в малых дозах, а продукция IL-10 практически не менялась. Все исследуемые модуляторы ДНК статистически значимо уменьшали показатель миграции клеток на 15 %, а показатель инвазии клеток на 55 %. Заключается, что синтез провоспалительных и противовоспалительных цитокинов ФСК, их миграция и инвазия обусловлены не только процессами метилирования ДНК, но и опосредованы другими эпигенетическими механизмами. Модель ФСК может быть использована как мишень для доклинической оценки новых модуляторов метилирования ДНК.

Ключевые слова: фибробластоподобные синовиальные клетки, ревматоидный артрит, метилирование ДНК.

THE EFFECT OF DNA METHYLATION MODULATORS ON THE PRODUCTION OF PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES BY FIBROBLAST-LIKE SYNOVIAL CELLS OF PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS IN VITRO, THEIR MIGRATION AND INVASION

M.A. Shnyder

Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia

Abstract

For the purpose of studying the effect of DNA methylation modulators on the production of pro- and anti-inflammatory cytokines by fibroblast-like cells (FLC), the cells derived from the synovial tissue of 9 patients with active rheumatoid arthritis (RA) after 3–7 in vitro culturing passages were used. It was shown that the addition of ademetionine in culture increased the level of 5-methylcytosine in FLC by 35 %, and hydralazine and genistein reduced the methylation values by 2 times. Spontaneous production of IL-6, IL-17, IL-18 and IL-10 in cultures of FLC was revealed, and the addition of IL-1β significantly enhanced the cytokine synthesis.

DNA methylation donors reduced the content of IL-6 in cultures of FLC. S-Adenosyl-L-Methionine (SAME) in the maximum concentration, in contrast to hydralazine and genistein, reduced the production of IL-18. Action of modulators at low doses reduced the level of IL-17, and production of IL-10 remained practically unchanged. All the studied DNA modulators significantly reduced the percentage of migrating cells by up to 15 % and the percentage of invading cells by up to 55 %. It was concluded that the synthesis of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines of FLC, their migration and invasion is associated not only with their effect on DNA methylation but is also mediated by other epigenetic mechanisms. The FLC model can be used as a target for preclinical evaluation of new DNA methylation modulators.

Keywords: fibroblast-like synovial cells, rheumatoid arthritis, DNA methylation.

Актуальность. В настоящее время показано, что фибробластоподобные синовиальные клетки (ФСК) больных ревматоидным артритом играют ключевую роль в поддержании воспаления и деструкции суставов. ФСК больных РА отличаются рядом особенностей – автономностью, способностью к инвазивному росту, сохраняющейся после ряда пассажей в культуре, способностью к миграции в другие суставы, лежащей в основе полиартикулярного поражения при РА. Предполагается, что стабильно активированный деструктивный фенотип ФСК при РА обусловлен эпигенетическими изменениями, в частности тотальным гипометилированием ДНК [1]. В качестве перспективного терапевтического подхода в лечении РА были предложены агенты, влияющие на метилирование ДНК. Одним из агентов, реверсирующих гипометилирование ДНК, является донор метиловых групп – S-Аденозил-L-Метионин (SAME) [2]. Фитоэстроген сои – генистеин, оказывает аналогичное действие на некоторые клеточные линии, добавляя метиловые группы. Одним из деметилирующих ДНК препаратов, воздействующих на DNMT1, является гидралазин [3].

Материал и методы. ФСК были выделены из синовиальной оболочки, полученной во время операции по замене сустава от 9 больных активным РА и культивировали *in vitro* по общепринятой методике. Использовались ФСК, после 3–7 пассажей культивирования. Уровень метилирования ДНК в ФСК измеряли методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител к 5-метилцитозину. Для стимуляции синтеза цитокинов ФСК стимулировали IL-1 β 10 нг/мл, а затем к культурам добавляли один из модуляторов метилирования ДНК: SAME (25, 50, 100 мкг/мл), генистеин (5, 10, 20 мкг/мл) или гидралазин (5, 10, 20 мкмоль/мл). Уровень IL-6, IL-18, IL-17 и IL-10 в супернатантах ФСК оценивали с помощью стандартных наборов Вектор-Бест. Исследования по инвазии и миграции ФСК проводились при помощи 96-луночных планшетов (модифицированные камеры Бойдена). Описательная статистика представлена средней и стандартной ошибкой средней. Для выявления различий между сравниваемыми подгруппами использовали критерий Стьюдента.

Результаты. Гидралазин и генистеин статистически значимо уменьшали показатели флуоресценции – в среднем в 2 раза, тогда как SAME, напротив, статистически значимо увеличивал флуоресценцию на 35 %. Внесение в культуры ФСК гидралазина в разных концентрациях не изменяло уровень продукции IL-6. Добавление SAME и генистеина в определенных концентрациях статистически значимо снижало синтез цитокина. Генистеин и гидралазин не изменяли уровень другого провоспалительного цитокина – IL-18 в супернатантах культур ФСК. Однако SAME в максимальной концентрации статистически значимо снижал уровень цитокина. Продукция IL-17 снижалась при внесении в культуры ФСК используемых модуляторов преимущественно в малых дозах. Внесение в культуры модуляторов метилирования ДНК в разных концентрациях не меняло уровень продукции IL-10, за исключением статистически значимого снижения синтеза цитокина в ответ на средние дозы генистеина. SAME, гидралазин и генистеин статистически значимо уменьшали показатель инвазии клеток на 55 %, а показатель миграции клеток на 15 %. Дозозависимого эффекта не отмечено.

Выводы. Эти данные свидетельствуют о том, что используемая модель ФСК адекватна решению поставленных задач, поскольку модуляторы метилирования ДНК (SAME, гидралазин, генистеин) с известными свойствами прогнозируемо изменяют его уровень. В использованной модели синтез всех изученных провоспалительных цитокинов снижался только при добавлении в культуры донатора метильных групп SAME в определенных дозах. Деметилатор гидралазин практически не менял синтез цитокинов, а генистеин в некоторых дозах снижал продукцию IL-6 и IL-17. Модуляторы метилирования ДНК не влияли на продукцию клетками ФСК противовоспалительного цитокина IL-10, за исключением генистеина, внесение которого в средней дозировке снижало продукцию цитокина. SAME, гидралазин и генистеин уменьшали миграционную и инвазивную способность ФСК больных РА, вне

зависимости от их модуляционных свойств ДНК. Можно предположить, что уровень синтеза про- и противовоспалительных цитокинов, а также миграционная и инвазивная способность ФСК больных РА определяются не только процессами метилирования и деметилирования ДНК, но и опосредованы другими эпигенетическими механизмами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Karouzakis E., Gay R.E., Michel B.A., Gay S., Neidhart M. DNA hypomethylation in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2009; 60(12): 361322. doi: 10.1002/art.25018.
2. Roje S. S-Adenosyl-L-methionine: beyond the universal methyl group donor. *Phytochemistry.* 2006; 67(15): 168698. doi: 10.1016/j.phytochem.2006.04.019.
3. Arce C., Segura-Pacheco B., Perez-Cardenas E., Taja-Chayeb L., Candelaria M., Duennas-Gonzalez A. Hydralazine target: from blood vessels to the epigenome. *J Transl Med.* 2006; 4: 10. doi: 10.1186/1479-5876-4-10.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ ПРОФЕССИОНАЛЬНО ОБУСЛОВЛЕННОЙ ПАТОЛОГИИ У РАБОЧИХ АЛЮМИНИЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Т.К. Ядыкина, А.С. Казницкая, О.Н. Гуляева, А.М. Олещенко, А.Г. Жукова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», г. Новокузнецк, Россия

Аннотация

Наличие гомозигот по нуль-аллелю *GSTT1*, а также сочетание полиморфных вариантов генов *CYP1A1*(AG)/*CYP1A2*(CC) и *IL1B*(TT)/*IL6*(GC) выступают маркером высокого риска развития профессионально обусловленной мультифакториальной патологии у рабочих основных профессий в производстве алюминия, в то время как обладатели нормальных сочетаний *GSTT1*+/*GSTM1*+ показывают устойчивую резистентность к хронической интоксикации промышленного генеза.

Ключевые слова: профессиональная патология, риск, полиморфизм генов.

MOLECULAR-GENETIC MARKERS OF PREDISPOSITION TO THE DEVELOPMENT OF PROFESSIONALLY DISCUSSED PATHOLOGY IN WORKERS OF ALUMINUM INDUSTRY

T.K. Yadykina, A.S. Kazitskaya, O.N. Gulyaeva, A.M. Oleshchenko,
A.G. Zhukova

Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases», Novokuznetsk, Russia

Abstract

The presence of homozygotes along the null allele of *GSTT1*, as well as the combination of the polymorphic variants of the *CYP1A1* (AG)/*CYP1A2* (CC) and *IL1B*(TT)/ *IL6*(GC) genes is a marker of the high risk of developing professionally conditioned multifactorial pathology in the main occupations of aluminum, while the holders of normal variants of the *GSTT1*+/*GSTM1*+ combinations show a stable resistance to chronic intoxication of industrial genesis.

Keywords: professional pathology, risk, gene polymorphism.

Одним из приоритетных направлений современной медицины труда является изучение молекулярно-генетических маркеров и гигиенических критериев оценки риска развития профессионально обусловленной патологии с учетом величины экспозиции патогенетических факторов на организм. Актуальной является разработка методов ранней диагностики начальных стадий развития профессиональных заболеваний и своевременная их профи-

лактика, основанная на изучении наследственной компоненты с учетом внешних факторов производственной среды, при одинаковом воздействии которых на организм патологические изменения в органах и тканях возникают лишь у определенной группы лиц. Согласно современной концепции экогенетики, различная чувствительность организма к воздействию внешнесредовых факторов, вероятность возникновения, особенности формирования, течения заболевания обусловлены эндогенными причинами и определяются генетическим полиморфизмом человека.

Основную группу сочетанных профессиональных нозологий на предприятиях алюминиевой промышленности составляют заболевания, обусловленные физическими факторами (интенсивный шум, нагревающий микроклимат, вибрация), сочетающимися с загазованностью, запыленностью воздуха рабочих зон различными химическими веществами и соединениями аллергенного, канцерогенного, смешанного типа воздействий. Риск хронической интоксикации (неспецифических токсических эффектов) – вероятность получения патологии, связанной с загрязнением воздуха рабочих зон алюминиевого производства фтористым водородом, взвешенными веществами, аэрозолями преимущественно фиброгенного действия (АПФД), диоксидом азота, диоксидом серы, фенолом (гидроксibenзолом), оксидом углерода, солями фтора обусловлен и наследственной компонентой, инициирующей развитие мультифакториальной патологии.

Цель исследования – изучение молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к развитию профессионально обусловленной патологии у рабочих алюминиевой промышленности и оценка риска развития хронической интоксикации.

Материал и методы. Содержание АПФД, углерод оксида, диоксида серы, диоксида азота, фтористого водорода, солей фтора и фенола в воздухе рабочих зон определяли в соответствии с ГОСТ 12.1.005. – 88 «Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны». Оценка загрязнения воздуха рабочих зон производили в соответствии с ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) в воздухе рабочей зоны» и ГН 2.2.5.1314-03 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».

Для исследования аллельного полиморфизма генов II фазы биотрансформации ксенобиотиков *GSTT1/GSTM1* и I фазы – ферментов семейства CYP у работников алюминиевого производства выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови проводили фенол-хлороформным методом. Генотипирование для полиморфных локусов генов: *CYP1A1* (rs4646903), *CYP1A2* (rs762551), *GSTT1*-, *GSTM1*-, *IL1B*, *IL6* осуществляли методом ПЦР Real Time с анализом температур плавления по протоколу. Тест-системы для молекулярно-генетического анализа разработаны в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, синтезированы ООО «СибДНК». Полиморфизм нуль-аллелей гена *GSTT1* и *GSTM1* изучен у 143 человек. Исследование проведено на базе клиники НИИ КППЗ. Группу больных (85 человек) составили металлурги АО «РУСАЛ Новокузнецк»: анодчики, электролизники, крановщики. Контроль – рабочие (58 человек) этих же специальностей, не страдающие профессиональной патологией. Средний возраст обследованных – 53,4 года, пол мужской, стаж работы во вредных условиях производства – 21,6 года.

Достоверность различий в распределении генотипов между группами здоровых и больных лиц оценивали по критерию χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Об ассоциации разных генотипов с заболеванием судили по величине OR – отношению шансов при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты. Суммарный риск у работников основных профессиональных групп алюминиевого производства за 25 лет находится в пределах от 0,27 до 0,32. Максимальный уровень риска хронической интоксикации отмечен на рабочих местах анодчиков (0,32), минимальный – на рабочих местах крановщиков (0,27). Удельный вес фтористого водорода и АПФД в риске возникновения неспецифических токсических эффектов у машинистов крана достигает 53,7 %; у электролизников – 49,5 %; у анодчиков – 46,9 %. Удельный вес взвешенных веществ в суммарном риске хронической интоксикации работников алюминиевого производства составляет: у анодчиков – 57,5 %; у электролизников – 53,7 %; у машинистов крана – 49,6 %.

Загрязнение воздуха рабочей зоны фтористым водородом, взвешенными веществами и фенолом вносит основной вклад в вероятность получения работниками алюминиевого производства неспецифической патологии. Высокая полиморфность генов ферментов CYP, GST обуславливает метаболическую специфичность и предрасположенность к мультифакториальным нозологиям. Частота сочетаний *GSTT1*-/ *GSTM1*- в группе больных связана с

риском развития хронической интоксикации ($\chi^2 = 9,04$; $OR=7,39$), а обладатели нормальных вариантов сочетаний *GSTT1*+/*GSTM1*+ показывают устойчивую резистентность ($\chi^2=9,90$; $OR=0,73$). Положительную ассоциативную связь с риском развития, в частности, хронической фтористой интоксикации имеет сочетание *GSTT1*+/*GSTM1*- и *GSTT1*-/*GSTM1*+. Исследование полиморфизма *CYP1A2* выявило высокую частоту встречаемости генотипа CC ($\chi^2=0,1642$; $OR=2,0$). В группе больных преобладало сочетание гена *GSTT1*+ с диким типом *CYP1A2* (CC), в то время как в контроле с установленным генотипом чаще присутствовал вариант *GSTT1*-. Исследование гена *CYP1A1* выявило, что сочетание полиморфных вариантов *CYP1A1*(AG)/*CYP1A2*(CC) является фактором риска развития системной патологии у рабочих основных профессий в производстве алюминия.

Оценка роли молекулярно-генетических полиморфизмов генов *IL1B*, *IL6* показала, что в группе больных доминировал генотип ТТ ($\chi^2=4,11$; $OR=2,60$) гена *IL1B*, имеющий положительную ассоциативную связь с генотипом GC гена *IL6* ($\chi^2=4,31$; $OR=1,91$) – преобладающих патологических маркеров, обуславливающих, в частности, усугубление патогенеза остеосклероза у больных флюорозом.

Выводы. Частота и тяжесть профпатологии определяются не только интенсивностью и характером влияния вредных производственных факторов, но и реактивностью организма на их воздействие, а также индивидуальным риском. Исследование выявило высокую значимую сопряженность сочетаний *GSTT1*-/*GSTM1*-, *CYP1A1*(AG)/*CYP1A2*(CC), *IL1B*(ТТ)/*IL6*(GC) с риском развития профессиональной патологии у работников алюминиевой промышленности.

ПОИСК АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФИЗМА САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ МИКРОРНК ГЕНА *VDR* С ОСТЕОПОРОЗОМ

Б.И. Ялаев, Р.И. Хусаинова

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа, Россия

Аннотация

Известно, что в формирование остеопороза (ОП) существенный вклад могут вносить эпигенетические факторы. Проведено исследование полиморфного варианта rs11540149 в сайте связывания микроРНК в мРНК гена *VDR*, играющего важную роль в патогенезе остеопороза. Впервые нами обнаружена ассоциация редкого аллеля *А с переломами, а также тенденция к ассоциации с тяжелым уровнем снижения минеральной плотности костей (МКПТ) у мужчин русской этнической принадлежности. Результаты работы позволяют предположить, что исследуемый локус вносит вклад в активность гена *VDR*.

Ключевые слова: остеопороз, эпигенетика, микроРНК, полиморфизм, аллель.

SEARCH FOR ASSOCIATION OF POLYMORPHISM IN MICRORNA BINDING SITE OF THE *VDR* GENE WITH OSTEOPOROSIS

B.I. Yalaev, R.I. Husainova

Institute of Biochemistry and Genetics Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

Abstract

In fact, epigenetic factors have make a significant contribution to the formation of osteoporosis. This work is devoted to the study of polymorphic variant binding of miRNAs rs11540149 in mRNA of *VDR* gene, that encoding vitamin D receptor and plays an important role in osteoporosis pathogenesis. For the first time, we found association of rare allele *A and its genotype with fractures, and we found the trend of association with

severe reduction in bone mineral density (BMD) men of russian ethnicity. The results suggest that the studied locus rs11540149 makes a significant contribution to the activity of the *VDR* gene.

Keywords: Osteoporosis, epigenetics, microRNA, polymorphism, allele.

Актуальность. Исследования кандидатных генов остеопороза, а также полногеномные исследования GWAS позволили выявить, что остеопороз обусловлен широким спектром патогенетических механизмов, при этом доля наследственных факторов, участвующих в регуляции уровня минеральной плотности костной ткани, составляла 80 %, а остеопоротических переломов – 25 %. Среди наиболее значимых генов, ассоциированных с остеопорозом, оказался ген рецептора витамина Д (*VDR*) – член семейства ядерных транскрипционных факторов, играющий значительную роль в метаболизме костной ткани и регуляции минерального обмена [1].

Прежде всего, активность гена *VDR* влияет на процесс мобилизации кальция, обеспечивает нормальный уровень роста костей и участвует в регуляции уровня минеральной плотности костной ткани. Помимо этого, исследования показали, что полиморфизм данного гена также может быть ассоциирован с рядом других заболеваний, в том числе и онкологическими заболеваниями, сахарным диабетом, артериальными гипертониями и другими, что объясняется вовлеченностью продукта данного гена в регуляцию экспрессии многих других генов. Очевидный интерес и интенсивное изучение гена *VDR* позволили идентифицировать полиморфные варианты, уже применяемые сегодня как клинико-диагностические маркеры патологий соединительной ткани, в том числе и остеопороза [2].

Однако исследования гена *VDR* продолжают и в ряде случаев показывают противоречивые данные относительно распределении частот аллелей и генотипов локусов данного гена, что актуализирует дальнейшую работу по исследованию его полиморфных вариантов. Кроме того, работы ряда авторов показывают, что значительную роль в патогенезе остеопороза могут играть также и эпигенетические факторы, в частности, полиморфные варианты сайтов связывания микроРНК, которые, как оказалось, вовлечены в регуляцию работы групп генов, ассоциированных с остеопорозом, такие как система RANK-OPG-RANKL, Wnt-сигнальный путь и многие другие.

Однако исследования как полиморфизма сайтов связывания микроРНК, так и эпигенетических факторов в целом, относительно их роли в патогенезе остеопороза, находятся на начальной стадии. Среди всех патогенетических факторов, установленных для остеопороза, остается определенная доля неидентифицированных звеньев, которые необходимы для более точного прогнозирования риска развития данного заболевания [3].

Цель работы – изучение полиморфного локуса rs11540149 (с.*1865G>A) в сайте связывания микроРНК с мРНК гена рецептора витамина Д (*VDR*).

Материал и методы. Выборка из коллекции ДНК пациентов с остеопорозом в количестве 543 человек, среди которых 229 мужчин и 314 женщин в возрасте 27 до 87 лет русской этнической принадлежности. Выборка была разделена на группы сравнения, которые анализировались с учетом наличия/отсутствия переломов, уровня минеральной плотности костной ткани (МКПТ) шейки бедра и поясничного отдела позвоночника, измеренных методом DEXA (“Hologic”, США), гендерной принадлежности. Характеристика групп сравнения представлена в табл. 1. Генотипирование исследуемого локуса проводили с применением конкурентной аллель-специфической ПЦР с использованием технологий KASP-генотипирования по конечной точке.

Результаты. В результате проведенной работы были обнаружены статистически значимые различия по частотам аллелей исследуемого локуса между мужчинами с переломами и без переломов. Аллель А (с.*1865G>A) оказался рисковым ($p=0,048$, $\chi^2=3,883$, OR=1,89, 95 % ДИ (1–3,60)). Гомозиготный генотип AA оказался редким, поэтому мы объединили гомо- и гетерозиготные генотипы, в результате чего также был выявлен их рисковый эффект ($p=0,049$, $\chi^2=3,885$, OR=2,034, ДИ (1–4,17)). При этом данный аллель ($p=0,070$, $\chi^2=3,28$, OR=1,86, ДИ (0,944–3,687)) и его генотипы ($p=0,053$, $\chi^2=3,743$, OR=2,13, ДИ (0,982–4,606)) также имеют тенденцию к ассоциации с тяжелым уровнем снижения минеральной плотности костной ткани (МКПТ). При этом у женщин не обнаружено таких закономерностей, что подтверждает существование гендерных различий в формировании патогенеза остеопороза.

Выводы. Полученные нами результаты предполагают вклад замены с.*1865G>A в регуляцию активности гена *VDR*. Аллель *G имеет сходство с такими микроРНК, как: miR-

150-5p, miR-2116-3p, miR-4713-5p, miR-532-3p, miR-629-3p, miR-6867-3p, тогда как аллель *A – с miR-1260a, miR-1260b, miR-188-3p, miR-3156-3p, miR-4446-5p, что предполагает изменение в регуляции экспрессии гена *VDR*. Значимость данных микроРНК в патогенезе ОП еще предстоит выяснить. Планируется расширение выборки для увеличения статистической мощности исследования с включением дополнительных данных по локализации переломов различных отделов скелета и количественных параметром уровня МПКТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Yong-Jun L., Zhang L., Papasian C.J., Hong-Wen D.* Genome-wide Association Studies for Osteoporosis: A 2013 Update. *Journal of bone metabolism*. 2014. 21(2): 9116. doi: 10.11005/jbm.2014.21.2.99.
2. *Козлов А.И., Веригубская Г.Г., Негашева М.А.* Полиморфизм гена рецептора витамина D (*VDR*) в выборках населения европейской России и Приуралья. *Пермский медицинский журнал*. 2016. 33(5): 6066.
3. *Гребенникова Т.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А., Дедов И.И.* Эпигенетические аспекты остеопороза. *Вестник РАМН*. 2015. 70(5): 541548. doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1440.

ПОИСК МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ТЕРАПИИ ИТК У ПАЦИЕНТОВ С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫМ ХМЛ

Э.П. Адильгереева¹, С.А. Смирнихина¹, Е.Ю. Чельшева³, О.А. Шухов³,
К.С. Кочергин-Никитский¹, В.Д. Якушина¹, Г.А. Цаур^{4,5,6}, С.В. Морданов⁷,
А.Г. Туркина³, А.В. Лавров^{1,2}, С.И. Куцев^{1,2}

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», г. Москва, Россия¹
ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва, Россия²
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия³
ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница» № 1 Министерства здравоохранения
Свердловской области, г. Екатеринбург, Россия⁴
ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», г. Екатеринбург, Россия⁵
ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Екатеринбург, Россия⁶
ФГБОУ ВО «Ростовский медицинский центр» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, г. Ростов, Россия⁷

Аннотация

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) – частое миелопролиферативное заболевание, характеризующееся наличием в лейкозных клетках химерного гена BCR/ABL1, который обеспечивает неконтролируемую клеточную пролиферацию. Первичная резистентность или отсутствие оптимального ответа на терапию ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) регистрируются примерно у 20 % пациентов с ХМЛ. **Цель работы** – обнаружение возможных маркеров эффективности терапии ИТК. Мы провели два отдельных исследования – полноэкзомное секвенирование и анализ транскриптома у пациентов с впервые выявленным ХМЛ. Нами были выявлены 7 экзомных вариантов, а также различия между группами больных ХМЛ с различным первичным ответом на терапию ИТК как в общем количестве генетических вариантов, так и в уровне экспрессии генов, ассоциированных с протоонкогенными сигнальными путями.

Ключевые слова: хронический миелоидный лейкоз, ингибиторы тирозинкиназ, экзомное секвенирование, транскриптом, резистентность к ИТК.

FINDING MOLECULAR MARKERS FOR THE EFFICIENCY OF TKI THERAPY IN PATIENTS WITH NEWLY DIAGNOSED CML

E.P. Adilgereeva¹, S.A. Smirnikhina¹, E.Y. Chelysheva³, O.A. Shukhov³,
K.S. Kochergin-Nikitsky¹, V.D. Yakushina¹, G.A. Tsaur^{4,5,6}, S.V. Mordanov⁷,
A.G. Turkina³, A.V. Lavrov^{1,2}, S.I. Kutsev^{1,2}

Federal State Budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics», Moscow, Russia¹
Department of Molecular and Cellular Genetics, State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov» of Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia²
Scientific and Advisory Department of Chemotherapy of Myeloproliferative disorders, Federal State-Funded Institution National Research Center for Hematology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia³
Regional Children Hospital, Ekaterinburg, Russia⁴
Research Institute of Medical Cell Technologies, Ekaterinburg, Russia⁵
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Urals State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ekaterinburg, Russia⁶
The Rostov State Medical University, of Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov, Russia⁷

Abstract

Chronic myeloid leukemia (CML) is a common myeloproliferative disease characterized by pathogenic activity of the chimeric tyrosine-kinase BCR/ABL which stimulates uncontrolled cell proliferation and DNA instability. Primary resistance or non-optimal response to targeted tyrosine-kinase inhibitors (TKI) is registered in up to 20 % of patients. The aim of the study is to find new potential genetic markers of TKI resistance. We conducted two separate studies – Whole exome sequencing and transcriptome analysis in patients with newly diagnosed CML. We found 7 variants in cancer-related genes with different genotypes in two groups of patients, and differences between groups of patients with CML with different primary response to TKI therapy both in the total number of genetic variants and the level of expression of genes associated with protooncogenic signaling pathways.

Keywords: chronic myeloid leukemia, TKI resistance, tyrosine kinase inhibitor, exome sequencing, transcriptome.

Актуальность. Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) – миелопролиферативное заболевание, характеризующееся присутствием в лейкозных клетках химерного гена BCR/ABL, обладающего тирозинкиназной активностью и обеспечивающего неконтролируемую клеточную пролиферацию. Несмотря на успехи терапии с использованием ингибиторов тирозинкиназ (ИТК), 5–30 % пациентов резистентны к лечению [1]. На сегодняшний день не существует достоверных прогностических маркеров, позволяющих определять группу риска резистентности на этапе диагностики заболевания. **Целью** нашей работы явился поиск возможных маркеров эффективности терапии ИТК.

Материал и методы. В исследование включены 8 пациентов с диагнозом Ph⁺ ХМЛ в хронической фазе (ХФ). Периферическую кровь забирали при установлении диагноза до начала терапии ИТК. Через 6 мес наблюдения пациенты были разделены на две группы: 4 человека с оптимальным ответом на терапию ИТК в соответствии с рекомендациями European Leukemia Net 2013 года [2] (BCR-ABL1 < 1 % и полный цитогенетический ответ Ph⁺ 0 %) и 4 человека с неоптимальным ответом (BCR-ABL1 > 1 % и/или цитогенетический ответ Ph⁺ > 10 %). Экзомное секвенирование проводили на платформе IonTorrent. Для валидации находок экзомного секвенирования была сформирована выборка пациентов с использованием тех же критериев включения. В группу валидации вошли 62 пациента с впервые выявленным ХМЛ (32 – с оптимальным и 30 – с неоптимальным ответом на терапию). В исследование по транскриптомному анализу были включены 12 пациентов с впервые выявленным ХМЛ (7 пациентов с оптимальным ответом на терапию и 5 пациентов с неоптимальным ответом). Периферическую кровь забирали в момент установления диагноза до начала терапии ИТК. Профилирование экспрессии выполнено с использованием HumanHT Expression Bead Chip (Illumina). Анализ данных выполнялся в Genome Studio GX Module (Illumina) и Partek Genomics Suite (Partek). Валидацию транскриптомных находок проводили с помощью количественной ПЦР. Статистические расчеты выполнялись с использованием STATISTICA 64, MS Office Excel. U-критерий Манна – Уитни был применен для двух независимых групп и использовался для анализа данных экспрессии, характеристик пациентов и сравнения количества полученных генетических вариантов.

С целью поиска новых молекулярных маркеров эффективности терапии ИТК мы провели два отдельных исследования – полноэкзомное секвенирование и анализ транскриптома у пациентов с впервые выявленным ХМЛ.

Результаты. По результатам полноэкзомного секвенирования выявлены пять вариантов присутствующих в группе пациентов с оптимальным ответом на терапию ИТК (rs11579366 в ANKRD35, rs1990236 в DNAH9, rs176037 в MAGEC1, rs10653661 в TOX3, rs3803264 в THSD1) и два варианта присутствующих в группе пациентов с неоптимальным ответом (rs3099950 в MORN2, rs9471966 в PTCRA) [3]. Данные варианты валидированы секвенированием по Сэнгеру на 62 пациентах. Частоты генотипов в исследуемых локусах не различались между группами пациентов с оптимальным и неоптимальным ответом на терапию ИТК ($p=0,16 \dots p=0,88$). Для сравнения количества обнаруженных генетических вариантов нами были проанализированы 9000 генов, среди которых 75 генов имеют статистически достоверные различия в количестве вариантов между группами ($p < 0,05$). В группе оптимально ответивших на терапию в 49 генах из 75 количество найденных вариантов было больше, чем в группе неоптимального ответа. Анализ генов с различным количеством вариантов показал, что они задействованы в RAS1 сигнальном пути, участвующем в регуляции межклеточных взаимодействия, а также связанным с известным проонкогенным путем MAPK. Многие

гены также ассоциированы с раком почки, легкого и молочной железы. Транскриптомный анализ 34681 гена выявил дифференциальную экспрессию 26 генов ($p < 0,05$) у пациентов с оптимальным и неоптимальным ответами. Десять из этих генов (DAZAP2, UBA52, PRR13, ATG7, LOC387820, PAK1, RAB11A, EMP3, GSTM1, GSTM2) связаны с другими видами рака, а еще четыре (RSAD2, MAP3K11, COMMD1, TNFRSF1A) задействованы в регуляторных путях, включая NF-κB, MAPK, JNK.

Выводы. По результатам проведенных исследований выявлены различия между группами больных ХМЛ с различным первичным ответом на терапию ИТК как в общем количестве генетических вариантов, так и в уровне экспрессии генов, ассоциированных с протоонкогенными сигнальными путями. По всей видимости, эффективность терапии обусловлена множеством генетических факторов, что затрудняет поиск предикторов на этапе постановки диагноза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bixby D., Talpaz M. Seeking the causes and solutions to imatinib-resistance in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2011 Jan; 25(1): 7–22. doi: 10.1038/leu.2010.238.
2. Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G., Hochhaus A., Soverini S., Apperley J.F., Cervantes F., Clark R.E., Cortes J.E., Guilhot F., Hjorth-Hansen H., Hughes T.P., Kantarjian H.M., Kim D.W., Larson R.A., Lipton J.H., Mahon F.X., Martinelli G., Mayer J., Müller M.C., Niederwieser D., Pane F., Radich J.P., Rousselot P., Saglio G., Saüfele S., Schiffer C., Silver R., Simonsson B., Steegmann J.L., Goldman J.M., Hehlmann R. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*; 2013 Aug 8; 122(6): 872–84. doi: 10.1182/blood-2013-05-501569.
3. Lavrov A.V., Chelysheva E.Y., Smirnikhina S.A., Shukhov O.A., Turkina A.G., Adilgereeva E.P., Sergey I. Kutsev. Frequent variations in cancer-related genes may play prognostic role in treatment of patients with chronic myeloid leukemia. *BMC Genet*. 2016 Jan; 17: 14. doi: 10.1186/s12863-015-0308-7.

СОВМЕСТНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ СА125 И HE4 У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ НА ЭТАПАХ ЛЕЧЕНИЯ И НАБЛЮДЕНИЯ

И.И. Алентов

Московский научно-исследовательский институт имени П.А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Исследованы уровни СА125 и HE4 в сыворотке крови 121 больной раком яичников (РЯ) в мониторинге лечения и наблюдения. Выявлены предоперационные уровни СА125 (535 ед/мл) и HE4 (205 пмоль/л), свидетельствующие о низкой вероятности достижения оптимальной циторедукции. Повышенные уровни хотя бы одного маркера после второго курса адъювантной химиотерапии (ХТ) являются предиктором короткого безрецидивного интервала. При развитии рецидивов реакция двух маркеров оказалась сходной в 36,6 % наблюдений, СА125 имел преимущество в 43,9 % случаев, а HE4 – в 19,5 % случаев. Значимая корреляция между уровнями СА125 и HE4 на всех этапах мониторинга отсутствовала.

Ключевые слова: рак яичников, СА125, HE4, мониторинг.

JOINT APPLICATION OF SERUM MARKERS CA125 AND HE4 IN OVARIAN CANCER PATIENTS AT THE STAGES OF TREATMENT AND OBSERVATION

I.I. Alentov

Moscow Scientific Research Institute named after P.A. Herzen - a branch of the Federal State Budgetary Institution "National Medical Research Center of Radiology" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Аннотация

Serum CA125 and HE4 levels were measured in follow-up of 121 ovarian cancer patients. Preoperative CA125 (535 U/ml) and HE4 (205 pmol/l) levels, indicating low probability of optimal cytoreduction, were determined.

Elevated levels of at least one of the markers after 2nd course of adjuvant chemotherapy were predictors of short progression-free interval. In recurrence, reaction of two markers was similar in 36.6 % cases, CA125 had advantage in 43.9 % cases and HE4 – in 19.5 % cases. There was no significant correlation between CA125 and HE4 in all stages of follow-up.

Keywords: ovarian cancer, CA125, HE4, follow-up.

Актуальность. РЯ является одной из ведущих причин смертности среди женщин с новообразованиями репродуктивного тракта. Среди первично выявленных больных более чем у 60 % диагностируют РЯ III и IV стадий, что обуславливает их низкую пятилетнюю выживаемость [1]. У большинства пациенток в разные сроки после завершения первичного лечения развиваются рецидивы заболевания, эффективность лечения которых зависит от сроков их выявления [2].

Маркером выбора для мониторинга больных РЯ является онкофетальный антиген СА125 [3]. Тем не менее данный диагностический тест имеет ряд недостатков, ограничивающих его применение [4]. На роль дополнительного к СА125 маркера для ранней диагностики и мониторинга больных РЯ претендует белок HE4.

Целью работы было установление целесообразности использования комбинации СА125 и HE4 для повышения эффективности мониторинга больных РЯ.

Материал и методы. Сывороточные уровни СА125 и HE4 были измерены на этапах лечения и наблюдения у 121 пациентки со злокачественными новообразованиями яичников, находившихся на обследовании и лечении в МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России в 2007–2015 гг.

Измерения сывороточных концентраций СА125 и HE4 проводили на автоматическом иммуноанализаторе ARCHITECT i1000SR методом иммунохемилюминесцентного анализа с использованием соответствующих наборов реактивов. Всего было произведено 1095 измерений СА125 и 963 измерения HE4.

В качестве дискриминационного уровня (ДУ) СА125 использовали значение 35 ед/мл. Для HE4 применяли зависимые от возраста верхние границы нормы: для женщин моложе 40 лет – 70 пмоль/л, в возрасте 40–50 лет – 100 пмоль/л, старше 50 лет – 120 пмоль/л.

Результаты. Оценка уровней СА125 и HE4 на старте лечения больных РЯ показала, что наибольшую диагностическую чувствительность в группе больных РЯ имел СА125 – 96,9 %; HE4 превышал норму в 80,0 % случаев. Различия в сывороточных концентрациях двух маркеров среди пациенток с опухолями разной степени дифференцировки оказались статистически незначимыми. Наиболее значимые отличия в уровнях обоих маркеров были отмечены при разных стадиях опухолевого процесса. Так, медиана СА125 возрастала от 66,0 ед/мл при III стадиях до 1306,6 ед/мл при IV стадии. Медиана HE4 при III стадиях составила 54,2 пмоль/л, а при IV стадии – 393,3 пмоль/л.

Динамика СА125 и HE4 в процессе неoadъювантной ХТ оказалась сходной. Оба маркера продемонстрировали выраженное снижение относительно стартовых значений, однако после 1 курса ХТ уменьшение HE4 было несколько более выраженным, чем СА125. К моменту завершения трех курсов ХТ уровни обоих маркеров оставались повышенными в 90,0 % наблюдений.

После выполнения операции доля случаев превышения ДУ СА125 снизилась до 72,5 %, а HE4 – до 30,0 %. Чем более высокими были уровни маркеров перед операцией, тем меньше была вероятность достичь оптимальной циторедукции. При предоперационных значениях СА125 выше 535 ед/мл и HE4 выше 205 пмоль/л ни у одной из больных не удалось достичь оптимальной циторедукции.

В процессе адъювантной ХТ уровни обоих маркеров продолжали снижаться. В тех наблюдениях, когда после выполнения двух курсов адъювантной ХТ значения СА125 и/или HE4 превышали ДУ, продолжительность безрецидивного периода не превышала одного года.

В ремиссии уровни СА125 и HE4 демонстрировали физиологические колебания. Наиболее характерными для СА125 были колебания, не превышавшие 50 % от базового уровня, достигнутого после окончания первичного лечения, а для HE4 – не более 20 % от базового уровня.

При развитии рецидивов РЯ концентрации обоих маркеров оказались значительно ниже, чем на старте лечения. Среднее значение и доля случаев превышения ДУ для СА125 составили 125,3 ед/мл и 79,2 %, соответственно, а для HE4 – 150,5 пмоль/л и 33,3 %, соответственно. При развитии рецидивов в 36,6 % наблюдений реакция двух маркеров оказалась сходной, еще в 43,9 % случаев СА125 начинал повышаться раньше HE4, а в 19,5 %, напротив, HE4

имел преимущество перед СА125. Время от начала роста маркера до клинического предъ-
явления рецидива для СА125 составило 4,3 мес, а для НЕ4 – 2,8 мес. Было установлено, что
существенная корреляция между значениями СА125 и НЕ4 на этапах лечения и наблюдения
отсутствовала.

На основании полученных данных было сделано заключение о целесообразности включе-
ния НЕ4 в маркерный мониторинг больных РЯ, поскольку это может дать дополнительную
информацию о статусе опухолевого процесса на этапах лечения и наблюдения.

Выводы. 1. У больных РЯ на старте лечения НЕ4 не имел преимуществ перед СА125.
2. Значения СА125 после завершения неоадьювантной ХТ, превышающие 535 ед/мл, и/или
значения НЕ4, превышающие 205 пмоль/л, являются предикторами низкой вероятности
достижения оптимальной циторедукции. 3. Повышенный уровень хотя бы одного маркера
после двух курсов адьювантной ХТ и/или после завершения первичного лечения ассоцииро-
ван с временем безрецидивного течения, не превышающим одного года. 4. Диагностическая
чувствительность СА125 и НЕ 4 при первом рецидиве оказалась достоверно ниже, чем на
старте лечения. 5. При первом и последующих рецидивах в 19,5 % случаев НЕ4 начинал
повышаться раньше, чем СА125.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России (заболеваемость и смертность). Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, 2017. 250.
2. Rustin G.J., van der Burg M.E., Griffin C.L., Guthrie D., Lamont A., Jayson G.C., Kristensen G., Mediola C., Coens C., Qian W., Parmar M.K., Swart A.M. Early versus delayed treatment of relapsed ovarian cancer (MRC OV05/EORTC 55955): a randomised trial. *Lancet*. 2010 Oct; 376: 1155–63.
3. Bast R.C.Jr., Xu F.J., Yu Y.H., Barnhill S., Zhang Z., Mills G.B. CA 125: the past and the future. *Int J Biol Markers*. 1998. Oct-Dec; 13(4): 179–87.
4. Leung F., Diamandis E.P., Kulusingam V. Ovarian cancer biomarkers: current state and future implications from high-throughput technologies. *Adv Clin Chem*. 2014; 66: 25–77.

СОСТОЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ КРОВИ У БОЛЬНЫХ АДЕНОМОЙ И РАКОМ ПРОСТАТЫ

Е.В. Алымова, О.В. Смирнова, Э.В. Каспаров, Н.М. Титова

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера Федерального
исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской
академии наук», г. Красноярск, Россия

Аннотация

В настоящее время аденома предстательной железы (АПЖ) – самое распространенное заболевание
среди мужчин старше 50 лет. Также с возрастом увеличивается заболеваемость раком простаты [1].
Отдельно выделить АПЖ невозможно, т.к. при прогрессировании данное заболевание может перерож-
даться в рак простаты (РП). По данным литературы, роль окислительного стресса в перерождении АПЖ
в РП достаточно высока [2], в связи с этим **целью данной работы** был сравнительный анализ состоя-
ния ПОЛ-АОЗ у больных АПЖ и РП. У больных с АПЖ выявлено повышение уровня МДА и активности
ферментов – CAT, SOD, – снижение компонентов, неферментативного звена. У больных с РП на фоне
усиления ПОЛ происходит угнетение обоих звеньев АОЗ: ферментативного и неферментативного.

Ключевые слова: антиоксидантная система, малоновый диальдегид, аденома предстательной
железы, рак простаты, супероксиддисмутаза, мочевая кислота, церулоплазмин.

THE STATE OF LIPID PEROXIDATION, ANTIOXIDANT BLOOD PROTECTION IN PATIENTS WITH ADENOMA AND CANCER OF PROSTATE

E.V. Alymova, O.V. Smirnova, E.V. Kasparov, N.M. Titov

Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk,
Russia

At present, prostate adenoma (APH) is the most common disease among men over 50 years of age. Similarly, the incidence of prostate cancer increases with age [1]. Separately, it is impossible to single out APH; with progression, this disease can degenerate into prostate cancer (RP). According to the literature, the role of oxidative stress in the regeneration of APH in the RP is quite high [2], in connection with this the goal of this work was a comparative analysis of the state of LPO-AOZ in patients with AH and RP. Patients with AH showed an increase in the level of MDA and enzyme activity CAT, SOD, a decrease in components, a non-enzymatic link. In patients with RP on the background of LPO amplification, both links of AOZ are inhibited: enzymatic and non-enzymatic.

Keywords: antioxidant system, malonic dialdehyde, prostate adenoma, prostate cancer, superoxide dismutase, uric acid, ceruloplasmin.

Аденома предстательной железы (АПЖ) – распространенное заболевание, при котором важна ранняя диагностика. В связи с увеличением продолжительности жизни число мужчин, страдающих АПЖ, с каждым годом растет [1]. По данным отечественных и зарубежных исследователей [3], клинические проявления АПЖ имеют место у 25–35 % мужчин в возрасте 40–50 лет, их частота увеличивается с возрастом и достигает 75–80 % у мужчин старше 70 лет. При улучшении диагностики и введении в клиническую практику такого теста, как определение простатического специфического антигена (ПСА) в сыворотке крови, стало возможным выявление аденомы и рака простаты на ранних стадиях [1]. При показателе ПСА 2,5–10,0 нг/мл у большинства пациентов (75 %) диагностируют АПЖ, при уровне ПСА выше 10 нг/мл наиболее вероятен РП [3].

Систему защиты тканей и клеток от токсических метаболитов кислорода и продуктов ПОЛ можно условно разделить на физиологическую (механизмы, осуществляющие регуляцию доставки и поступления кислорода к клеткам) и биохимическую (собственно АОЗ организма, т.е. широкий класс химических соединений, снижающих активность радикальных окислительных процессов) [4]. Физиологический компонент системы АОЗ организма обеспечивает равновесие между интенсивностью транспорта кислорода к клеткам и метаболическим процессам по его выгодной и безопасной утилизации [5].

Действие биохимической АОЗ связано с предотвращением условий и возможностей утечки электронов и генерации АФК в ходе окислительно-восстановительных реакций.

Исследования процессов ПОЛ и активности антиоксидантной системы у больных аденомой и раком простаты немногочисленны и фрагментарны, в связи с этим целью данной работы было провести изучение процессов ПОЛ и анализ работы ферментативного и не ферментативного звеньев АОЗ у больных аденомой и раком простаты по сравнению с практически здоровыми лицами.

Материал и методы. Материалом исследования служила сыворотка относительно здоровых (38 человек), больных аденомой простаты II стадии (27 человек), и больных, раком предстательной железы III стадии (10 человек). Использовались спектрофотометрические методы определения показателей ПОЛ-АОЗ [6]. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Проверку гипотезы о статистической достоверности полученных результатов проводили согласно критерию Манна – Уитни.

Результаты. Проведенные нами исследования выявили значительное увеличение малонового диальдегида у больных по сравнению с контрольной группой АПЖ (на 18 %) и РП (на 67 %), что может свидетельствовать об увеличении уровня активных форм кислорода, запускающих не только процессы ПОЛ, но и оксидативную модификацию других биомолекул. Активность супероксиддисмутазы – фермента, устраняющего супероксидный анион-радикал, может быть представлена двумя формами: клеточной и внеклеточной, увеличивается при АПЖ и снижается при РП по сравнению с практически здоровой группой людей. В проведенном нами исследовании прослеживается тенденция в снижении содержания ЦП в сыворотке крови. Поскольку особенностью этого белка является высокая стабильность к токсическому действию АФК, что позволяет ему сохранять биологическую активность в условиях интенсивной генерации АФК, снижение содержания ЦП у больных АПЖ и РП, по-видимому, обусловлено нарушением его биосинтеза в печени, также установлено снижение содержания мочевой кислоты в сыворотке крови по сравнению с показателем в контрольной группе.

Таблица 1

Результаты сравнительного исследования ПОЛ-АОЗ в сыворотке крови у больных АПЖ и РП

Показатель	Контроль (38 чел)		Больные с АПЖ (27 чел)		Больные с РП (10 чел)	
	1	2	3	4	5	6
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
МДА, мкмоль/г белка	2,78	2,273,30	3,29 p _{1,2} <0,05	1,277,29	4,63 p _{1,2} <0,05	2,438,19
SOD, у.е./мин*г белка	6144	59526336	7637 p _{1,2} <0,05	249611456	5397 p _{1,2} <0,05	24327744
САТ ммоль/мин*г белка	179	156201	210	168251	126	98152
ЦП, мг/мл	304	289319	185 p _{1,2} <0,05	87337	201 p _{1,2} <0,05	137318
Мочевая кислота, мкмоль/л	455	440–469	333 p _{1,2} <0,05	304362	403	350456

Окислительный стресс с декомпенсированной системой антиоксидантной защиты, вероятно, способствует перерождению клеток простаты с развитием злокачественного опухолевого роста. Нарушение баланса ПОЛ-АОЗ может вызывать прогрессирование онкологического заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Steinberg G.D., Carter B.S., Beaty T.H., Childs B., Walsh P.C. Family history and the risk of prostate cancer. *Prostate*. 1990; 17(4): 337–47.
2. Тюзиков И.А., Братчиков О.И., Михайлов Д.В., Шумакова Е.А., Чураев С.А. Роль возрастного андрогенного дефицита в патогенезе аденомы предстательной железы. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2016; 1: 14–18.
3. Lodding P., Aus G., Bergdahl S., Frösing R., Lilja H., Pihl C.G., Hugosson J. Characteristics of screening detected prostate cancer in men 50 to 66 years old with 3 to 4 ng/ml prostate specific antigen. *J. Urol*. 1998; 159: 899–903.
4. Смирнова О.В., Титова Н.М., Елманова Н.Г. Особенности прооксидантной и антиоксидантной системы у больных множественной миеломой в зависимости от стадии заболевания. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014; 3: 2014.
5. Смирнова О.В., Титова Н.М., Елманова Н.Г. Роль прооксидантной системы в прогрессировании миеломной болезни. *Врач-аспирант* 2013; 5: 1/2013.
6. Титова Н.М., Замай Т.Н., Субботина Т.Н., Савченко А.А. Оценка структурно-функционального состояния клетки. *Красноярск*, 2009.

ЭКСПРЕССИЯ ВИМЕНТИНА В ПРОГНОЗЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРВОЙ ЛИНИИ СТАНДАРТНОЙ ПЛАТИНОСОДЕРЖАЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ СЕРОЗНЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

А.А. Арефьева, Т.А. Богуш

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – это молекулярная трансдифференцировка эпителиальных клеток в сторону мезенхимального фенотипа, в результате которой подавляется экспрессия собственных белков цитокератинов (ЦК) и активируется де novo экспрессия белка виментина (Вим) [1]. Известно, что процесс ЭМП вовлечен в появление метастатического потенциала опухолевых клеток, повышая агрессивность течения заболевания [2]. Однако прогностическая значимость данной молекулярной характеристики в эффективности химиотерапии до сих пор не определена. В данной работе, используя количественный иммунофлуоресцентный метод, мы провели анализ корреляции показателей уровня экспрессии специфического мезенхимального белка Вим, маркера ЭМП [3], с безрецидивным (БР) периодом рака яичников после завершения первой линии стандартной химиотерапии с включением препаратов платины и таксанов.

Ключевые слова: эпителиально-мезенхимальный переход, виментин, проточная цитофлуориметрия, рак яичников.

VIMENTIN EXPRESSION IN PROGNOSIS OF FIRST-LINE STANDARD PLATINUM-CONTAINING CHEMOTHERAPY EFFECTIVENESS WITH PATIENTS WITH SEROUS OVARIAN CANCER

A.A. Arefieva, T.A. Bogush

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a molecular epithelial cells transdifferentiation in the direction of the mesenchymal phenotype, as a result of which the expression of cytokeratin's suppressed and de novo activated vimentin expression [1]. It is known that the process of EMT is involved in the appearance of the metastatic potential of tumor cells, increasing the aggressiveness of the disease [2]. However, the prognostic significance of this molecular characteristic in the effectiveness of chemotherapy hasn't been determined. In this paper, with using a quantitative immunofluorescence method, we conducted a correlation analysis of the indicators of the level of expression of specific mesenchymal marker vimentin, a marker of EMT [3], with a relapse-free period of ovarian cancer after first-line standard chemotherapy including platinum drugs and taxanes.

Keywords: epithelial-to-mesenchymal transition, vimentin, flow cytometry, ovarian cancer.

Актуальность. У многих пациентов регистрируется врожденная или приобретенная лекарственная устойчивость, которая существенно снижает эффективность противоопухолевой терапии. Понимание механизмов развития лекарственной устойчивости и определение маркеров данного явления помогут предложить новые терапевтические подходы в отношении злокачественных новообразований.

Материал и методы. В настоящем исследовании с помощью количественного иммунофлуоресцентного метода с использованием проточной цитофлуориметрии мы проанализировали 56 биопсийных хирургических образцов рака яичников по показателю уровня коэкспрессии ЦК/Вим, который определяли как отношение (%) количества клеток, коэкспрессирующих оба маркера, к общему количеству опухолевых клеток, экспрессирующих ЦК. Низкий и высокий уровень экспрессии маркера был определен относительно медианы по группе, равной 42 %. Высокий уровень экспрессии виментина – ≥ 42 %, низкий уровень экспрессии виментина – < 42 %. В данное исследование также были включены 10 пациенток с внутрибрюшинной терапией на основе препаратов платины и таксанов. Для статистического анализа БР периода использовали метод Каплана – Мейера.

Результаты и обсуждение. При делении на подгруппы с высокими с низким уровнем экспрессии виментина по медиане, равной 42 % ($p=0,0258$), рецидивы выявлены в 67 % vs 58 % случаев, при этом продолжительность БР течения рака яичников составила 7 мес vs 18 мес соответственно (рис.1).

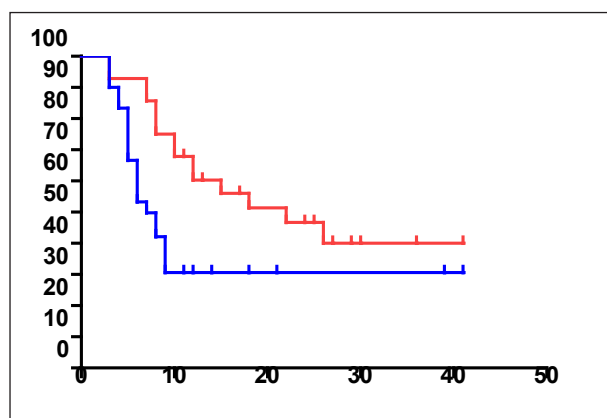


Рис.1. Связь экспрессии виментина с продолжительностью безрецидивного течения у больных серозным раком яичников после первой линии химиотерапии препаратами платины и таксанами при медиане, равной 42%: красная кривая – высокий уровень Вим (n=30), синяя кривая – низкий уровень Вим (n=26). Продолжительность наблюдения – 43 нед

Также статистически значимым показателем порога деления на подгруппы оказался уровень экспрессии виментина 35 %, при котором продолжительность БР течения болезни составила 8 vs 26 мес ($p=0,0423$). Примечательно, что при внутрибрюшинной терапии реализуется несовпадение прогноза при использовании Вим в качестве предиктивного маркера ответа на стандартную химиотерапию, а именно 7 из 10 пациенток с высоким показателем экспрессии Вим оказались в группе чувствительных к платиносодержащей химиотерапии.

Выводы. В данном исследовании мы обнаружили корреляцию показателей уровня экспрессии Вим в качестве маркера ЭМП с продолжительностью БР периода рака яичников после проведения курса стандартной химиотерапии с включением препаратов платины и таксанов. Согласно полученным результатам, при показателе уровня экспрессии Вим более 42 % прогноз ответа на стандартную химиотерапию будет неблагоприятным, менее 35 % – благоприятным. Однако при изменении пути введения лекарственных средств, в частности при внутрибрюшинной терапии, прогноз не реализуется.

ЛИТЕРАТУРА

1. Liu C-Y, Lin H-H, Tang M-J, Wang Y-K. Vimentin contributes to epithelial-mesenchymal transition cancer cell mechanics by mediating cytoskeletal organization and focal adhesion maturation. *Oncotarget*. 2015 Jun; 6(18): 15966–83. doi:10.18632/oncotarget.3862.
2. Smith B., Bhowmick N. Role of EMT in Metastasis and Therapy Resistance. *J. Clin. Med.* 2016 Jan; 5(2): E17. doi:10.3390/jcm5020017.
3. Kidd M.E., Shumaker D.K., Ridge K.M. The role of Vimentin intermediate filaments in the progression of lung cancer. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2014 Jan; 50(1): 1–6. doi:10.1165/rcmb.2013-0314TR.

РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЛУЧЕВОГО ЦИСТИТА У КРЫС

А.Р. Ахтемзянов, О.В. Корытов, Е.А. Маслюкова, Л.И. Корытова, Т.Е. Понежа, В.П. Сокурено, А.В. Бондаренко, А.А. Брынцалова

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Несмотря на современный уровень диагностики и лечения, численность тех, у кого впервые установлен диагноз злокачественного новообразования, с каждым годом неуклонно растет. Значимое число среди них занимают пациенты с локализацией опухолевого процесса в малом тазу. В схему комбинированного лечения данной когорты больных входит высокодозная лучевая терапия, которая приводит к развитию постлучевого цистита разной степени тяжести. Стандарты лечения постлучевых циститов в настоящее время не разработаны, в связи с чем необходима разработка новых лекарственных средств с предварительным проведением доклинических исследований. **Целью исследования** является разработка модели экспериментального лучевого цистита у крыс.

Впервые в мире для разработки модели постлучевого цистита был применен линейный ускоритель электронов с энергией 6МэВ. Исследование проводилось на 27 крысах породы Вистар, которые были поделены на три группы и подвержены однократному облучению: 1-я группа – 25 Гр, 2-я группа – 30 Гр, 3-я группа – 35 Гр. В результате проведенного исследования выявлено, что у особей, получивших суммарную очаговую дозу 25 Гр, развился острый постлучевой цистит II–III степени в течение 10 нед, что позволило провести планируемые работы по доклиническому исследованию в полном объеме. В группах животных, получивших дозу 30 и 35 Гр, были ярко выраженные ранние постлучевые осложнения, которые привели к гибели всех животных в сроки от 6 до 8 нед.

Ключевые слова: высокодозная лучевая терапия, доклинические исследования, линейный ускоритель электронов.

DEVELOPMENT OF A MODEL OF EXPERIMENTAL RADIATION CYSTITIS IN RATS

**A.R. Akhtemzyanov, O.V. Korytov, E.A. Maslyukova, L.I. Korytova,
T.E. Ponezha, V.P. Sokurenko, A.V. Bondarenko, A.A. Bryntsalova**

Federal state budgetary institution «Russian scientific center of radiology and surgical technologies named after academician A. M. Granov» of the Ministry of health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

Abstract

Despite the current level of diagnosis and treatment, the number of people who are diagnosed with malignant neoplasm for the first time is steadily increasing every year. A significant number of them are patients with localization of the tumor process in the pelvis. The scheme of combined treatment of this cohort of patients includes high-dose radiation therapy, which leads to the development of post-radiation cystitis of varying severity. Post-radiation cystitis treatment standards are not currently developed. In this connection, it is necessary to develop new drugs with preliminary preclinical studies. The aim of this study is to develop a model of experimental radiation cystitis in rats. For the first time in the world, a linear electron accelerator with 6mev energy was used to develop a model of post-beam cystitis. The study was conducted on 27 rats of the Wistar breed, which were divided into three groups and exposed to a single irradiation: group 1 – 25 G, group 2 – 30 G, group 3 – 35 Gr. As a result of the study, it was revealed that the individuals who received the total focal dose of 25 Gy developed acute post-radiation cystitis of II-III degree for 10 weeks, which allowed to carry out the planned work on the preclinical study in full. In the groups of animals that received the dose of 30 and 35 G were pronounced in the early postradiation complications, which led to the death of all animals within 6 to 8 weeks.

Keywords: High-dose radiation therapy, preclinical studies, linear electron accelerator.

Онкологическая заболеваемость в мире неуклонно растет вне зависимости от внедрения в рутинную практику высокотехнологичных методов диагностики и лечения. В России на конец 2016 года у 599 348 человек впервые установлен диагноз злокачественного новообразования, что на 1,7 % выше данного показателя в 2015 году и на 20,6 % выше, чем в 2006 году [1]. Среди всех впервые заболевших у 24,03 % диагностированы опухоли органов малого таза. В схему комбинированного лечения этих больных входит лучевая терапия в радикальных дозах, что, безусловно, приводит к развитию постлучевого цистита разной степени выраженности [2]. Данные осложнения могут нарушить план лучевой терапии, существенно снизить качество жизни, а некоторых больных привести к летальному исходу.

В настоящее время стандартов лечения постлучевого цистита в мире нет [3]. В связи с этим назрела необходимость разработки новых лекарственных средств для лечения постлучевого цистита, с проведением предварительных доклинических исследований. Для проведения доклинических исследований необходимо создать экспериментальную модель постлучевого цистита.

Впервые в мире для разработки модели постлучевого цистита применен линейный ускоритель электронов с энергией 6 МэВ, для максимального сближения с реально применяемым вариантом лечения данной группы пациентов.

Всего в исследование было отобрано 27 самок крыс породы Вистар. Все животные были поделены на три группы и подвержены однократному облучению. Непосредственно перед

сеансом облучения крысам проводилась оригинальная анестезия. В дальнейшем животное помещали в специальное фиксирующее устройство на деке стола линейного ускорителя. Первой группе была подведена суммарная очаговая доза 25 Гр, второй группе – 30 Гр и третьей – 35 Гр.

По результатам проведенного исследования выявлено, что в группе животных, получивших дозу 30 и 35 Гр, были ярко выраженные ранние постлучевые осложнения в виде значительной потери массы тела, выраженной макрогематурии, выпадение шерсти, дерматит в области поля облучения и постлучевой ректит. Данные осложнения привели к гибели 85 % крыс в сроки до 6 нед, что не позволило выполнить запланированное исследование. Оставшиеся животные этих двух групп погибли в сроки до 8 нед.

В группе крыс, получивших суммарную дозу 25 Гр, выраженность вышеописанных признаков была гораздо слабее и гибели животных не наблюдалось, у 7 крыс получен острый постлучевой цистит II–III степени, в течение 8 нед. У остальных он возник к концу 10 нед. Таким образом, было установлено, что для выполнения всех запланированных работ по доклиническому исследованию может быть использован постлучевой цистит крыс, получивших однократное облучение в суммарной дозе 25 Гр.

Подобрана оптимальная доза облучения на линейном ускорителе электронов с энергией 6 МэВ и разработана эффективная модель постлучевого цистита крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. 236.
2. Жаринов Г.М., Винокуров В.Л., Заикин Г.В., Зорин А.В. Система прогнозирования поздних лучевых повреждений прямой кишки и мочевого пузыря у больных раком шейки матки. ИЕРОГЛИФ, 2000; 12: 22–24.
3. Пасов В.В., Курпешева А.К., Терехов О.В. Местные лучевые повреждения у онкологических больных (консервативное лечение). Терапевтическая радиология: руководство для врачей. М.: Медицинская книга, 2010. 505–550.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВОЗРАСТНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ АДЕНОКАРЦИНОМ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ ЗА ПОСЛЕДНИЕ 50 ЛЕТ

А.Н. Балтрукова, Ю.Е. Гавриш

ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

В работе представлена динамика возрастных особенностей больных, страдающих раком эндометрия, а также приведена оценка гистологического типа опухоли за последние 50 лет.

Ключевые слова: рак эндометрия, пожилой возраст, гистологический тип опухоли.

COMPARATIVE EVALUATION OF AGE INDICES AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ADENOCARCINOMAS IN PATIENTS WITH ENDOMETRIAL CANCER IN THE LAST 50 YEARS

A.N. Baltrukova, Y.E. Gavrish

I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Ministry of Health of Russia, Saint Petersburg, Russia

Abstract

This article presents the dynamics of age characteristics of patients suffering from endometrial cancer, as well as evaluation of the histological type of tumor over the past 50 years.

Keywords: endometrial cancer, elderly age, histological type of tumor.

В соответствии с многочисленными исследованиями отечественных и зарубежных авторов факторами риска развития рака эндометрия являются некоторые показатели репродуктивной функции женщин, их образ жизни, наследственность, нарушение обменных процессов и гормональные сдвиги в организме [1, 2]. Однако, несмотря на значительные успехи, достигнутые в изучении данного процесса, его частота постоянно растет, и он продолжает занимать первое место в структуре онкогинекологических заболеваний [3, 4]. В связи с этим в настоящее время проводится множество исследований, направленных на выявление прогностических факторов, определяющих течение и исход заболевания. В частности, в качестве одних из таких прогностических факторов широко обсуждается возраст пациентки и гистологический тип опухоли [5].

В исследование были включены 564 пациентки, проходившие лечение в отделении онкогинекологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ с 1965 по 2015 год, в возрасте от 25 до 82 лет с впервые установленным диагнозом РЭ, ранее не подвергавшиеся какому-либо специальному лечению. Возраст больных определялся на момент установления диагноза. Все женщины были разбиты на три группы, отражавшие определенный период времени, в который собирался материал для исследования: группа 1 – 1965–1969 гг. (225 больных), группа 2 – 1995–1999 гг. (193 больных), группа 3 – 2012–2015 гг. (146 больных).

Средний возраст пациенток, в котором впервые был диагностирован РЭ, за последние 50 лет увеличился на 3,8 года и стал статистически значимо более высоким ($p < 0,001$) ($56,87 \pm 0,33$ в 1965–1969 гг. против $60,67 \pm 0,41$ года в 2012–2015 гг. соответственно). Начиная с 90-х годов прошлого века РЭ стал чаще диагностироваться у женщин в возрасте 60 лет и старше, и доля таких женщин постепенно выросла (с $36,00 \pm 3,2$ % в 1965–1969 гг. до $45,08 \pm 3,58$ % и $54,11 \pm 4,12$ % в 1995–1999 гг. и 2012–2015 гг. соответственно). В то же время доля больных моложе 50 лет снизилась (с $17,33 \pm 2,52$ % в 1965–1969 гг. и $18,65 \pm 2,80$ % в 1995–1999 гг. до $9,59 \pm 2,44$ % в 2012–2015 гг.), что в совокупности указывает на «постарение» контингента больных. Наиболее частым гистологическим типом опухоли, встречающимся у пациенток, страдающих РЭ, являются эндометриоидные аденокарциномы, причем за последние 50 лет их частота значимо ($p < 0,01$) выросла – с $66,15 \pm 5,87$ % в 1965–1969 гг. до $84,78 \pm 3,06$ % в 2012–2015 гг. Частота выявления неэндометриоидных опухолей пропорционально этому уменьшилась. Средний возраст пациенток при эндометриоидных опухолях за 50 лет наблюдения достоверно ($p < 0,05$) увеличился с $56,40 \pm 1,21$ года в 1965–1969 гг. до $60,10 \pm 0,81$ и 2012–2015 гг. соответственно. При неэндометриоидных аденокарциномах средний возраст также имел тенденцию к повышению.

Структура эндометриоидных опухолей за период наблюдения менялась незначительно. В ней преобладали эндометриоидные аденокарциномы и эндометриоидные аденокарциномы с плоскоклеточной дифференцировкой (суммарно, 87,67 % и 87,43 % всех случаев в 1965–1969 гг. и 2012–2015 гг. соответственно). В то же время на фоне снижения за 50 лет (с 1965–1969 гг. до 2012–2015 гг.) суммарной частоты неэндометриоидных опухолей среди последних наблюдалось увеличение доли отличающихся неблагоприятным течением серозных аденокарцином ($p < 0,05$), причем среди пациенток старше 60 лет.

1. Рак эндометрия в последние десятилетия стал развиваться у женщин в более позднем возрасте. 2. За последние 50 лет отмечается увеличение доли эндометриоидных опухолей и снижение неэндометриоидных аденокарцином эндометрия. Данная тенденция не распространяется на серозные аденокарциномы, отличающиеся неблагоприятным течением, частота встречаемости которых возросла, особенно у женщин в возрасте 60 лет и старше.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чернышова А.Л., Виллерт А.Б., Коломиец Л.А., Юнусова Н.В., Кондакова И.В. Рак и пролиферативные процессы эндометрия. Гормонально-метаболические особенности. Сибирский онкологический журнал. 2015; Приложение №2: 48–53.
2. Liao C., Zhang D., Mungo C., Tompkins D.A., Zeidan A.M. Is diabetes mellitus associated with increased incidence and disease-specific mortality in endometrial cancer? A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Gynecol Oncol.* 2014 Oct; 135(1): 163–71. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.07.095.
3. Arab M., Noghabaei G., Kazemi S.N. Comparison of crude and age-specific incidence rates of breast, ovary, endometrium and cervix cancers in Iran, 2005. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; 15(6): 2461–4.
4. Bartosch C., Gomes B., Jerónimo C., Lopes J.M. Endometrial carcinoma in Portugal: demographic, diagnostic and treatment changes in the last 5 decades. *Int J Gynecol Pathol.* 2015 Mar; 34(2): 159–68. doi: 10.1097/PGP.0000000000000124.
5. Benedetti Panici P., Basile S., Salerno M.G., Di Donato V., Marchetti C., Perniola G., Palagiano A., Perutelli A., Maneschi F., Lissoni A.A., Signorelli M., Scambia G., Tateo S., Mangili G., Katsaros D., Campagnutta E., Donadello N., Gregg S., Melpignano M., Raspagliesi F., Cormio G., Grassi R., Franchi M., Giannarelli D., Fossati R., Torri V., Crocè C., Mangioni C. Secondary analyses from a randomized clinical trial: age as the key prognostic factor in endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol.* 2014 Apr; 210(4): 363.e1–363.e10. doi: 10.1016/j.ajog.2013.12.025.

ЭКСПРЕССИЯ ЭСТРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ АЛЬФА И БЕТА В ТКАНИ РАКА ЯИЧНИКОВ КАК ПРЕДИКТИВНЫЙ МАРКЕР ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРВОЙ ЛИНИИ ПЛАТИНОСОДЕРЖАЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ

А.А. Башарина^{1,2}, И.А. Мамичев^{1,2}

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, г. Москва, Россия¹
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия²

Аннотация

Эстрогеновые рецепторы ERα и ERβ участвуют в регуляции опухолевого роста, поэтому могут быть предикторами эффективности химиотерапии. **Цель исследования** – количественная иммунофлюоресцентная оценка экспрессии ERα и ERβ в ткани рака яичников с последующей корреляцией полученных данных с продолжительностью безрецидивного периода у больных раком яичников после завершения платиносодержащей химиотерапии. Выявлена коэкспрессия ERα и ERβ во всех исследованных образцах рака яичников, при этом уровень ERβ был в 1,5 раза выше, чем ERα. Показано, что продолжительность безрецидивного периода прямо коррелирует с уровнями экспрессии ERα и ERβ: продолжительность безрецидивного периода в группах с высоким уровнем ERα и ERβ в 1,5 раза превышает показатель при низкой экспрессии маркеров. Таким образом, высокая экспрессия в опухоли ERα и ERβ является благоприятным предиктором эффективности первой линии платиносодержащей химиотерапии рака яичников.

Ключевые слова: рак яичников, эстрогеновые рецепторы α, эстрогеновые рецепторы β, проточная цитофлуориметрия.

EXPRESSION OF ESTROGEN RECEPTORS ALPHA AND BETA IN OVARIAN CANCER AS PREDICTOR FOR PLATINUM FIRST-LINE CHEMOTHERAPY

A.A. Basharina^{1,2}, I.A. Mamichev^{1,2}

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia¹
Federal state budgetary institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia²

Abstract

Estrogen receptors ERα and ERβ are involved in the regulation of tumor growth, so they can be predictors of the effectiveness of chemotherapy. The aim of the study was quantitative immunofluorescence evaluation of the expression of ERα and ERβ in the ovarian cancer tissue, followed by correlation of the obtained data with the progression-free survival in patients with ovarian cancer after the completion of platinum-based chemotherapy. The coexpression of ERα and ERβ was detected in all samples of ovarian cancer, while the ERβ level was 1.5 times higher than ERα. It is shown that PFS is directly correlated with the expression levels of ERα and ERβ: progression-free survival in groups with a high level of ERα and ERβ is 1.5 times higher than that of low expression of markers. Thus, high expression in the tumor of ERα and ERβ is a favorable predictor of the effectiveness of the first line of platinum-based chemotherapy of the ovarian cancer.

Keywords: ovarian cancer, estrogen receptors α, estrogen receptors β, flow cytometry.

Актуальность. Известен вклад мишеней эстрогенов – эстрогеновых рецепторов α и β (ERα и ERβ) в реализацию стимулирующих и ингибирующих воздействий на пролиферативные регуляторы опухолевого роста [1], следовательно, они могут быть предикторами эффективности химиотерапии. **Цель исследования** – количественная иммунофлюоресцентная оценка

экспрессии ER α и ER β в ткани рака яичников, с последующей корреляцией полученных данных с продолжительностью безрецидивного периода у больных раком яичников после завершения платиносодержащей химиотерапии.

Материал и методы. С использованием иммунофлюоресцентного анализа и проточной цитофлуориметрии (Navios, Beckman Coulter) проведена оценка экспрессии ER α и ER β в 74 хирургических образцах рака яичников [2]. Использованы первичные моноклональные, специфичные к ER α (ab16660) и к ER β (ab288), и вторичные – конъюгированные с DyLight650 (ab98510 и ab98729), а также краситель ДНК Hoechst 33258. Оценен уровень экспрессии маркера – доля (%) специфически флюоресцирующих клеток относительно контроля (после инкубации с вторичными антителами). Для статистической обработки данных использовали метод Колмогорова – Смирнова (FlowJo 10.0.8) и t-критерий Стьюдента (GraphPad Prism 7).

Результаты. Первый этап работы – количественная характеристика уровня экспрессии ER α и ER β в ткани рака яичников. На рис. 1 представлено распределение образцов опухоли по показателям коэкспрессии ER α и ER β в одной и той же опухоли при ранжировании их по уровню экспрессии ER β , начиная с минимального.

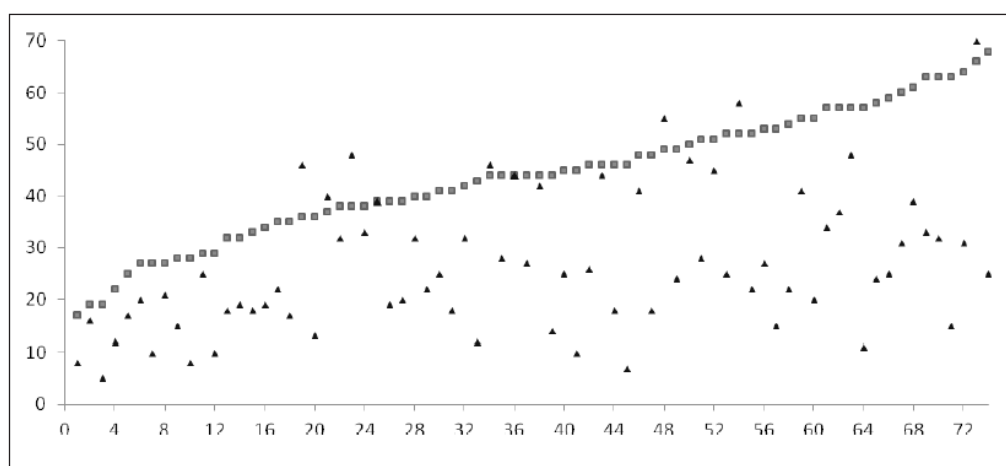


Рис. 1. Распределение уровней экспрессии ER α и ER β в клетках рака яичников: по оси абсцисс – номера образцов опухолей, ранжированные от минимального уровня экспрессии ER β ; ординат – уровни ER α и ER β (%). Уровень экспрессии: ER β – ■; ER α – ▲

Видно, что в более чем 80 % случаев уровень экспрессии ER β значительно превышает показатель ER α . В целом, средний уровень экспрессии ER β более чем в 1,5 раза превышает значение для ER α ($p < 0,001$) – 43,9 % vs 26,8 % соответственно. Результаты оценки зависимости продолжительности безрецидивного периода (мес.) от уровня экспрессии в опухоли ER α и ER β представлены в таблице. Согласно принятым в клинических исследованиях правилам, деление уровня маркера на низкий и высокий проведен относительно медианы: для экспрессии ER α – 25 %, а для ER β – 44 %. Видно, что ПБП после окончания химиотерапии выше при высоком уровне экспрессии как ER α (≥ 25 %), так и ER β (≥ 44 %). Различия показателей отличаются в полтора раза ($p < 0,05$) как в случае с ER α , так и ER β . Это указывает на существование взаимосвязи между уровнем маркеров и ответом на первую линию химиотерапии препаратами платины и таксанов.

Таблица

Продолжительность безрецидивного периода в зависимости от уровня экспрессии ER α и ER β в ткани рака яичников.

Рецептор	Уровень экспрессии рецепторов	Продолжительность безрецидивного периода (мес.)	p (t-критерий Стьюдента)
ER α	Высокий ($\geq 25\%$)	19,0 $\pm$ 12,9	<0,05
	Низкий (<25%)	12,4 $\pm$ 9,3	
ER β	Высокий ($\geq 44\%$)	19,1 $\pm$ 11,3	<0,05
	Низкий (<44%)	12,3 $\pm$ 11,7	

Выводы. Рак яичников характеризуется коэкспрессией ER α и ER β , при этом уровень ER β в 1,5 раза выше, чем показатель для ER α . Продолжительность безрецидивного течения рака

яичников после платиносодержащей химиотерапии у больных с высокой экспрессией ER α или ER β в 1,5 раза больше, чем у пациенток с низким уровнем этих маркеров, что свидетельствует о благоприятной предикторной значимости ER α и ER β в отношении эффективности платиносодержащей химиотерапии рака яичников.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bossard C., Busson M., Vindrieux D., Gaudin F., Machelon V., Brigitte M., Jacquard C., Pilon A., Balaguer P., Balabanian K., Lazennec G. Potential role of estrogen receptor beta as a tumor suppressor of epithelial ovarian cancer. PLoS One 2012; 7(9): e44787. doi: 10.1371/journal.pone.0044787.

2. Бозуи Т.А., Шатурова А.С., Дудко Е.А. Количественная иммунофлуоресцентная оценка с использованием проточной цитофлуориметрии экспрессии эстрогеновых рецепторов бета в солидных опухолях человека. Вест. МГУ, серия 2 «Химия» 2011; 52(4): 305–12.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНДУКЦИОННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Ю.В. Белевич, А.В. Гольдберг

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Представлены предварительные результаты по оценке эффективности комбинированного лечения 116 больных плоскоклеточным раком гортани и гортаноглотки II–IV (T₂₋₄N₀₋₂M₀) стадии опухолевого процесса за период с 2006 по 2017 г. Общая эффективность лечения с использованием режима индукционной химиотерапии по схеме: доцетаксел + цисплатин и лучевой терапии в режиме мультифракционирования дозы, в 49,4±4,0 % случаев позволяет избежать операции за счет полной регрессии опухоли, а в 39,1±4,3 % случаев выполнить органосохраняющие и функционально щадящие операции.

Ключевые слова: рак гортани и гортаноглотки, комбинированное лечение, индукционная химиотерапия, лучевая терапия в режиме мультифракционирования дозы.

EFFICIENCY OF COMBINED TREATMENT OF PATIENTS WITH CANCER OF THE LARYNX AND HYPOPHARYNX USING INDUCTION CHEMOTHERAPY

Yu.V. Belevich, A.V. Goldberg

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Preliminary results of the evaluation of the effectiveness of combined treatment of 116 patients with squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx II–IV (T₂₋₄N₀₋₂M₀) of the stage of the tumor process for the period from 2006 to 2017 are presented in the article. The overall efficacy of the treatment using the induction chemotherapy regimen: docetaxel + cisplatin and radiotherapy in the multifractionation dose mode, in 49,4±4,0 % of cases allows to avoid surgery due to complete regression of the tumor, and in 39,1 %±4, 3 % of cases perform organ-preserving and functionally-sparing operations.

Keywords: cancer of the larynx and hypopharynx, combined modality treatment, induction chemotherapy, multifraction radiation therapy.

Известно, что при первичном обращении больных раком гортани и гортаноглотки в специализированные лечебные учреждения из всех вновь выявленных случаев у 60–70 % диагностируется значительное распространение опухоли (T₃–T₄). При местной распространенности опухолевого процесса эффективность лучевой терапии составляет 25–30 %, а выполнение функционально щадящих операций практически невозможно [1]. В большинстве

случаев по-прежнему традиционным методом лечения остается сочетание лучевой терапии с хирургическим вмешательством в объеме комбинированной ларингэктомии, значительно снижающее качество жизни пациентов и их социальную адаптацию. В связи с этим в настоящее время наиболее перспективным представляется химиолучевое лечение [2–3].

Целью исследования является повышение эффективности комбинированного лечения больных раком гортани и гортаноглотки за счёт использования современных режимов противоопухолевой химиотерапии и модифицированных вариантов лучевой терапии.

Материал и методы. В исследование включено 116 больных раком гортани и гортаноглотки II–IV ($T_{2-4}N_{0-2}M_0$) стадии опухолевого процесса, получивших комбинированное лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ за период с 2006 по 2017 г. К настоящему времени в группу исследования вошло 20 пациентов, из них мужчин – 17, женщин – 3, средний возраст – 55,9 года. У всех пациентов морфологически верифицированный плоскоклеточный рак гортани (85 % пациентов) и гортаноглотки (15 % пациентов). Пациентам первой группы (n=20) проводилось 2 курса индукционной химиотерапии с интервалом 3–4 нед по схеме: доцетаксел – 75 мг/м² + цисплатин – 75 мг/м², с последующей лучевой терапией в режиме мультифракционирования дозы по 1,3 Гр 2 раза в день с интервалом в 4 ч. Пациентам второй группы (n=96) проводилось 2 курса индукционной химиотерапии с интервалом 3–4 нед по схеме: паклитаксел – 175 мг/м² + карбоплатин – AUC – 6, с последующей лучевой терапией в аналогичном режиме, описанным выше. В обеих группах оценка эффекта лечения производилась на СОД=40,0 изоГр. Больным с эффектом лечения – полная регрессия процесса продолжалась лучевая терапия до радикальной СОД=65,0 изоГр. Пациентам с эффектом лечения – частичная регрессия и стабилизация процесса следующим этапом комбинированного лечения выполнялось оперативное лечение.

Каждому пациенту проводилась морфологическая верификация опухолевого процесса с определением гистотипа, степени дифференцировки, лечебного патоморфоза. Для оценки эффекта лечения (до лечения, после 2 курсов индукционной химиотерапии, после лучевой терапии в режиме мультифракционирования дозы на СОД=40 изоГр), наряду со стандартными методами обследования (видеоларингоскопия, ультразвуковое исследование, спиральная компьютерная томография с болюсным контрастированием), проводилась однофотонная эмиссионная компьютерная томография с ^{99m}Tc-Технетрилом.

Результаты и выводы. У пациентов первой группы после проведенного первого этапа комбинированного лечения (2 курса индукционной химиотерапии с последующей лучевой терапией в описанном выше режиме) полная регрессия наблюдалась у 11 больных (49,4±4,0 %), что подтверждалось данными видеоларингоскопии с морфологическим контролем (зарегистрирован лечебный патоморфоз IV степени). Во второй группе полная регрессия опухоли отмечалась у 33 (34,4±4,8 %) пациентов. Далее в обеих группах больным была продолжена лучевая терапия до достижения радикальной дозы – 65 изоГр, что в итоге позволило избежать радикального хирургического вмешательства и инвалидизации пациентов.

Больным первой группы, эффект лечения которых оценен как частичная регрессия (40,9±5,2 %) и стабилизация процесса (9,7±3,2 %), было выполнено хирургическое вмешательство, в том числе в 39,1 %±4,3 % случаев – органосохраняющие операции, в 60,9±3,6 % случаев – радикальные операции (ларингэктомия или комбинированная ларингэктомия с или без лимфодиссекции). Больным второй группы, эффект лечения которых оценен как частичная регрессия (46,9±5,1 %) и стабилизация процесса (18,7±3,9 %), также проводилось хирургическое лечение, в том числе в 31,7±5,8 % случаев – органосохраняющие операции, в 68,3±5,8 % случаев – радикальные операции (ларингэктомия или комбинированная ларингэктомия с или без лимфодиссекции). В итоге проведение первого этапа лечения у больных первой группы способствует повышению резектабельности опухоли, что в 39,1±4,3 % случаев позволяет провести органосохраняющие операции.

Практически все пациенты первой группы удовлетворительно переносили лечение. Основными осложнениями, развившимися после проведения химиотерапии, были тошнота I–II ст. – у 9 (46,6±3,7 %) пациентов, лейкопения I ст. – у 2 (10,3±4,3 %) пациентов, что связано с фармакологическими особенностями применяемых цитостатиков. Во второй группе основными осложнениями были тошнота I–II ст. – у 7 (7,3±2,7 %) пациентов, артралгия/миалгия – у 15 (15,6±3,7 %) больных, аллергические реакции – у 3 (3,1±1,7 %) пациентов. Аллопеция наблюдалась в 100 % случаев в обеих группах. Все осложнения были купированы в короткие сроки. Полученные результаты свидетельствуют о том, что проведенные курсы химиотерапии в сравниваемых режимах переносятся больными удовлетворительно.

После проведения курса лучевой терапии в режиме мультифракционирования дозы у 5 (25,4±3,6 %) пациентов первой группы и 31 (32,3±4,8 %) пациента второй группы было зарегистрировано появление на коже полей облучения эритемы (I степень лучевых реакций по RTOG/EORTC), что не требовало специального лечения и прерывания курса облучения. У 11 пациентов (55,3±4,3 %) в первой группе и 21 (21,9±4,2 %) больного во второй группе на коже отмечался сухой эпидермит, а на слизистой – эпителиит, что соответствовало II степени выраженности лучевых реакций по RTOG/EORTC, купированные магнитолазерной терапией. Частота и выраженность лучевых реакций в обеих группах статистически значимо не отличались.

Полученные результаты позволяют предположить, что применение режима индукционной химиотерапии по схеме: доцетаксел + цисплатин и модифицированного режима лучевой терапии в 49,4±4,0 % случаев позволяет избежать операции за счет полной регрессии опухоли, а в 39,1±4,3 % случаев выполнить органосохраняющие и функционально щадящие операции, что способствует улучшению качества жизни пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Переводчикова Н.И., Горбунова В.А. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. М., 2018. 156.
2. Чиссов В.И., Решетов И.В., Трофимов Е.И. Модифицированная трахеостомия при хирургическом лечении больных местнораспространенными и рецидивными злокачественными опухолями гортани и гортаноглотки. Онкохирургия. 2011; 3(1): 4–10.
3. Чойнзонов Е.Л., Чижевская С.Ю. Современные возможности и перспективы комбинированного лечения рака гортани и гортаноглотки. Сибирский онкологический журнал. 2007; 4: 127–131.

АССОЦИАЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ КЛЕТочНОЙ ПОДВИЖНОСТИ С РАЗВИТИЕМ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ГОЛОВЫ И ШЕИ

А.В. Белозерова¹, Е.С. Колегова²

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия¹
Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

Клеточная подвижность регулируется актин-связывающими белками, взаимосвязь которых с различными типами клеточного движения мало изучена. Неизвестно, на каком этапе злокачественной трансформации появляются признаки клеточной подвижности. Цель – оценить уровень экспрессии мРНК генов белков клеточной подвижности в тканях плоскоклеточного рака (ПРГШ) и предопухолевых заболеваний гортани и гортаноглотки в зависимости от типа локомоции. Результаты: методом RT-qPCR показано, что развитие ПРГШ ассоциировано с активацией обоих типов клеточного движения и изменением экспрессионного уровня мРНК белков клеточной подвижности.

Ключевые слова: актин-связывающие белки, плоскоклеточный рак головы и шеи, локомоция, мезенхимальный тип движения, амeboидный тип движения.

RELATION OF CELLULAR MOVEMENT PROTEINS GENE EXPRESSION WITH THE DEVELOPMENT OF HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMA

A.V. Belozerova¹, E.S. Kolegova²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia¹
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

Cellular movement is regulated by actin-binding proteins. Its relation with different types of cellular movement is insufficiently explored. It is unknown at what point of malignant transformation the features of cell mobility appear. Purpose: to estimate the level of mRNA expression of cell mobility protein genes in tissues of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) and precancerous diseases of larynx and laryngopharynx depending on the type of locomotion. Results: Using RT-qPCR it was shown that the development of HNSCC is associated with the activation of both types of cell movement and the change in the mRNA expression level of cell mobility proteins.

Keywords: actin-binding proteins, head and neck squamous cell carcinoma, locomotion, mesenchymal type of cell movement, amoeboid type of cell movement.

Актуальность. Агрессивность плоскоклеточного рака головы и шеи (ПРГШ) обусловлена высоким метастатическим потенциалом [1], определяющимся приобретением клетками локомоторных свойств [2, 3]. Описаны два способа клеточного передвижения, ассоциированные с определенными маркерами. Показано, что белки SNAIL1 и VIM, ассоциированы с мезенхимальным типом локомоции, а белки CAPN2 и RND3 – с амeboидным [4, 5]. Кроме этого, клеточная подвижность регулируется актин-связывающими белками [3, 4], связь которых с различными типами клеточного движения мало изучена. Неизвестно, на каком этапе злокачественной трансформации появляются признаки клеточной подвижности, поэтому изучение уровня экспрессии генов актин-связывающих белков фасцина (FCSN), эзрина (EZR), профилина (PFN1), кофилина (CFL1) и аденилициклаза-ассоциированного протеина 1 (CAP1) в зависимости от типа клеточного движения при развитии ПРГШ будет актуальным. Поэтому целью исследования явилась оценка уровня экспрессии мРНК белков клеточной подвижности в тканях плоскоклеточного рака и предопухолевых заболеваний гортани и гортаноглотки в зависимости от типа локомоции.

Материал и методы. Использовали парные образцы ткани первичных 12 больных ПРГШ (T1-2N0-1M0) и 10 больных с хроническими заболеваниями гортани и гортаноглотки, осложненными дисплазией слизистой оболочки (ХГЛ, DII-III). Все больные поступили на лечение/обследование в отделение опухолей головы и шеи НИИ онкологии ТНМИЦ. Уровень экспрессии мРНК SNAIL1, VIM, CAPN2, RND3, FCSN, EZR, PFN1, CFL1, CAP1 анализировали методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR). Статистический анализ результатов проводился с применением пакета программ Statistica 6.0 и PSPP.

Результаты и обсуждение. В группе больных ПРГШ (T1-2N0M0) уровень экспрессии мРНК SNAIL1 и CAPN2 был выше в 36 и 5 раз соответственно, чем у пациентов с ХГЛ (DII-III) (табл. 1). Уровень экспрессии мРНК актин-связывающих белков CAP1, CFL1, PFN1, EZR и FCSN различался в исследуемых группах (табл. 2). У больных ПРГШ (T1-2N0M0) по сравнению с группой пациентов с ХГЛ (DII-III) отмечен низкий уровень мРНК FCSN и высокий EZR и CAP1. Высокий уровень CAP1 у больных ПРГШ по сравнению с пациентами ХГЛ (DII-III) согласуется с литературными данными [3]. Высокий уровень фасцина у больных с ХГЛ (DII-III), вероятно, связан с воспалением в очаге дисплазии эпителия, что подтверждается литературными данными [6].

Таблица 1

Экспрессия мРНК маркеров мезенхимального и амeboидного типов клеточного движения в диспластически измененном эпителии и ткани ПРГШ

Маркер	Gene ID	ХГЛ, D(II-III), M±m	ПРГШ, T1-2N0M0, M±m	p
snail1	6615	0,25±0,02	9,2±8,8	0,05
vim	7431	9,52±4,48	15,7±7,4	0,56
CAPN2	824	0,97±1,49	5,01±6,08	0,01
rnd3	390	20,01±13,38	11,20±32,00	0,91

Примечание: p – значимость различий между группами.

Таблица 2

Уровень экспрессии мРНК генов актин-связывающих белков в диспластически измененном эпителии и ткани ПРГШ

	Gene ID	ХГЛ D(II-III), M±m	ПРГШ T1-2N0M0, M±m	p
fscn	6624	16,56±8,17	2,89±1,09	0,05
ezr	7430	8,15±7,87	25,68±16,22	0,05
pfn1	5216	15,96±18,3	20,91±17,79	0,78
CFL1	1072	19,47±33,38	19,03±10,21	0,33
cap1	10487	0,94±1,5	18,99±11,34	0,05

Примечание: p – значимость различий между группами.

Методом корреляционного анализа выявлена возможная вовлеченность экспрессии генов PFN1, CAP1 и EZR в мезенхимальный тип подвижности, PFN1 и CAP1 – в амебоидный. В группе пациентов с ХГЛ (DII-III) отмечена сильная взаимосвязь экспрессии уровня мРНК RND3 и FCSN ($r=0,8$, $p<0,05$).

Выводы. Таким образом, развитие ПРГШ ассоциировано с активацией обоих типов клеточного движения и изменением экспрессионного уровня мРНК белков клеточной подвижности. Полученные данные могут дополнить теорию канцерогенеза, что в дальнейшем позволит сформировать теоретическую базу для разработки новых способов прогноза развития ПРГШ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 17-04-00198А)

ЛИТЕРАТУРА

1. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзенов Е.Л. Характеристика протеома биологических жидкостей при плоскоклеточных карциномах головы и шеи. Молекулярная медицина. 2013; 2: 3337.
2. Кондакова И.В., Какурина Г.В., Спирина Л.В., Черемисина О.В., Панкова О.В., Меньшиков К.Ю. Оценка внеклеточного и внутриклеточного протеолиза при предопухолевых и опухолевых заболеваниях гортани. Сибирский онкологический журнал. 2014; 3: 4550.
3. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Черемисина О.В., Шишкин Д.А., Чойнзенов Е.Л. Аденилилизационно-ассоциированный протеин 1 в развитии плоскоклеточных карцином головы и шеи. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015; 160(11): 648651.
4. Krakhmal N.V., Zavyalova M.V., Denisov E.V., Vtorushin S.V., Perelmuter V.M. Cancer Invasion: Patterns and Mechanisms. Acta Naturae. 2015; 7(2): 1728.
5. Carragher N.O., Walker S.M., Scott Carragher L.A., Harris F., Sawyer T.K., Brunton V.G., Ozanne B.W., Frame M.C. Calpain 2 and Src dependence distinguishes mesenchymal and amoeboid modes of tumour cell invasion: a link to integrin function. Oncogene. 2006; 25(42): 572640.
6. Qualtrough D., Smallwood K., Littlejohns D., and Pignatelli M. The actin-bundling protein Fascin is overexpressed in inflammatory bowel disease and may be important in tissue repair. BMC Gastroenterol. 2011; 11: 14.

ДИНАМИКА УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ СЛЮНЫ ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО

Л.В. Бельская, Е.А. Сарф

ООО «ХимСервис», г. Москва, Россия

Аннотация

Проведено изучение уровня цитокинов и острофазовых белков в слюне пациентов с раком легкого в зависимости от размера опухоли. Показано, что уровни цитокинов в слюне больных раком легкого и здоровых людей статистически достоверно не отличаются. Содержание ИЛ-2 и ИЛ-4 в слюне уменьшается как в случае рака легкого, так и при воспалительных заболеваниях легких, тогда как уровни ИЛ-8, ИЛ-18 и α -ФНО при раке легкого снижаются, а на фоне неопухолевых патологий растут. При прогрессировании опухоли уровень провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, α -ФНО) растет, тогда как ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-10 уменьшается. Отмечено увеличение уровня С-реактивного белка в динамике рака легкого, однако достоверных отличий от воспалительных заболеваний легких не выявлено.

Ключевые слова: цитокины, С-реактивный белок, слюна, рак легкого.

SALIVARY CYTOKINE DYNAMICS IN LUNG CANCER

L.V. Bel'skaya, E.A. Sarf

KhimServis LLC, Moscow, Russia

Abstract

A study of the level of cytokines and acute phase proteins in the saliva of patients with lung cancer, depending on the size of the tumor was carried out. The content of IL-2 and IL-4 in saliva reduces in case of both lung cancer and inflammatory lung diseases, whereas the levels of IL-18, IL-8 and TNF- α decrease in lung cancer and grow in non-tumorous pathologies. The progression of the tumor causes an increase in the level of proinflammatory cytokines (IL-6, IL-8, IL-18, TNF- α), whereas the levels of IL-2, IL-4 and IL-10 decrease. Increased levels of C-reactive protein in lung cancer dynamics have been observed; however, no reliable differences from inflammatory lung diseases have been detected.

Keywords: Cytokines; C-reactive protein; Saliva; Lung cancer.

Известно, что белки острой фазы и цитокины могут быть легче обнаружены в слюне, чем в сыворотке или плазме крови [1]. Поскольку цитокины, обнаруживаемые в слюне, могут накапливаться с течением времени, это позволяет более эффективно определять их уровни, чем циркулирующие в крови [2]. Преимущества слюны по сравнению с венозной или капиллярной кровью обуславливаются неинвазивностью сбора и отсутствием риска инфицирования при получении биоматериала [3]. Наиболее широкое применение слюны находит в диагностике заболеваний полости рта, в том числе и онкологических. Однако литературные данные об использовании цитокинов слюны для диагностики заболеваний легких ограничиваются туберкулезом. Тем не менее потенциально информативными для диагностики рака легких могут быть следующие цитокины: ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-18, фактор некроза опухоли- α (TNF- α) и С-реактивный белок (СРБ) [4–6]. **Цель исследования** – изучение уровня цитокинов и острофазовых белков в слюне пациентов с раком легкого в зависимости от размера опухоли.

В исследование включены 82 пациента Клинического онкологического диспансера г. Омска и 39 практически здоровых людей, выбранных в качестве контрольной группы. Основная группа включала 70 больных раком легкого (плоскоклеточный рак – 27, аденокарцинома – 32, нейроэндокринные опухоли – 11 человек); группа сравнения – 12 больных с незлокачественной легочной патологией (туберкулема – 4, пневмофиброз – 3, воспалительная псевдоопухоль – 2, пневмония – 3 человека). Контрольная группа включала условно здоровых пациентов, у которых при проведении плановой диспансеризации не было выявлено патологии легких. Средний возраст больных составил $59,2 \pm 1,1$ года для основной группы, $56,0 \pm 2,1$ года для группы сравнения и $52,1 \pm 2,5$ года для контрольной группы. Всем участникам было проведено анкетирование, биохимическое исследование слюны, гистологическая верификация диагноза. Межгрупповые различия оценены непараметрическим критерием.

В ходе проведенных исследований установлено, что на фоне рака легкого наблюдается уменьшение уровня ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-18 и TNF- α , тогда как уровень ИЛ-6 и ИЛ-10 увеличивается. Однако статистически достоверные отличия выявлены только для ИЛ-4 и TNF- α (табл. 1). Следует отметить, что увеличение уровня ИЛ-18 в группе сравнения статистически достоверно как по отношению к основной группе ($p=0.0472$), так и группе контроля ($p=0.0327$). Установлено также незначительное увеличение концентрации С-реактивного белка при патологиях легких (табл. 1). Интересным является рассмотрение динамики концентрации исследуемых параметров в зависимости от размера опухоли (табл. 2). Показано, что по характеру изменения концентрации все цитокины разделились на 2 группы: при прогрессировании заболевания увеличивается уровень ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-18, тогда как уровень ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-10 в этом же направлении снижается. Следует отметить, что выявленное уменьшение уровня цитокинов статистически достоверно: ИЛ-2 ($p=0.0410$), ИЛ-4 ($p=0.0193$) и ИЛ-10 ($p=0.0485$). Для С-реактивного белка сохраняется однозначная тенденция возрастания его уровня при увеличении размера опухоли ($p=0.0367$).

Таблица 1

Уровень цитокинов в слюне пациентов исследуемых групп

Показатель	Контроль	Основная группа	Группа сравнения
ИЛ-2	1.42 [0.88; 1.88]	1.16 [0.70; 2.36]	0.98 [0.62; 1.85]
ИЛ-4	1.21 [0.43; 1.68]	0.69 [0.23; 1.54] $p_1=0.0461$	0.89 [0.31; 1.59]
ИЛ-6	0.72 [0.55; 1.60]	0.97 [0.49; 2.49]	Нет данных
ИЛ-8	159.42 [83.61; 223.61]	108.00 [60.30; 214.00]	184.42 [156.04; 310.09]
ИЛ-10	1.81 [0.99; 2.31]	2.01 [1.18; 2.90]	1.76 [1.04; 2.46]
ИЛ-18	18.45 [7.40; 36.90]	13.60 [4.79; 56.40]	99.10 [43.80; 176.00] $p_1=0.0327; p_2=0.0472$
TNF- α	2.36 [1.37; 3.09]	0.884 [0.487; 1.880] $p_1=0.0060$	2.73 [0.92; 3.25]
СРБ	0.020 [0.015; 0.034]	0.028 [0.015; 0.056]	0.023 [0.013; 0.104]

Примечание. p_1 – статистически достоверные различия с контрольной группой, p_2 – различия по сравнению с основной группой

Таблица 2

Динамика уровня цитокинов в зависимости от размера опухоли

Показатель	$T_1N_{0-3}M_{0-1}$, n=9	$T_2N_{0-3}M_{0-1}$, n=30	$T_3N_{0-3}M_{0-1}$, n=21	$T_4N_{0-3}M_{0-1}$, n=10
ИЛ-2	2.61 [1.66; 4.94]	1.11 [0.64; 2.13] $p=0.0069$	1.14 [0.81; 2.73] $p=0.0404$	1.02 [0.60; 2.52] $p=0.0410$
ИЛ-4	1.47 [0.68; 2.00]	1.00 [0.16; 1.66]	0.53 [0.20; 1.05] $p=0.0193$	0.73 [0.35; 1.16]
ИЛ-6	0.86 [0.56; 3.93]	0.75 [0.44; 2.34]	1.18 [0.33; 1.81]	4.17 [4.00; 4.33]
ИЛ-8	68.90 [54.40; 171.50]	130.00 [66.58; 249.00]	98.20 [51.70; 160.16]	151.00 [117.00; 331.72]
ИЛ-10	2.71 [1.93; 13.10]	2.01 [0.91; 2.65] $p=0.0486$	2.09 [1.29; 3.03]	1.78 [1.33; 2.41] $p=0.0485$
ИЛ-18	19.10 [9.68; 60.55]	9.80 [4.28; 68.90]	11.50 [4.59; 33.80]	42.40 [13.60; 170.00]
СРБ	0.017 [0.015; 0.020]	0.024 [0.015; 0.041]	0.033 [0.012; 0.121]	0.044 [0.024; 0.056] $p=0.0367$
TNF- α	Нет данных	Нет данных	0.88 [0.49; 1.71]	1.26 [0.42; 1.90]

Примечание. p – статистически достоверные различия по сравнению с группой $T_1N_{0-3}M_{0-1}$.

Показано, что уровни цитокинов в слюне больных раком легкого и здоровых людей статистически достоверно не отличаются. Содержание ИЛ-2 и ИЛ-4 в слюне уменьшается как в случае рака легкого, так и при воспалительных заболеваниях легких, тогда как уровни ИЛ-8, ИЛ-18 и α -ФНО при раке легкого снижаются, а на фоне неопухолевых патологий растут. При прогрессировании опухоли уровень провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, α -ФНО) растет, тогда как ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-10 уменьшается. Отмечено увеличение уровня С-реактивного белка в динамике рака легкого, однако достоверных отличий от воспалительных заболеваний легких не выявлено.

ЛИТЕРАТУРА

1. Byrne M.L., O'Brien-Simpson N.M., Reynolds E.C., Walsh K.A., Laughton K., Waloszek J.M., Woods M.J., Trinder J., Allen N.B. Acute phase protein and cytokine levels in serum and saliva: A comparison of detectable levels and correlations in a depressed and healthy adolescent sample. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2013; 34: 164–75.
2. Khan A. Detection and quantitation of forty-eight cytokines, chemokines, growth factors and nine acute phase proteins in healthy human plasma, saliva and urine. *Journal of Proteomics*. 2012; 75: 4802–19.
3. Javaid M.A., Ahmed A.S., Durand R., Tran S.D. Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. *Journal of oral biology and craniofacial research*. 2016; 6(1): 67–76.
4. Ryan B.M., Pine S.R., Chaturvedi A.K., Caporaso N., Harris C.C. A Combined Prognostic Serum Interleukin-8 and Interleukin-6 Classifier for Stage I Lung Cancer in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial. *Journal of Thoracic Oncology*. 2014; 9(10): 1494–503.
5. Rovina N., Hillas G., Dima E., Vlastos F., Loukides S., Veldekis D., Roussos C., Alhanatis M., Bakakos P. VEGF and IL-18 in induced sputum of lung cancer patients. *Cytokine*. 2011; 54: 277–81.
6. O'Dowd C., McRae L.A., McMillan D.C., Kirk A., Milroy R. Elevated Preoperative C-reactive Protein Predicts Poor Cancer Specific Survival in Patients Undergoing Resection for Non-small Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2010; 5(7): 988–92.

СПЕКТР ГЕРМИНАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ РЕПАРАЦИИ ДНК BRCA1/2 У ПАЦИЕНТОК ЮГА РОССИИ С ДИАГНОСТИРОВАННЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

О.А. Богомолова, Е.В. Вереникина

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ РФ,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Рак яичников является одним из самых распространенных онкологических заболеваний, около 20 % которых имеют наследственную природу. Генетическая предрасположенность в 90 % обусловлена мутациями в генах системы репарации ДНК BRCA 1,2. Выявление таких мутаций имеет большое практическое значение, являясь ключевым этапом оценки риска, прогноза, лечения и профилактики рака яичников. Нами был изучен спектр герминальных мутаций в генах системы репарации ДНК BRCA 1,2 у 125 больных раком яичников, постоянно проживающих на территории Южного федерального округа. Суммарная частота мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 составила 20,8 % от общего числа обследованных пациенток. Из проанализированного спектра мутаций определено пять типов: BRCA1 5382 insC (57,7 %), BRCA1 4154delA (19,2 %), BRCA1 2080delA (11,5 %), BRCA1300T>G (C61G) и BRCA1 185delAG (3,8 %), и в одном случае выявлена мутация 6174delT в гене BRCA2, что также составило 3,8 %.

Ключевые слова: рак яичников, герминальные мутации, гены BRCA1, BRCA2.

SPECTRUM OF HERMINAL MUTATIONS IN BRCA1 / 2 DNA REPARATION GENES IN PATIENTS OF SOUTH RUSSIA WITH DIAGNOSTIC OVARIAN CANCER

O.A. Bogomolova, E.V. Verenikina

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Ovarian cancer is one of the most common diseases of the oncological nature, about 20 % of which are hereditary in nature. The genetic predisposition in 90 % is caused by mutations in the genes of the BRCA 1,2 DNA repair system. Identification of such mutations is of great practical importance, being a key step in assessing the risk of prognosis, treatment and prevention of ovarian cancer. We have studied the spectrum of germinal mutations in the genes of the BRCA 1,2 DNA repair system in 125 patients with ovarian cancer who live permanently in the Southern Federal District. The total mutation rate in the BRCA1 and BRCA2 genes was 20.8 % of the total number of patients examined. Of the analyzed mutation spectrum, there are definitely five types: BRCA1 5382 insC (57.7 %), BRCA1 4154delA (19.2 %), BRCA1 2080delA (11.5 %), BRCA1300T>G (C61G) and BRCA1 185delAG (3.8 %) and in one case a mutation of 6174delT in the BRCA2 gene was detected, which also amounted to 3.8 %.

Keywords: ovarian cancer, germinal mutations, BRCA 1, 2 genes, mutations.

Актуальность. Рак яичников занимает важное место в структуре онкологической заболеваемости среди женщин. Седьмое среди всех злокачественных новообразований и третье место среди злокачественных новообразований органов репродуктивной системы [1].

Значительный вклад в развитие данного заболевания вносит наследственная предрасположенность, которая достигает 20 % от общей заболеваемости данной локализации. Основная доля (90 %) наследственных форм обусловлена мутациями в генах системы репарации ДНК BRCA 1,2. Эти гены играют важную роль в поддержании целостности генетического аппарата клетки, подавлении опухолевого роста, а также обеспечении репарации двойных разрывов ДНК [2].

Выявление мутаций в генах системы репарации ДНК имеет наибольшее практическое значение и является ключевым этапом оценки риска, прогноза, лечения и профилактики рака яичников.

Спектры и частоты мутаций в генах BRCA 1,2 зависят от этнической принадлежности и географического положения популяций [3]. Информация об этих характеристиках важна с точки зрения понимания процессов возникновения и распространения мутаций и необходима для решения практической задачи – профилактики рака [4]. Многими исследователями отмечено, что молекулярные варианты генов BRCA 1,2 могут значительно отличаться в разных странах и этнических группах, этот момент и стал для нас определяющим к проведению данной работы [5–7].

Цель – оценить спектр и частоту встречаемости восьми известных мутаций в генах репарации ДНК BRCA1,2 у пациенток юга России с диагнозом рак яичников.

Материал и методы. Нами был проведен молекулярно-генетический анализ восьми наиболее частых мутаций в локусах генов BRCA1/2: 185delAG, 300T>G (C61G), 2080delA, 4154delA, 5382insC, 3819delGTAAA, 3875delGTCT, 6174delT. В исследование было включено 125 больных, проходивших лечение в стационаре ФГБУ «РНИОИ» с диагнозом рак яичников.

Возрастной интервал пациенток на момент постановки диагноза колебался от 39 до 68 лет, медиана возраста составила 53 года. Геномную ДНК для исследования получали из лейкоцитов периферической крови, детекцию мутаций проводили методом реал-тайм ПЦР.

Результаты и обсуждения. При проведении исследования мутантного статуса генов BRCA1/2 обнаружено 26 случаев мутаций (20,8 %). Из всего проанализированного спектра выявлено пять типов мутаций: BRCA1 5382 insC выявлена 15 случаях, что составило 57,7 %, в пяти случаях была обнаружена мутация BRCA1 4154delA (19,2 %), мутация 2080delA в гене BRCA1 была выявлена в 11,5 %. Единичные случаи мутаций 300T>G (C61G) и 185delAG обнаружены в гене BRCA1 (3,8 %) и в одном случае выявлена мутация 6174delT в гене BRCA2, что также составило 3,8 % (рис.1).

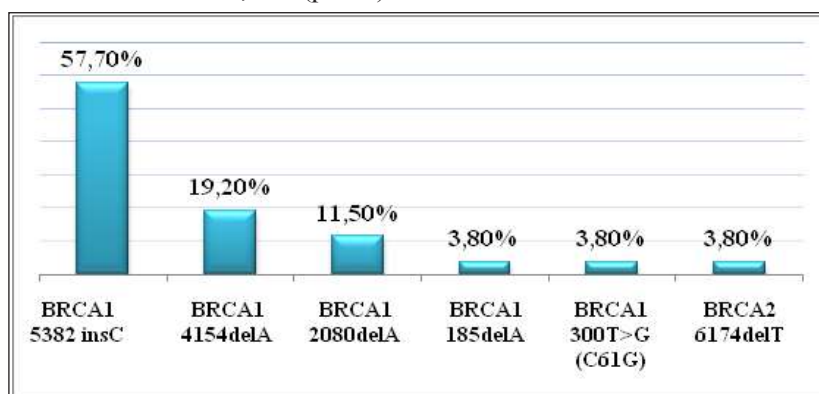


Рис. 1. Исследование мутантного статуса генов BRCA1/2

При анализе клинических данных для пациенток, несущих мутации, был характерен серозный гистологический тип со стадией дифференцировки G2 и G3. У 70 % пациентов с выявленными мутациями был онкологически отягощенный семейный анамнез, что подтверждается данными по медиане возраста пациенток с обнаруженными мутациями, которая составила 53 года.

Выводы. Определение мутаций в генах системы репарации ДНК BRCA 1,2 дает возможность формировать группы риска здоровых носителей мутантного аллеля, а также проводить ряд мероприятий, направленных на предупреждение и раннюю диагностику наследствен-

ной патологии. У пациентов с диагнозом наследственный рак яичников по результатам молекулярно-генетического тестирования необходимо менять тактику лечения, что позволит проводить персонализированную терапию онкологических заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России. 2018; 8.
2. Lalwani N., Prasad S.R., Vikram R., Shanbhogue A.K., Huettner P.C., Fasih N. Histologic, molecular, and cytogenetic features of ovarian cancers: implications for diagnosis and treatment. *Radiographics*. 2011; 31(3): 625–46.
3. Clark-Knowles K.V., O'Brien A.M., Weber J.L. BRCA1 as a Therapeutic Target in Sporadic Epithelial Ovarian Cancer. *J. Oncol.* 2010; 8: 9.
4. Киселев В.И., Мужнейк Е.Л. Наследственный рак и современные возможности лекарственной коррекции генетических дефектов. М., 2011. 1–16.
5. Биттуева М.М. Анализ наследственных форм рака молочной железы по четырем мутациям гена BRCA1 в Кабардино-Балкарской республике. *Архивариус*, 2016; 10 (2): 5–6.
6. Батенева Е.И., Филиппова М.Г., Тюляндина А.С., Крохина О.В., Семьянихина А.В., Петровский А.В., Жукова Л.Г., Мещеряков А.А., Жорданца К.И., Соболевский В.А., Воронников И.К., Трофимов Д.Ю., Любченко Л.Н. результаты генетического скрининга герминальных мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 у больных раком молочной железы и больных раком яичников в Российской популяции. *Онкогинекология*. 2015 (3): 34–39.
7. Пржедецкий Ю.В., Водлажский Д.И., Шатова Ю.С., Комова Е.А., Дваденко К.В. BRCA-мутации у больных с клиническими признаками наследственного рака молочной железы в южном федеральном округе. Злокачественные опухоли. 2015; 4–2 (16): 121–122.

СВЯЗЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ КЛЕТОЧНОЙ ПОДВИЖНОСТИ С МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ГОЛОВЫ И ШЕИ

М.О. Болтрушевич

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия

Аннотация

Для выявления новых маркеров метастазирования плоскоклеточного рака головы и шеи (ПРГШ) необходимо изучение молекулярных особенностей этого заболевания. В работе оценивали уровень экспрессии генов белков клеточной подвижности фасцина (FSCN1), эзрина (EZR), профилина (PFN), кофилина 1 (CFL1) и аденилилциклаза-ассоциированного протеина 1 (CAP1) в тканях ПРГШ у больных с метастазами и без них в зависимости от типа локомоции. Показана возможная связь экспрессии генов PFN, CAP1 и EZR с мезенхимальным типом клеточной подвижности при метастазировании ПРГШ, а PFN и CAP1 – с амeboидным. Результаты работы позволяют сформировать фундаментальную базу для разработки новых способов прогноза заболевания.

Ключевые слова: актин-связывающие белки, плоскоклеточный рак головы и шеи, метастазирование, мезенхимальный тип, амeboидный тип.

RELATION OF EXPRESSION OF GENES ENCODING CELLULAR MOVEMENT PROTEINS WITH METASTASIS OF HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMA

M.O. Boltrushevich

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract

It is necessary to study the molecular features of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) to search for new markers of metastasis of this disease. The paper presents the results of the gene expression analysis of actin-binding proteins: fascin (FSCN1), ezrin (EZR), profilin (PFN1), cofilin 1 (CFL1) and adenyl cyclase-associated protein 1 (CAP1) in tissues of patients with HNSCC depending on metastasis and the locomotion type. There was shown the possible relation of PFN1, CAP1 and EZR gene expression with a mesenchymal-type of cellular movement in metastasis of HNSCC and PFN and CAP1 expression with an amoeboid-type. The results of the work will allow to form a fundamental basis for the development of new ways of predicting the HNSCC.

Keywords: actin-binding proteins, head and neck squamous cell carcinoma, metastasis, mesenchymal-type, amoeboid-type of cellular movement.

Актуальность. Плоскоклеточный рак головы и шеи (ПРГШ) характеризуется высоким метастатическим потенциалом [1, 2], определяющимся изменением в составе и свойствах белков, в том числе и актин-связывающих белков [3–5]. Существуют мезенхимальный и амeboидный типы локомоции, которые ассоциированы с определенными маркерами [5, 6]. Молекулярный механизм типов клеточной локомоции до конца не изучен. Мало изучена связь актин-связывающих белков с различными типами клеточного движения, в том числе и при ПРГШ. Не определен тип локомоторной активности при метастазировании ПРГШ. Поэтому изучение уровня экспрессии генов, кодирующих актин-связывающие белки фасцина (FSCN1), эзрина (EZR), профилина (PFN), кофилина 1 (CFL1) и аденилилциклаза-ассоциированного протеина 1 (CAP1), в тканях ПРГШ в зависимости от типа локомоции представляется актуальным. **Цель исследования** – оценить уровень экспрессии генов FSCN1, EZR, PFN, CFL1 и CAP1 в тканях ПРГШ в зависимости от типа клеточной локомоции.

Материал и методы. В исследование вошли 25 больных ПРГШ (T2–4N1–2M0, n=15; T1–4N0M0, n=10), поступивших на лечение в отделение опухолей головы и шеи НИИ онкологии ТНИМЦ. Уровень экспрессии мРНК белков мезенхимального типа локомоции (SNAIL1, VIM), амeboидного типа (CAPN2, RND3) и мРНК белков FCSN, EZR, PFN1, CFL1, CAP1 анализировали методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Статистический анализ результатов проводился с помощью пакета программ Statistica 6.0 и PSPP.

Результаты и обсуждение. Экспрессия генов белков, участвующих в мезенхимальном типе движения изменялась разнонаправленно: уровень мРНК VIM в опухоли у больных ПРГШ с метастазами был ниже в 8 раз, а уровень мРНК SNAIL выше в 4,5 раза по сравнению с опухолью больных ПРГШ без метастазов (табл. 1). Уровень экспрессии генов белков, участвующих в амeboидном типе движения, был в 3 раза выше у больных ПРГШ с метастазами, чем без метастазов (табл. 1). Результаты говорят о смешанном типе клеточного движения при метастазировании ПРГШ, что, в общем, согласуется с литературными данными [5, 6]. Уровень экспрессии генов актин-связывающих белков также различался в исследуемых группах, однако значимые отличия были только в экспрессии EZR и CAP1 (табл. 2).

Таблица 1

Уровень экспрессии мРНК генов маркеров разных типов клеточной подвижности в зависимости от наличия метастазов

	Gene ID	T ₁₋₄ N ₀ M ₀ , M±m	T ₂₋₄ N ₁₋₂ M ₀ , M±m	p
SNAIL	6615	3,88±1,91	17,98±5,09	0,05
VIM	7431	25,22±8,52	2,92±2,04	0,05
CAPN2	824	2,69±0,58	8,39±3,07	0,04
RND3	390	7,32±3,76	19,54±6,40	0,06

Примечание: p – значимость различий между группами опухолей.

Таблица 2

Уровень экспрессии мРНК генов, кодирующих белки клеточной подвижности в зависимости от наличия метастазов

	Gene ID	T1-4N0M0, M±m	T2-4N1-2M0, M±m	p
FCSN	6624	4,15±1,80	4,87±3,19	0,53
EZR	7430	22,35±5,36	4,20±1,49	0,05
PFN	5216	10,83±5,44	23,26±17,66	0,92
CFL1	1072	11,74±6,18	10,43±5,50	0,43
CAP1	10487	19,19±7,88	10,07±4,72	0,05

Примечание: p – значимость различий между группами опухолей.

Была отмечена положительная корреляция между уровнями экспрессии PFN и SNAIL ($r=0,6$; $p\leq 0,05$), PFN и RND ($r=0,4$; $p\leq 0,05$). Уровень экспрессии CAP1 был связан с уровнем экспрессии SNAIL ($r=0,5$; $p\leq 0,05$) и RND ($r=0,4$; $p\leq 0,05$). Низкий уровень экспрессии EZR у больных ПРГШ с метастазами сопровождался снижением уровня экспрессии VIM ($r=0,4$; $p\leq 0,05$).

Выводы. При метастазировании ПРГШ показана возможная вовлеченность экспрессии генов PFN1, CAP1 и EZR в мезенхимальный тип подвижности, PFN1 и CAP1 – в амебоидный. Определение экспрессионного профиля исследуемых генов в связи с развитием метастазов при ПРГШ позволит сформировать фундаментальную базу для разработки новых способов прогнозирования заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. Постгеномные технологии в прогнозе метастазирования плоскоклеточных карцином головы и шеи. Российский биотерапевтический журнал. 2011; 10(3): 3136.
2. Кондакова И.В., Какурина Г.В., Спирина Л.В., Черемисина О.В., Панкова О.В., Меньшиков К.Ю. Оценка внеклеточного и внутриклеточного протеолиза при предопухолевых и опухолевых заболеваниях гортани. Сибирский онкологический журнал. 2014; 3: 4550.
3. Бочкарева Н.В., Кондакова И.В., Коломиец Л.А. Роль актинсвязывающих белков в клеточном движении в норме и при опухолевом росте. Молекулярная медицина. 2011; 6: 1418.
4. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Черемисина О.В., Шишкин Д.А., Чойнзонов Е.Л. Аденилициклаза-ассоциированный протеин 1 в развитии плоскоклеточных карцином головы и шеи. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015; 160(11): 648651.
5. Александрова А.Ю. Пластичность миграции опухолевых клеток: приобретение новых свойств или возврат к «хорошо забытым» старым? Биохимия. 2014; 79(9): 11691187.
6. Krakhmal N.V., Zavyalova M.V., Denisov E.V., Vtorushin S.V., Perelmuter V.M. Cancer Invasion: Patterns and Mechanisms. Acta Naturae. 2015; 7(2): 1728.

ВЛИЯНИЕ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ТЕРАПИИ НА КОЛИЧЕСТВО И ФЕНОТИП ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК В СТРУКТУРАХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ КАРЦИНОМ ГОЛОВЫ И ШЕИ

Л.Н. Бондарь

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В настоящее время активно исследуется роль дендритных клеток (ДК) в прогрессировании злокачественных опухолей, в том числе и плоскоклеточных карцином (ПКК). Показано, что ДК могут как препятствовать, так и способствовать прогрессированию ПКК, определяя тип иммуновоспалительной реакции (ИВР). В данном исследовании показана закономерность изменения количества ДК в опухолевых структурах и воспалительной инфильтрации в строме ПКК области головы и шеи под влиянием неоадьювантной терапии.

Ключевые слова: дендритные клетки, плоскоклеточный рак, рак головы и шеи.

EFFECT OF NEOADJUVANT THERAPY ON THE NUMBER AND PHENOTYPE OF DENDRITIC CELLS IN THE STRUCTURES OF SQUAMOUS CELL CARCINOMAS OF THE HEAD AND NECK

L.N. Bondar

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Аннотация

Currently, the role of dendritic cells (DC) in the progression of malignant tumors, including squamous cell carcinomas (SCC), is actively investigated. It is shown that DC can both inhibit and promote the progression of the SCC, determining the type of immunoinflammatory reaction (IFR). This study shows the pattern of changes in the number of DCs in tumor structures and inflammatory infiltration in the stroma of the SCC of the head and neck region under the influence of neoadjuvant therapy.

Keywords: dendritic cells, squamous cell cancer, head and neck cancer.

Актуальность. Заболеваемость карциномами области головы и шеи находится на седьмом месте среди всех злокачественных новообразований и на девятом месте по частоте причин смерти от рака [1]. Изучению опухолевой прогрессии отводится большая часть исследований. Инвазивный рост и лимфогенное метастазирование – одни из проявлений прогрессирования опухолевого процесса. Данные процессы тесно связаны с опухолевым микроокружением, т.е. с характером и типом ИВР. ДК, как первое звено иммунного ответа, способны определять тип ИВР. В литературе имеются противоречивые данные о связи между состоянием ДК и способностью опухоли к инвазивному росту и лимфогенному метастазированию [2]. Терапия оказывает существенное влияние на проявления ИВР вообще и количество и состояние ДК в частности. В литературе имеются данные о том, что препараты платины могут через воздействие на ДК как способствовать, так и препятствовать росту опухоли [3]. В связи с этим представляет интерес изучение влияния предоперационной неадьювантной терапии на состояние ДК в опухоли.

Материал и методы. В исследовании был использован послеоперационный материал, полученный от 97 пациентов с плоскоклеточной карциномой области головы и шеи (локализация: верхнечелюстная пазуха, язык, дно полости рта, слизистая нижней челюсти, гортань) T1–4N0–3M0, получивших лечение в отделении опухолей головы и шеи НИИ онкологии Томского НИМЦ. Часть пациентов по показаниям получала неадьювантную терапию (химиотерапию, лучевую терапию или сочетанную химиолучевую терапию). Материал фиксировался в 10 % растворе нейтрального формалина. Проводка и изготовление гистологических препаратов осуществлялись по стандартной методике. Препараты окрашивались гематоксилином и эозином и подвергались световой микроскопии. Иммуногистохимическое исследование проводилось по стандартной методике [4]. Для выявления ДК использовалось мышиное антитело CD1a (clone 010, Dako) для парафиновых срезов.

В ПКК изучалось 5 типов структур: 1-й тип – структуры с ороговением, 2-й тип – структуры без ороговения, но с наличием клеток типа базального слоя; 3-й тип – преимущественно представлен базалоидными клетками, 4-й тип – с выраженным полиморфизмом, 5-й тип – малые группы опухолевых клеток или единичные опухолевые клетки. Первые два типа отнесены к высокодифференцированным опухолевым структурам. Структуры с 3-й по 5-ю – к низкодифференцированным структурам. [5]. В исследовании проводилась оценка количества ДК в ПКК ОГШ, выявляемых с помощью CD1a в различных типах структур. Количество ДК, выявляемых с помощью CD1a, рассчитывалось в процентах на одну структуру ПКК. Результаты исследования обработаны с использованием критериев Mann–Whitney и Wilcoxon.

Результаты. Обнаружена внутриопухолевая гетерогенность распределения ДК в опухолевых структурах. Максимальное количество ДК выявлялось в опухолевых структурах с ороговением (1-й тип). Количество CD1a+ ДК уменьшалось под влиянием неадьювантной терапии в структурах 1, 2 и 4-го типа. Под влиянием терапии отмечалось уменьшение и воспалительной инфильтрации в строме опухоли. Отмечена тенденция к уменьшению частоты

метастатического поражения лимфоузлов при наличии лечения (без лечения метастазы в 57,7 %, с лечением в 42,4 %), $p=0,16$, в то время как количество пораженных лимфоузлов было одинаковым (2,0 (1,0÷3,0)) в случаях с лечением или без лечения.

Выводы. Таким образом, показана количественная и морфологическая гетерогенность ДК в структурах ПНК головы и шеи под влиянием неoadъювантной терапии. Представляет интерес механизм, лежащий в основе уменьшения выраженности воспалительной инфильтрации и особенно снижения количества ДК, располагающихся среди опухолевых элементов. Это может быть связано с противовоспалительным эффектом терапии. Следует допустить, что ДК могут мигрировать из опухолевых структур, подобно тому как это происходит в нормальном эпидермисе при воздействии на ДК антигенов и TOL-лигандов.

ЛИТЕРАТУРА

1. El-Naggar A.K., Chan J.K.C., Grandis J.R., Takata T., Sliotweg P.J. WHO classification of Head and Neck Tumours. IARC: Lyon 2017.
2. Yilmaz T., Gedikoglu G., Çelik A., Önerci M., Turan E. Prognostic significance of Langerhans cell infiltration in cancer of the larynx. *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. 2005Feb; 132(2): 309316. doi.org/10.1016/j.otohns.2004.04.018
3. Kim W.S., Kim H., Kwon K.W., Im S.H., Lee B.R., Ha S.J., Shin S.J. Cisplatin induces tolerogenic dendritic cells in response to TLR agonists via the abundant production of IL-10, thereby promoting Th2- and Tr1-biased T-cell immunity. *Oncotarget*. 2016Jun7; 7(23): 3376582. doi: 10.18632/oncotarget.9260.
4. Савенкова О.В., Завьялова М.В., Бычков В.А., Чойзенов Е.Л., Перельмутер В.М. Связь экспрессии матриксных металлопротеиназ с морфологической гетерогенностью, дифференцировкой опухоли и лимфогенным метастазированием плоскоклеточной карциномы гортани. *Сибирский Онкологический Журнал*. 2015;1: 5158.
5. Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю. Методы иммуногистохимии и гибридизации in situ в онкоморфологии. Москва: Медицинская технология. 2009. 14.

РАЗРАБОТКА ИММУНОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ МЕЛАНОМЫ

Е.А. Боробова^{1,2}, Д.В. Антонец¹, Е.В. Старостина¹, С.Ф. Орешкова¹,
Д.Н. Щербakov¹, О.Ю. Смирнова¹, С.И. Бажан¹, А.А. Ильичев¹,
Л.И. Карпенко¹, Е.Д. Даниленко¹, С.Г. Гамалей¹, С.В. Усова¹, М.П. Богрянцева¹

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»,
г. Новосибирск, Россия¹

Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный медицинский
исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск, Россия²

Аннотация

Меланома является наиболее агрессивным и опасным раком кожи, отличается быстрыми темпами роста и высокой частотой формирования метастазов. Для клеток меланомы характерно присутствие раковых антигенов на поверхности. В связи с этим существует возможность создания эффективной терапевтической вакцины против меланомы.

Ключевые слова: меланома, иммунотерапия, вакцины, цитотоксические Т-лимфоциты.

DEVELOPMENT OF AN IMMUNOTHERAPEUTIC VACCINE AGAINST MELANOMA

E.A. Borobova^{1,2}, D.V. Antonets¹, E.V. Starostina¹, S.F. Oreshkova¹,
D.N. Shcherbakov¹, O.Yu. Smirnova¹, S.I. Bazhan¹, A.A. Ilyichev¹,
L.I. Karpenko¹, E.D. Danilenko¹, S.G. Gamalei¹, S.V. Usova¹, M.P. Bogryantseva¹

State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Novosibirsk, Russia¹
E.N. Meshalkin Siberian Medical Research Centre, Novosibirsk, Russia²

Abstract

Melanoma is the most aggressive and dangerous skin cancer. It's characterized by rapid growth rates and high incidences of metastasis. Melanoma cells have tumor antigens on their surfaces. Thereby, it's possible to create an effective therapeutic vaccine against melanoma.

Keywords: melanoma, immunotherapy, vaccines, cytotoxic T-lymphocytes.

Актуальность. Меланома – самый агрессивный рак кожи. По данным мировой статистики, на долю меланомы приходится 1 % злокачественных новообразований кожи, но до 80 % летальных исходов. Высокая смертность и низкая эффективность лечения связаны с быстрым метастазированием и формированием резистентности к классическим методам терапии [1].

Высокая иммуногенность меланомных опухолей, обусловленная присутствием на поверхности клеток раковых антигенов (Melan-A/MART-1, gp100, тирозиназа, MAGE-3 и NY-ESO-1 и др.), дает надежду на создание эффективной терапевтической вакцины или разработку эффективной иммунотерапевтической стратегии, использующей последние достижения молекулярной иммунологии и клеточных технологий [2–4]. Привлекательным и перспективным подходом к лечению больных с онкологическими заболеваниями является ДНК-вакцинация, индуцирующая цитотоксические CD8⁺ Т-лимфоциты, которые являются главными эффекторными клетками противоопухолевого иммунитета [5, 6].

Целью настоящего исследования стали дизайн, конструирование и изучение экспрессии в эукариотических клетках рекомбинантной ДНК-вакцины, кодирующей полиэпитопный иммуноген для индукции специфического Т-клеточного иммунного ответа против клеток меланомы. Проведение доклинических испытаний вакцины pMel-TCI.

Материал и методы. Теоретический дизайн ДНК-вакциной конструкции, кодирующей «аллелеспецифический» полиэпитопный Т-клеточный иммуноген MEL-TCI, проводился с помощью программ TEpredict и PolyCTLDesigner. Ген, кодирующий целевой иммуноген, был синтезирован и клонирован в составе векторной плазмиды pcDNA3.1. Подлинность полученной рекомбинантной плазмиды pMEL-TCI была подтверждена с использованием рестрикционного анализа и секвенирования.

Исследование экспрессии целевого гена в клетках НЕК 293 осуществлялось с применением методов внутриклеточного окрашивания продукта экспрессии специфическими МАТ 29F2 к белку-маркеру p24, ОТ-ПЦР и иммуноблоттинга. Изучение специфической активности плазмиды pMEL-TCI проводилось в системе *ex vivo* с использованием моноклеаров периферической крови. Определение иммуногенности плазмиды pMEL-TCI определяли с применением метода проточной цитофлюориметрии. Цитотоксическая активность CD8⁺ Т-лимфоцитов оценивалась с помощью калориметрического метода по высвобождению фермента ЛДГ клетками меланомы.

Результаты и обсуждение. В результате была сконструирована и наработана в препаративном количестве плазида pMEL-TCI, кодирующая Т-клеточные эпитопы антигенов меланомы. Получены данные, подтверждающие экспрессию гена MEL-TCI в клетках НЕК 293. Экспериментально была продемонстрирована специфическая активность вакцины pMEL-TCI. Результаты исследований свидетельствуют: ДНК-вакцина индуцирует статистически значимые ответы CD8⁺ Т-лимфоцитов, которые вызывают лизис клеток меланомы MEL Is. При этом цитотоксическая активность эффекторных Т-лимфоцитов достоверно превосходила цитотоксический ответ, индуцированный плазмидами pcDNA3.1 (отрицательный контроль) и pcDNA-mart1 (положительный контроль).

Проведенные на мышах и морских свинках доклинические исследования вакцины pMEL-TCI показали отсутствие токсических и иммуноотоксических свойств, отсутствие отрицательного влияния на репродуктивную функцию и отсутствие мутагенного эффекта в тесте Еймса. Исследования на кроликах показали, что вакцина не является пирогенной.

Выводы. В результате проведенного исследования показано присутствие целевых белков в эукариотических клетках, трансфицированных ДНК-вакциной pMEL-TCI. Была продемонстрирована способность сконструированной ДНК-вакцины pMEL-TCI индуцировать Т-клеточный иммунный ответ против антигенов меланомы человека. В результате проведенных доклинических исследований было показано, что вакцина pMEL-TCI не оказывает отрицательного воздействия на физиологические, биохимические и морфологические по-

казатели у иммунизированных животных и является полностью безопасной для применения в клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Key Statistics for Melanoma Skin Cancer [Интернет]. URL: <https://www.cancer.org/cancer/melanoma-skin-cancer/about/key-statistics.html> (дата обращения: 1.05.2018)
2. Arenberger P., Fialova A., Galpaktiotis S., Pavlikova A., Puzanov I., Arenbergerova M. Melanoma antigens are biomarkers for ipilimumab response. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2017; 31: 252–259. doi:10.1111/jdv.13940.
3. Pitcovski J., Shahar E., Aizenshtein E., Gorodetsky R. Melanoma antigens and related immunological markers. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2017; 115: 36–49. doi: 10.1016/j.critrevonc.2017.05.001.
4. Donnell A.H., Edwards J.R., Rollins R.A., Kraats N.D., Su T., Hibshoosh H.H., Bestor T.H. Methylation abnormalities in mammary carcinoma: the methylation suicide hypothesis. 2014; 5(14): 1311–1324. doi:10.4236/jct.2014.514131.
5. Fioretti D., Iurescia S., Fazio V.M., Rinaldi M. DNA vaccines: developing new strategies against cancer. *BioMed Research International*. 2010; 2010: 1–16. doi:10.1155/2010/174378.
6. Melief J.M., Hall T., Arens R., Ossendorp F., Burg S.H. Therapeutic cancer vaccines. *Clinical Investigation*. 2015; 125 (9): 3401–3412. doi:10.1172/JCI80009.

ДОЗОЗАВИСИМЫЕ ЭФФЕКТЫ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА ПРИ РОСТЕ КАРЦИНОМЫ ГЕРЕНА

М.И. Брагина, Г.В. Жукова

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

На белых беспородных крысах-самцах с карциномой Герена были установлены дозозависимые эффекты противоопухолевого влияния наночастиц магнетита при их перитуморальном введении. Противоопухолевый эффект оценивали по показателям торможения роста опухоли и увеличения продолжительности жизни экспериментальных животных.

Ключевые слова: наночастицы магнетита, карцинома Герена, противоопухолевый эффект.

DOSE-DEPENDENT EFFECTS OF MAGNETITE NANOPARTICLES DURING THE GROWTH OF GUERIN'S CARCINOMA

M. I. Bragina, G.V. Zhukova

Federal state budgetary institution «Rostov Research Institute of Oncology» by Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Dose-dependent effects of the antitumor effect of magnetite nanoparticles upon their peritumoral administration in white unbreed male rats with Guerin's carcinoma were established. The antitumor effect was assessed according to the inhibition of tumor growth and the prolongation of the life span of experimental animals.

Keywords: magnetite nanoparticles, Guerin's carcinoma, antitumor effect.

Актуальность. Уникальные структурные, оптические и электронные свойства магнитных наночастиц (НЧ) обеспечивают их широкое применение в биомедицинских исследованиях [1]. Ранее была показана противоопухолевая эффективность перитуморального введения разных доз наночастиц биогенных металлов в отношении саркомы 45 и лимфосаркомы Плисса, начальный объем которых не превышал 1,0 см³ [2]. В настоящем исследовании планируется провести сравнительное изучение противоопухолевой эффективности НЧ магнетита в отношении опухолей иного гистотипа – карциномы Герена, достигших больших объемов, при использовании различных доз: большой дозы НЧ, показавшей свою эффективность в предыдущих исследованиях [3], и малой дозы.

Материал и методы. НЧ магнетита размером 10 ± 2 нм применяли в форме магнитной жидкости (МЖ) на водной основе – «АМ-01» (НПП «АМ Куб», Екатеринбург), в роли ПАВ выступала стеариновая кислота. Эксперименты были выполнены на 30 белых беспородных крысах-самцах с перевитой подкожно аденокарциномой Герена. Опытная группа ($n=20$) включала две подгруппы с введением малой ($D1=1,25 \text{ мг/кг}$) и большой доз ($D2=17,7 \text{ мг/кг}$) НЧ магнетита. Воздействие начинали по достижении опухоли размеров $1,5\text{--}2,5 \text{ см}^3$. МЖ разводили физиологическим раствором. Полученную взвесь вводили перитуморально 2 раза в неделю в течение 4 нед. Контрольную группу составили 10 животных с аналогичным введением физиологического раствора. Объем опухоли определяли 3 раза в неделю по формуле Шрека для эллипсоидов. Животные находились в эксперименте до естественной гибели, после чего производился расчет показателей их выживаемости и определялась продолжительность жизни (ПЖ) в каждой подгруппе.

Результаты и обсуждение. В результате введения НЧ магнетита в опытной группе было отмечено торможение роста опухоли (ТРО). На основном этапе наблюдения за ростом опухоли среднее значение ТРО в группе с большой дозой составляло 43 % с максимумом 47 %. При введении НЧ в малой дозе среднее значение ТРО было значительно ниже и составляло 18,5 % с максимумом 32 %. Опираясь на результаты основного этапа эксперимента, можно было видеть, что эффективность большой дозы НЧ превосходит таковую при введении малой дозы в 2,3 раза. На заключительном этапе исследований при введении большой дозы эта закономерность приобрела более выраженный характер, поскольку ТРО в подгруппе с введением большой дозы НЧ составляло 27 %, а при введении малой дозы эффект отсутствовал. При оценке продолжительности жизни было установлено, что в подгруппе с введением $D1$ первый случай падежа был отмечен на 22-е сутки, в то время как в подгруппе с введением $D2$ и в группе контроля это произошло позже – на 27 и 26-е сут соответственно. На дальнейших этапах эксперимента падеж в подгруппе с малой дозой НЧ и в группе контроля происходил параллельно, в отличие от подгруппы с введением большой дозы, где сроки гибели животных были сдвинуты в сторону увеличения продолжительности жизни. На заключительном этапе эксперимента средняя продолжительность жизни (СПЖ) животных в подгруппе с введением $D1$ и в подгруппе контроля практически не отличалась и составила 30,3 и 31 сут соответственно, в то время как в подгруппе с введением $D2$ СПЖ увеличилась в 1,2 раза, что нашло свое отражение в увеличении продолжительности жизни, которое составило 23,5 %.

Выводы. Таким образом, были установлены дозозависимые эффекты перитуморального введения наночастиц магнетита на рост карциномы Герена. Проведенное исследование показало большую эффективность наночастиц магнетита в большой дозе, заключавшуюся в торможении роста опухоли с максимумом 47 % и дальнейшей стабилизацией эффекта по мере продолжения введения НЧ, а также увеличении продолжительности жизни экспериментальных животных на 23,5 %. Полученные результаты указывают на возможность применения наночастиц магнетита в большой дозе в качестве эффективного локального противоопухолевого фактора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Belyanina I., Kolovskaya O., Zamay S., Gargaun A., Zamay T., Kichkailo A. Targeted Magnetic Nanotheranostics of Cancer. *Molecules*. 2017; 22(6): 975; doi: 10.3390/molecules22060975.
2. Жукова Г.В., Горошинская И.А., Шихлярова А.И., Кут О.И., Качесова П.С., Положенцев О.Е. О самостоятельном действии металлосодержащих наночастиц на злокачественные опухоли. *Биофизика*. 2016; 61 (3): 558–575.
3. Брагина М.И., Жукова Г.В., Шихлярова А.И., Бартењева Т.А., Гудцова Т.Н., Ширнина Е.А., Петросян В.И., Триандафиллиди Е.И., Быкадорова О.В., Мхитарян О.В. Изменения в ткани саркомы 45 белых крыс при действии резонансного излучения и наночастиц магнетита. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; 6.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРОВ РОСТА И ИХ РЕЦЕПТОРОВ В ТКАНЯХ ПОЧКИ БОЛЬНЫХ С ЛОКАЛЬНЫМ И ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ СВЕТЛОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ

**А.А. Бреус, Е.М. Франциянц, А.Н. Шевченко, С.Н. Димитриади,
Д.А. Швырев, Ю.А. Погорелова, И.В. Нескубина, Е.В. Шалашная,
Е.В. Филатова**

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Цель – сравнительный анализ количественного содержания VEGF-D, VEGF-A и растворимого рецептора – VEGF-R1 в тканях почки (ткань опухоли, ткань перифокальной зоны и условно интактная ткань) при локальном и генерализованном светлоклеточном раке почки. **Методы.** В работе использовали 10 % цитозольные фракции тканей почки (опухоль, перифокальная зона, условно интактная ткань). Содержание ростовых факторов – VEGF-D, VEGF-A и растворимого рецептора – VEGF-R1 определяли методом ИФА с использованием стандартных тест-систем. **Результаты.** Проведен сравнительный анализ количественного содержания VEGF-D, VEGF-A, растворимого рецептора VEGF-R1 в тканях почки (ткань опухоли, ткань перифокальной зоны и условно интактная ткань) при локальном и генерализованном светлоклеточном раке почки. Уровень VEGF-A в ткани опухоли локального рака почки по сравнению со значениями в условно интактной ткани был статистически значимо ниже на 31 %, а уровень растворимого рецептора – VEGF-R1 на 45 % соответственно. В ткани опухоли при генерализованном раке почки была выявлена гиперэкспрессия ангиогенного фактора роста VEGF-A и подавление блокатора ангиогенеза VEGF-R1. Уровень VEGF-D в ткани опухоли при локальном и генерализованном раке почки во всех исследуемых тканях не претерпевал статистически значимых изменений. **Выводы.** В ходе работы выявлено, что при раке почки лимфогенный путь распространения и развития опухоли не является доминирующим. Генерализация рака почки сопровождается гиперактивацией VEGF-A и угнетением VEGF-R1.

Ключевые слова: фактор роста, рецептор, светлоклеточный рак почки, локальный рак, генерализованный рак.

FEATURES OF THE EXPRESSION OF GROWTH FACTORS AND THEIR RECEPTORS IN THE TISSUES OF THE KIDNEYS OF PATIENTS WITH LOCAL AND GENERALIZED CLEAR CELL CARCINOMA

A.A. Breus, E.M. Frantsiyants, A.N. Shevchenko, S.N. Dimitriadi, D.A. Shvyrev, Yu.A. Pogorelova, I.V. Neskubina, E.V. Shalashnaya, E.V. Filatova

Federal state budgetary institution Rostov Oncology Research Institute of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Aim. Comparable analysis of levels of VEGF-D, VEGF-A and VEGF-R1 in kidney tissues (tumor, its perifocal zone and intact tissues) in local and advanced clear cell renal cell carcinoma. **Material and methods.** 10 % cytosolic fractions of kidney tissues (tumor, its perifocal zone and intact tissues) were studied. Levels of VEGF-D, VEGF-A and VEGF-R1 were determined by ELISA using standard test systems. **Results.** Comparable analysis of VEGF-D, VEGF-A, and VEGF-R1 levels in kidney tissues (tumor, its perifocal zone and intact tissues) in local and advanced clear cell renal cell carcinoma was performed. VEGF-A levels in tumors in local cancer were significantly lower than in intact tissues – by 31 %, and VEGF-R1 levels were 45 % lower. Tumor tissues in advanced cancer showed overexpression of the angiogenic growth factor VEGF-A and inhibition of the angiogenesis suppressor VEGF-R1. VEGF-D levels in all tissues in local and advanced renal cancer were similar. **Conclusions.** The results showed that lymphogenous tumor spread and development was not predominant in renal carcinoma. Advanced renal cancer was accompanied by the VEGF-A overexpression and the VEGF-R1 inhibition.

Keywords: growth factor, receptor, light-celled kidney cancer, local cancer, generalized cancer.

Актуальность. Светлоклеточный рак почки является наиболее распространенным типом рака почки и составляет 70–80 % от всех опухолей почки. Особое внимание уделяется неоангиогенезу при опухолях почки и ангиогенным маркерам, поскольку для роста и развития опухоли требуется разветвленная сеть сосудов и капилляров, обеспечивающих снабжение клеток питательными веществами и кислородом.

Материал и методы. В работе использованы ткани опухоли почки, ее перифокальной зоны, условно интактные ткани, полученные при хирургическом лечении 100 больных с гистологически подтвержденным светлоклеточным вариантом рака почки (локальный рак

($T_{1-2}N_0M_0$) – $n=50$ и генерализованный ($T_{3-4}N_0M_1$) – $n=50$). Средний возраст больных составил $57,8 \pm 7,9$ лет. Содержание ростовых факторов определяли методом ИФА с использованием стандартных тест-систем (BenderMedSystem Австрия, R&D System США).

Результаты. Проведен сравнительный анализ содержания VEGF-D, VEGF-A, растворимого рецептора sVEGF-R1 в тканях почки при локальном и генерализованном светлоклеточном раке почки. Уровень VEGF-A в ткани опухоли локального рака почки по сравнению со значениями в условно интактной ткани был ниже на 31 % ($p<0,05$), а уровень растворимого рецептора – sVEGF-R1 на 45 % ($p<0,05$). В ткани опухоли при генерализованном раке почки была выявлена гиперэкспрессия ангиогенного фактора роста VEGF-A, что в 2,8 раза превышало соответствующие значения в условно интактной ткани. При этом отмечалось подавление блокатора ангиогенеза sVEGF-R1 на 61,7 %. Уровень VEGF-D в ткани опухоли при локальном и генерализованном раке почки во всех исследуемых тканях не претерпевал статистически значимых изменений.

Выводы. В ходе работы выявлено, что при раке почки лимфогенный путь распространения и развития опухоли не является доминирующим и что путь метастазирования через лимфатическую систему не активен. Генерализация рака почки сопровождается гиперактивацией VEGF-A и угнетением растворимой формы рецептора sVEGF-R1.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ljungberg B., Bensalah K., Bex A., Canfield S., Dabestani S., Hofmann F., Hora M., Kuczyk M.A., Lam T., Marconi L., Merseburger A.S., Mulders P.F.A., Powles T., Staehler M., Volpe A. Рекомендации Европейской ассоциации урологов 2014 г. Почечно-клеточный рак. Методические рекомендации. РМЖ. 2014; 17: 1218–1233.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России. 2017. 250.
3. Герштейн Е.С., Колпаков А.В., Бежанова С.Д., Морозов А.А., Алферов А.А., Огнерубов Н.А., Казанцева И.А., Кушлинский Н.Е. Маркеры ангиогенеза в сыворотке крови больных раком почки. Вестник ТГУ. 2017; 22(2): 289–296.
4. Кушлинский Н.Е., Красильникова М.А. Биологические маркеры опухолей: фундаментальные и клинические исследования. М. Изд-во РАМН. 2017; 634.
5. Киселева Е.П., Крылов А.В., Старикова Э.А., Кузнецова С.А. Фактор роста сосудистого эндотелия и иммунная система. Успехи современной биологии. 2009; 129(4): 336–347.
6. Кит О.И., Франциянц Е.М., Димитриади С.Н., Шевченко А.Н., Каплиева И.В., Трипатаки Л.К. Экспрессия маркеров неопластического и фибринолитического системы в динамике экспериментальной ишемии почки у крыс. Экспериментальная и клиническая урология. 2015; 1: 20–23.
7. Хоченкова Ю.А., Чадау Г.З., Маливанова Т.Ф., Степанова Е.В. VEGF и противоопухолевый иммунитет. Иммунология. 2013; 3: 172–175.
8. Тырсица Е.Г., Никулицкий С.И. Роль регуляторной VEGF/VEGF-R1 – системы в опухолевом ангиогенезе (обзор литературы). Онкогинекология. 2015; 4: 4–12.
9. Повецко А.Ф., Коненков В.И. Механизмы и факторы ангиогенеза. Успехи физиологических наук. 2010; 41(2): 68–89.
10. Нефедова Н.А., Давыдова С.Ю. Роль сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и гипоксия-индуцибельного фактора (HIF) в опухолевом ангиогенезе. Современные проблемы науки и образования: электронный научный журнал. 2015; 3. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=17924> (дата обращения 19.10.2017).
11. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Усынин Е.А., Винтизенко С.И. Регуляция ангиогенеза при злокачественных новообразованиях почки и мочевого пузыря. Сибирский онкологический журнал. 2008; 4(28): 65–70.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЗАПАЯННЫХ СТЕРИЛЬНЫХ КАТЕТЕРОВ ПРИ *IN VIVO* ТЕРМОМЕТРИИ СЕАНСОВ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

К.А. Бухарова¹, А.А. Красных¹, И.А. Милойчикова^{1,2}, Н.Д. Тургунова^{1,2},
Ю.М. Черепенников¹, Чинь Ван Хиен¹, С.Г. Стучебров¹

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»,
г. Томск, Россия¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

В работе представлено исследование эффективности применения запаянных стерильных катетеров при *in vivo* термометрии сеансов локальной гипертермии. Приведены экспериментальные данные результатов измерений температуры, полученные с использованием подключичных и венозных катетеров.

Ключевые слова: локальная гипертермия, *in vivo* термометрия, катетер.

A STUDY OF THE EFFICIENCY OF SEALED STERILE CATHETERS APPLICATION FOR *IN VIVO* THERMOMETRY OF LOCAL HYPERTHERMIA SESSIONS

K.A. Bukharova¹, A.A. Krasnykh¹, I.A. Miloichikova^{1,2}, N.D. Turgunova^{1,2},
Yu.M. Cherepennikov¹, Trinh Van Hien¹, S.G. Stuchebrov¹

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

The paper presents a study of the efficiency of sterile catheters application for *in-vivo* thermometry of hyperthermia sessions. Experimental results of temperature measurements obtained using subclavian and venous catheters are shown.

Keywords: local hyperthermia, *in-vivo* thermometry, catheter.

Введение. Гипертермия является одним из наиболее распространенных универсальных радиомодификаторов [1, 2]. Сочетание локальной гипертермии с лучевой терапией позволяет повысить эффективность лечения радиорезистентных опухолей [1]. Мониторинг тепловой дозы, доставляемой в опухоль, имеет решающее значение для оценки качества лечения. Европейское общество гипертермической онкологии рекомендует размещать, по меньшей мере, один датчик внутри новообразования, что ведет к необходимости его стерилизации [3]. При этом агрессивная стерилизационная среда может повлиять на качество измерения и срок службы температурного датчика. Вопрос разработки способа проведения *in vivo* термометрии с минимизацией воздействия агрессивных сред на датчик остается актуальным. Решением может стать применение стандартных стерильных катетеров. Однако необходимо исследовать влияние катетеров на точность измерения температуры.

Целью работы стала оценка эффективности применения запаянных стерильных катетеров при *in-vivo* термометрии сеансов локальной гипертермии.

Материал и методы. С учетом рекомендаций Европейского общества гипертермической онкологии для проведения измерений был создан тканеэквивалентный фантом на базе геля АГАР-АГАР, моделирующий электрические свойства мышечной ткани [2, 4]. Нагрев фантома проводился на аппарате Celsius TCS – системе для глубокой гипертермии, в которой для передачи энергии используется принцип ёмкостного сопряжения в электромагнитном поле частотой 13,56 МГц. Для контроля температуры использовалась предварительно откалиброванная 4-канальная система термометрии Celsius TempSens [4]. Во избежание контакта нестерильного температурного датчика с тканями дополнительно проводилась запайка медицинских катетеров. В таблице представлены характеристики исследуемых катетеров.

Таблица

Характеристики используемых катетеров

	Подключичные катетеры		Венозные катетеры	
	Certofix Mono 420 14 G	«Синтез»	Vasofix Certo 16 G	Vasofix Certo 18 G
Материал	Полиуретан	ПВХ	ПВХ	Полиуретан
Внутренний диаметр, мм	1,4	0,6	1,7	1,3
Длина, мм	200	150	50	45

В ходе эксперимента катетеры, внутри которых находились температурные датчики прибора TempSens, располагались в центре фантома таким образом, чтобы точка измерения совпадала с положением контрольного датчика №1, зафиксированного в фантоме без катетера.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 представлены результаты измерений температуры, полученные с использованием подключичных и венозных катетеров.

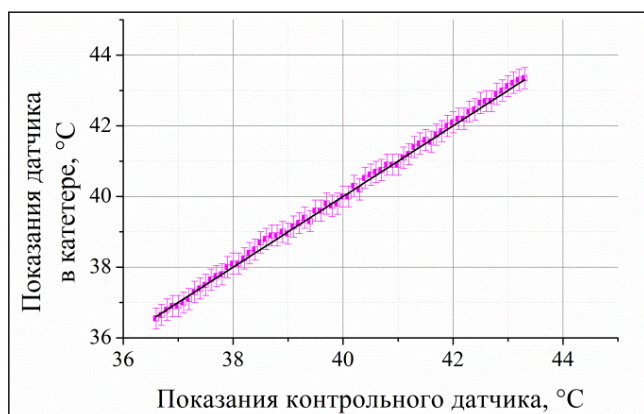
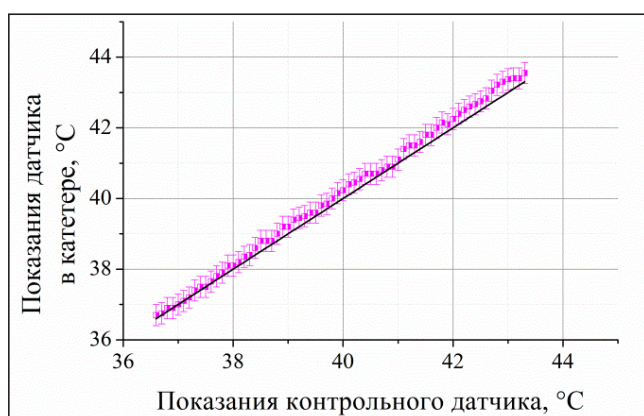
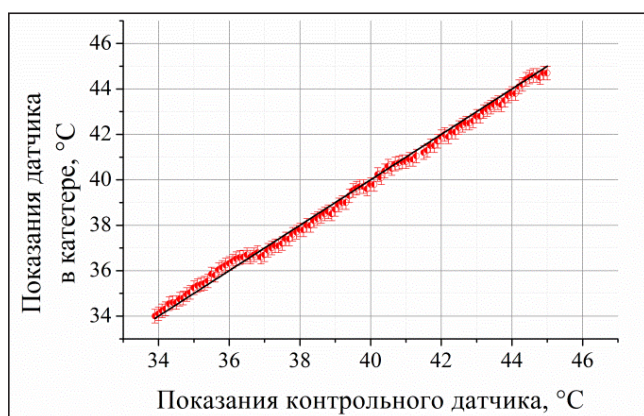
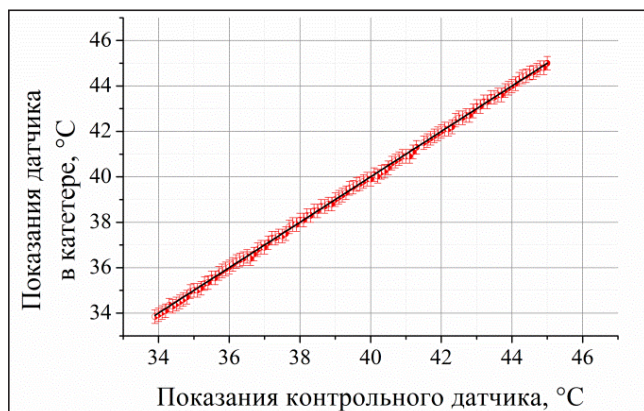


Рис. 1. Результаты измерений температуры, полученные с использованием контрольного датчика (черная линия) и с применением катетеров (цветные точки):
а – Certofix Mono 420 14 G,
б – «Синтез»,
в – Vasofix Certo 16 G,
г – Vasofix Certo 18 G

Среднее отклонение показаний температурных датчиков, расположенных во всех катетерах, от контрольных измерений составило $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$, что находится в пределах погрешности прибора заявленной производителем $\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ [4]. Однако результаты, полученные с катетерами Certofix Mono 420 14 G и Vasofix Certo 18 G, показали большее согласие с контрольными данными, что делает их использование при проведении сеансов *in vivo* термометрии более целесообразным. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о работоспособности предложенного метода размещения температурного датчика внутри предварительно помещенного в опухоль запаянного стерильного катетера.

Заключение. В рамках данного исследования показана эффективность применения запаянных стерильных катетеров при *in vivo* термометрии сеансов локальной гипертермии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ярмоненко С.П., Конопляников А.Г., Вайнсон А.А. Клиническая радиобиология. Москва: Медицина, 1992. 296.
2. Чойнзонов Е.Л., Рябова А.И., Милойчикова И.А., Тургунова Н.Д., Грибова О.В., Старцева Ж.А., Новиков В.А., Васильев Р.В., Красных А.А., Черепенников Ю.М., Стучебров С.Г. Измерение температурного поля в фантоме головного мозга с имитацией глиобластомы при транскраниальной высокочастотной гипертермии. Медицинская техника. 2017; 5: 3437.
3. Bruggmoser G., Bauchowitz S., Canters R., Crezee H., Ehmann M., Gellermann J., Lamprecht U., Lomax N., Messmer M.B., Ott O., Abdel-Rahman S., Schmidt M., Sauer R., Thomsen A., Wessalowski R., van Rhoon G. Guideline for the clinical application, documentation and analysis of clinical studies for regional deep hyperthermia. Strahlentherapie und Onkologie. 2012; 188(2): 198211.
4. Sahinbas H., Rosch M., Demiray M. Temperature measurements in a capacitive system of deep loco-regional hyperthermia. Electromagnetic biology and medicine. 2017; 36(3): 248258.

ТРОМБОЦИТОЗЫ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ТАЗОВОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

Е.А. Быкова^{1,2}, М.В. Полуэктова²

Институт атомной энергетики – филиал ФГАОУ ВПО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», медицинский факультет, г. Обнинск, Россия¹

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия²

Аннотация

Проведено лабораторно-клиническое обследование 200 пациентов (рак прямой кишки – 100, рак тела матки – 50, шейки матки – 50), прошедших комбинированное лечение в 2015–2017 гг. в клинике МРНЦ им. Цыба. Группу контроля составили 100 здоровых лиц. Показано, что у больных раком тазовой локализации количество тромбоцитов до лечения статистически значимо выше, чем у здоровых лиц ($p \leq 0,01$). Результаты анализа показали, что тромбоцитозы (свыше 400 Гига/л) у больных раком шейки матки встречаются в 50 % от числа обследованных, у больных раком прямой кишки – 40–42 %, в группе рака тела матки – 16 %. Больные с тромбоцитозами, по данным нашего исследования, отличаются принадлежностью к возрастной категории старше 50 лет, клинической стадии опухоли Т3–Т4. Сравнительный анализ лабораторных показателей с клиническими характеристиками опухолевого процесса, а именно с наличием осложнений, связанных с прогрессированием основного заболевания, показал четкую зависимость частоты осложнений с количеством тромбоцитов в крови больного. У больных с тромбоцитозами осложненное течение заболевания (метастазы, рецидивы, продолженный рост) отмечены в группах рака шейки матки у 46 % обследованных, рака прямой кишки – до 40 %, рака тела матки – до 16 %. У пациентов без тромбоцитоза такие осложнения отмечены в единичных случаях. Таким образом, тромбоцитозы у больных раком тазовой локализации могут служить реальным критерием неблагоприятного прогноза.

Ключевые слова: онкология, рак прямой кишки, рак тела и шейки матки, лабораторная диагностика, тромбоциты, тромбоцитозы, осложнения, комбинированное лечение.

THROMBOCYTOSIS IN PELVIC CANCER PATIENTS

Е.А. Bykova^{1,2}, M.V. Poluektova²

Institute of Atomic Energy – Branch of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «National Nuclear Research University MEPhI», Medical Faculty, Obninsk, Russia¹
A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of the Federal State Budget Institution «National Medical Research Center of Radiology» of the Health Ministry of the Russian Federation, Obninsk, Russia²

Abstract

A laboratory-clinical survey of 200 patients (cancer of the rectum – 100, cancer of the uterus body – 50, cervix – 50), passed a combined treatment in 2015-2017gg. in the clinic of the A.F.Tsyb MRRC. The control group consisted of 100 healthy individuals. It was shown that in patients with pelvic cancers the number of platelets before treatment is statistically significantly higher than in healthy individuals ($p \leq 0.01$). The results of the analysis showed that thrombocytosis (more than 400 G/L) in the cervical cancer group is found in 50 % of patients examined, in the rectal cancer group – 40–42 %, in the uterine body cancer group – 16 %. Patients with thrombocytosis, according to our study, differ in their membership in the age group over 50, the clinical stage of the tumor T3-T4. Comparative analysis of laboratory indicators with clinical characteristics of the tumor process, namely, the presence of complications associated with the progression of the underlying disease, showed a clear dependence of the incidence of complications with the number of platelets in the patient's blood. In patients with thrombocytosis, a complicated course of the disease (metastases, relapses, continued growth) was noted in the cervical cancer groups in 46 % of the examined, rectal cancer – up to 42 %, cancer of the uterus – up to 16 %. In patients without thrombocytosis, such complications are noted in isolated cases. Thus, thrombocytosis in patients with pelvic cancers can serve as a real criterion for adverse prognosis.

Keywords: oncology, colorectal cancer, cancer of the body and cervix, laboratory diagnostics, platelets, thrombocytosis, complications, combined treatment.

Актуальность. Современные достижения клинической онкологии, внедрение в практику противоопухолевой терапии новых высокотехнологичных программ лечения, в том числе расширенных оперативных вмешательств, требует особого внимания к изучению диагностических и прогностических возможностей лабораторных показателей. В первую очередь это касается исследования опухоль-индуцированных тромбоцитозов у больных тяжелыми формами рака тазовой локализации. Как известно, колоректальный и гинекологический рак имеют тенденцию к росту заболеваемости, характеризуются высокой агрессивностью опухолевого процесса [1], склонностью к взаимному проникновению, метастазированию и другим проявлениям прогрессирования. При этом при оперативном лечении рака данной локализации, например при эвисцерации органов малого таза, наблюдаются такие тяжелые осложнения, как сепсис. Согласно современным данным зарубежных исследователей, тромбоциты у больных злокачественными новообразованиями не только и не столько принимают участие в обеспечении гемостаза, но и имеют еще целый ряд уникальных, присущих только онкологии, функций. Благодаря сложному многогранному взаимовлиянию опухоли и тромбоцитов происходит стимуляция тромбоцитогенеза в костном мозге, формируется паранеопластический синдром с тромбоцитозом [2–4]. Как было показано нами, тромбоцитозы, сопровождающие рак, отличаются повышенной адгезивной активностью тромбоцитов [5]. При этом опухоль приобретает потенциальную возможность к метастазированию, местному распространению, рецидивированию.

Материал и методы. Исследованы ретроспективно с использованием лабораторной информационно-системы (ЛИМС) лабораторные и клинические данные 200 больных раком (150 женщин и 50 мужчин), прошедших комбинированное противоопухолевое лечение в клинике МРНЦ им. А.Ф. Цыба в 2015–2017 гг., и 100 здоровых лиц. Обследованы больные раком прямой кишки (50 женщин РПКЖ, 50 мужчин РПКМ), рак шейки матки (РШМ) – 50 больных, рак тела матки (РТМ) – 50 больных. Возраст больных: медиана 58 лет (мин. 27, макс. 78). Исследованы показатели тромбоцитарного звена (число тромбоцитов, средний и общий объем тромбоцитов). Использован современный гематологический анализатор марки BECKMAN COULTER Unicel DxH 800.

Результаты. Таким образом, показано, что различия в содержании тромбоцитов в крови больных по сравнению со здоровыми лицами статистически значимы. При этом наиболее выражены тромбоцитозы у больных РПКЖ и РШМ, в процессе комбинированного лечения количество тромбоцитов у этих же больных достигает своих максимальных значений. Для сравнительного анализа лабораторных и клинических показателей в зависимости от локализации опухоли, нами ранее были разработаны критерии риска осложненного течения заболевания [6]. Выделены 3 степени риска: в группу низкого риска отнесены больные с нормальными показателями тромбоцитарного звена, умеренный риск признан при значениях тромбоцитов от 250 до 400 Гига/л, и больные со значениями тромбоцитов свыше 400 Гига/л отнесены в группу высокого риска прогрессирования основного заболевания и осложненного течения послеоперационного периода. Анализ результатов показал, что третья группа риска,

которая заслуживает особого внимания клиницистов, составляет в группе РШМ – 50 % от общего числа больных данной локализации, 40 % и 32 % при РПК у женщин и мужчин, 16 % у больных РТМ. Как правило, в 3-й группе риска преобладают пациенты в возрасте старше 50 лет, имеющие гистологическую форму опухоли (РПК, РТМ) «аденокарцинома G2-3» или «плоскоклеточный рак без ороговения» (РШМ) и относящиеся к Т3–Т4 клинической стадии процесса. Наибольший интерес для практической онкологии представляют лабораторные показатели, которые можно использовать для ранней диагностики и прогнозирования осложнений, связанных с прогрессированием основного заболевания. Мы проанализировали связь между наличием таких осложнений, как продолженный рост опухоли, местное распространение, взаимное прорастание опухолей тазовой локализации, метастазирование и рецидивирование с принадлежностью больных к той или иной группе риска. Оказалось, что в группе высокого риска больные с осложненным течением процесса (метастазы, продолженный рост, рецидивы и т.п.) среди пациентов РШМ составляют 46 %, РПКЖ – 38 %, РПКМ – 32 % и РТМ – 14 % от числа больных данной локализации.

Выводы. 1. Паранеопластические тромбоцитозы у больных раком тазовой локализации встречаются в 50 % (РШМ), 40–32 % (РПК), 16 % (РТМ) от числа больных данной локализации. 2. Тромбоцитозы ассоциированы с возрастом больных (старше 50 лет), Т3–Т4 клинической стадией опухоли, гистологической формой рака высокой злокачественности. 3. Тромбоцитозы у больных раком являются реальным фактором неблагоприятного прогноза, так как больные с осложненным течением основного заболевания в виде прогрессирования (метастазы, продолженный рост, рецидивы и т. п.) характеризуются повышенным содержанием тромбоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприна А.Д., Старинского В.В., Петровой Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена-филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. 250 с.
2. Li N. Platelets in cancer metastasis: To help the “villain” to do evil. International Journal of Cancer. 2016; 138: 2078–87.
3. Stone R.L., Nick A.M., McNeish I.A., Balkwill F., Han H.D., Bottsford-Miller J., Rupaimoole R., Armaiz-Pena G.N., Pecot C.V., Coward J., Deavers M.T., Vasquez H.G., Urbauer D., Landen C.N., Hu W., Gershenson H., Matsuo K., Shahzad M.M., King E.R., Tekedereli I., Ozpolat B., Ahn E.H., Bond V.K., Wang R., Drew A.F., Gushiken F., Lamkin D., Collins K., DeGeest K., Lutgendorf S.K., Chiu W., Lopez-Berestein G., Afshar-Kharghan V., Sood A.K. Paraneoplastic thrombocytosis in ovarian cancer. The New England Journal of Medicine. 2012; 366: 610–618.
4. Chen Y., Zhang L., Liu X-Y. Prognostic significance of preoperative anemia, leukocytosis and thrombocytosis in ch. Women with epithelial ov. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2015; 16(3): 933–939.
5. Архипова Е.А., Полуэктова М.В., Глебова С.Е., Михальская Т.Ю., Панферова Т.А. Морфо-функциональные особенности тромбоцитов у больных злокачественными новообразованиями. Перспективные направления в онкологии и радиологии: материалы конференции молодых ученых, посвященных памяти академика А.Ф. Цыба. Обнинск: ФГБУ «ВНИИГМИ-МЦД», 2016. 182–185.
6. Полуэктова М.В., Глебова С.Е., Михальская Т.Ю., Панферова Т.А., Архипова Е.А. Особенности тромбоцитарного и плазменных звеньев гемостаза у больных онкологическими заболеваниями. Материалы 3-го Всемирного Конгресса и 8-й Всероссийской конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии. Тромбоз, гемостаз и реология. 2016; 3(Приложение 1): 335–336.

УСИЛЕНИЕ ЭФФЕКТА 5-ФТОРУРАЦИЛА ПРИ СОЧЕТАННОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ С УЛЬТРАЗВУКОМ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ЛИНИИ HELA

Н.Г. Васильченко¹, Д.С. Потемкин², Е.М. Франциянц², Л.Я. Розенко²,
Д.И. Водолажский²

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону, Россия¹

Федеральное государственное бюджетное учреждение Ростовский научно-исследовательский онкологический институт Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Россия²

Аннотация

Подбор оптимальных условий и дозировок использования химиотерапевтических препаратов является актуальной проблемой в онкологии. Основная проблема заключается в повышении эффективности воздействия препаратов на опухолевую ткань и минимизации токсичного воздействия на здоровые органы и ткани. В данном исследовании нами была изучена возможность усиления противоопухолевого действия 5-фторурацила с помощью ультразвукового воздействия в модельных условиях на клетки HeLa.

Ключевые слова: 5-фторурацил, ультразвук, HeLa.

STRENGTHENING OF EFFECT OF A 5-FLUOROURACIL AT THE COMBINED USE WITH ULTRASOUND ON THE CELL'S CULTURE OF THE HELA LINE

N.G. Vasilchenko¹, D.S. Potemkin², E.M. Frantsiyants², L.Y. Rozenko²,
D.I. Vodolazhsky²

Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia¹
Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia²

Abstract

Today selection of optimum conditions and dosages of use of chemotherapeutic drugs is a current problem in an oncology. The main complexity consists in increase in effectiveness of impact of drugs on tumors cell's and minimization of toxic impact on healthy organ's and tissue's. In this research we studied a possibility of strengthening of antitumor effect of a 5- fluorouracil by means of low-intensity influence by ultrasound on HeLa cell's.

Keywords: 5-fluorouracil, ultrasound, HeLa.

Введение. Химиотерапия опухолевых заболеваний – актуальная проблема онкологии. В первую очередь эта проблема решается при подборе лекарственного препарата, а во-вторых, – подбором способов доставки лекарственных средств в опухолевые клетки. В рамках решения данной задачи главной целью нашего исследования было изучение возможности усиления цитотоксического эффекта на опухолевые клетки при сочетанном влиянии 5-фторурацила (5ФУ) и ультразвука (УЗ) в модельных условиях на клетках линии HeLa.

5ФУ является цитотоксическим агентом, который ингибирует процесс деления клеток путём блокирования синтеза ДНК и образования структурно несовершенной РНК [1,2].

В ряде работ было продемонстрировано усиление противоопухолевой активности при сочетанном использовании УЗИ и 5ФУ. Так, в одной из работ у самцов мышей, несущих асцитную опухоль Эрлиха, комбинация 5-ФУ с ультразвуком (0,8 МГц) вызвала значительное усиление противоопухолевой активности [2]. В другой работе использование ультразвука низкой интенсивности (1,1 МГц, 1,0 Вт/см²) значительно улучшало поглощение 5-ФУ клетками, а также 5-ФУ-опосредованное повреждение ДНК и образование активных форм кислорода. Вследствие этих процессов происходила активация апоптоз-ассоциированных белков [3].

Материал и методы. Культивирование клеток проводилось в питательной среде RPMI-1640 (Биолот, Россия) с добавлением 10 % фетальной телячьей сыворотки (Thermo Scientific Nyclone, США), при концентрации гентамицина 50 мкг/мл (Биолот, Россия) в условиях контролируемого 5 % CO₂ и 95 % влажности при 37 °С в мультигазовом инкубаторе СВ 150 ("Binder", Германия). Для эксперимента использовались 12-луночные планшеты. Для воздействия на клетки ультразвукового излучения использовался аппарат для УЗ терапии УЗТ-1-ОЗУ (Россия) с частотой ультразвуковых колебаний 0,88 МГц. Клетки засеивались в 12-луночные планшеты в количестве 300 000 клеток на 3 мл питательной среды. После достижения клетками 70 % уровня конфлюэнтности производили обработку исследуемыми агентами: УЗ, 5ФУ и сочетанное воздействие УЗ и 5ФУ. Подсчет общего количества клеток и анализ соотношения живых и мертвых клеток проводился в камере Горяева с использованием 0,4 % раствора красителя трипанового синего в соотношении 1:1.

Всего было 4 экспериментальные группы: контроль (без какой-либо обработки), обработка только УЗ (0,2 Вт/см², в течение 10 мин), обработка только 5-ФУ (0,7 мкМ 5-ФУ на 1 мл среды) и сочетанное воздействие (УЗИ и 5-ФУ). Время инкубации после обработки УЗИ и 5-ФУ составляло 24 ч. Снятие клеток осуществлялось с помощью раствора Трипсин – Версена. Подсчет проводился в камере Горяева, с окрашиванием клеток трипановым синим 1:1.

Результаты и обсуждение. В ходе эксперимента при сочетанном воздействии 5-ФУ и ультразвуковым излучением процент мертвых клеток составил 28 %, тогда как в группе, обработанной только 5-ФУ, – 12 %, а при воздействии только УЗИ в указанном режиме воздействия – 8 %. В контрольных пробах смертность клеток составляла 2 % (таблица).

Таблица

Влияние различных факторов, а также их синергии на процентное соотношение количества мертвых и живых клеток культуры HeLa

Вариант опыта	σ_x (средние арифметические)				
	Количество живых клеток	Количество мертвых клеток	Общее количество клеток	% живых клеток	% мертвых клеток
Показатели состояния клеток					
5- ФУ	1 155 000	132 000	1 287 000	89,00 %	12,00 %
10 мин УЗ	1 683 000	132 000	1 815 000	92,50 %	7,50 %
10 мин /0,2+ 0,7 мкМ 5 ФУ	825 000	231 000	1 056 000	72,50 %	27,50 %
Контроль	3 036 000	66 000	3 102 000	98,00 %	2,00 %

Различия с контролем достоверны при $p < 0,05$.

Выводы. В нашей работе было выявлено, что при сочетанном воздействии 5-ФУ и УЗИ удастся достичь выраженный цитотоксический эффект: по сравнению с контрольными показателями количество мертвых клеток при сочетанном использовании 5ФУ и УЗ увеличивается более чем в 2 раза. Представленные данные позволяют сделать вывод о перспективности совместной терапии, основанной на сочетанном применении 5-ФУ с УЗИ при лечении онкологических заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dowsett M., Archer C., Assersohn L., Gregory R.K., Ellis P.A., Salter J., Chang J., Mainwaring P., Boeddinghaus I., Johnston S.R., Powles T.J., Smith I.E. Clinical studies of apoptosis and proliferation in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 1999; 6: 25–28.
2. Mohamed M.M., Mohamed M.A., Fikry N.M. Enhancement of antitumor effects of 5-fluorouracil combined with ultrasound on Ehrlich ascites tumor in vivo. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1635–1643.
3. Hu Z., Lv G., Li Y., Li E., Li H., Zhou Q., Yang B., Cao W. Enhancement of anti-tumor effects of 5-fluorouracil on hepatocellular carcinoma by low-intensity ultrasound. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2016; 35(1): 71.

ПЕРВЫЙ ОПЫТ КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАДИОФАРМПРЕПАРАТА ^{99m}ТС-1-ТИО-D-ГЛЮКОЗЫ В ДИАГНОСТИКЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Р.Ю. Вернадский, Р.В. Зельчан

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В рамках клинической апробации на этапе обследования тринадцати пациенткам с верифицированным раком молочной железы была проведена маммосцинтиграфия методом ОФЭКТ с ^{99m}ТС-1-тио-D-глюкозой. Чувствительность метода в обнаружении первичного очага составила 83,3 %, а при детекции пораженных лимфоузлов – 100 %. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования нового радиофармпрепарата на этапах диагностики рака молочной железы с целью оценки распространенности опухолевого процесса.

Ключевые слова: рак молочной железы, молекулярная визуализация, маммосцинтиграфия, радиофармпрепарат, технеций-99m, тио-D-глюкоза.

THE CLINICAL STUDY OF USE ^{99m} TC-1-THIO-D-GLUCOSE IN THE DIAGNOSIS OF BREAST CANCER – THE FIRST EXPERIENCE

R.Yu. Vernadsky, R.V. Zelchan

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

For the clinical validation of new radiopharmaceutical thirteen patients with verified breast cancer underwent mammoscintigraphy with ^{99m}Tc -1-thio-D-glucose. The sensitivity of the method in detection of the primary tumor was 83.3 % and in detection of the affected lymph nodes – 100 %. The obtained data show the expediency of using a new radiopharmaceutical for diagnosis and staging of breast cancer.

Keywords: Breast cancer, molecular imaging, scintimammography, radiopharmaceutical, Technetium-99m, thio-D-glucose.

Актуальность. Рак молочной железы (РМЖ) является одной из наиболее значимых проблем онкологии и занимает лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности у женщин. За 2012 год в мире диагностировано около 1,7 млн новых случаев [1]. В России ежегодно регистрируется более 67 000 новых случаев РМЖ [2]. Все более востребованными в диагностике рака молочной железы становятся различные методы молекулярной визуализации, такие как маммосцинтиграфия и позитронно-эмиссионная томография [3]. Несмотря на высокую диагностическую информативность позитронно-эмиссионного сканирования, широкое применение метода ограничено высокой стоимостью. Учитывая доступность сцинтиграфического оборудования в нашей стране (более 200 радиодиагностических подразделений, оснащенных гамма-камерами), весьма перспективной для практической онкологии является разработка туморотропных радиофармпрепаратов (РФП) на основе ^{99m}Tc . Одним из таких РФП является « ^{99m}Tc -1-тио-D-глюкоза», разработка которого проведена в Томском НИИ онкологии совместно с Томским политехническим университетом [4]. На основании полученных результатов доказана функциональная пригодность радиофармпрепарата для визуализации злокачественных новообразований. Был проведен комплекс доклинического исследования общих и специфических видов токсичности. Показано, что радиофармпрепарат не обладает токсичностью, кумулятивностью, аллергизирующими свойствами [5]. Исходя из вышеизложенного, перспективным является клиническое изучение диагностических возможностей сцинтиграфического исследования с использованием нового РФП на основе меченного технецием-99m производного глюкозы у больных раком молочной железы.

Материал и методы. В рамках клинической апробации нового радиофармпрепарата в исследовании приняли участие 13 пациентов с верифицированным раком молочной железы. Для оценки местной распространенности опухолевого процесса выполнялись ультразвуковое исследование молочных желез и зон лимфооттока, цифровая рентгеновская маммография и маммосцинтиграфия с использованием РФП ^{99m}Tc -1-тио-D-глюкозы. Ранние стадии (0–IIa) были выявлены у 7 пациентов (54 %), при этом опухоли менее 2 см наблюдались у 4 больных. Опухолевый процесс с вовлечением регионарных лимфоузлов зарегистрирован у 4 пациентов (30,8 %). Клинико-морфологические характеристики опухолевого процесса представлены в таблице.

Таблица

Клинико-морфологические характеристики

Характеристика	Число больных (%)
Размер опухоли $\leq 2 \text{ см} \geq 2 \text{ см}$	4 (30,8) 9 (69,2)
Категория Т	
T_x (окулярное течение)	
T1	1 (7,6)
T2	4 (30,8)
T4	4 (30,8)
Категория N	4 (30,8)
N0	9 (69,2)
N1	2 (15,6)
N2	1 (7,6)
N3	1 (7,6)

Стадия (TNM):	
0	1 (7,6)
I	3 (23,2)
IIa	3 (23,2)
IIb	1 (7,6)
IIIa	1 (7,6)
IIIb	3 (23,2)
IIIc	1 (7,6)
Гистологический тип опухоли:	
Инвазивная карцинома неспецифического типа	12 (92,4)
Внутрипротоковая карцинома in situ	1 (7,6)
Молекулярно-генетический подтип опухоли:	
Люминальный B	5 (38,4)
Люминальный B Her2+	5 (38,4)
Her2+	2 (15,6)
Трижды-негативный	1 (7,6)

Всем пациенткам выполнялось внутривенное введение радиофармпрепарата в дозе 250–500 МБк в кубитальную вену, противоположную предполагаемой стороне поражения или в вену стопы. Однофотонную эмиссионную компьютерную томографию выполняли на гамма-камере E.CAM 180 фирмы “Siemens” (Германия) через 40–180 мин после инъекции. В ходе исследования пациент располагался на столе в положении «лежа на спине», в поле зрения детектора входила область грудной клетки. При исследовании использовались коллиматоры для энергии 140КэВ (низкоэнергетические). Производилась запись 64 кадров в 32 проекциях в матрицу 256×256 пикселей без аппаратного увеличения. Окно дифференциального дискриминатора составляло 20 %. Полученные данные обрабатывались посредством специализированной системы E.Soft фирмы «Siemens» (Германия). Полученные изображения аксиальных, сагиттальных и коронарных срезов описывались качественно с определением характера накопления РФП в области молочной железы, грудной клетки, аксиллярных и парастернальных зон. В случае обнаружения участков гиперфиксации радиофармпрепарата в проекции молочных желез или регионарных лимфоузлов регистрировалось наличие патологического очага. Для определения информативности метода результат исследования сравнивался с данными морфологического исследования биопсии либо операционного материала.

Результаты. При выполнении однофотонной эмиссионной компьютерной томографии первичная опухоль была выявлена у 10 из 13 пациентов. Среди трех пациентов с необнаруженной опухолью у двух пациенток очаг располагался ретроареоларно – в зоне физиологического накопления РФП, что, по-видимому, затрудняло визуализацию. У одной пациентки рутинными методами не было выявлено первичного очага, и опухолевый процесс носил оккультный характер с поражением аксиллярных лимфоузлов, однако при ОФЭКТ наблюдалось диффузное накопление РФП в молочной железе. Чувствительность метода в обнаружении первичного очага составила 83,3 %. У всех четырех пациенток с регионарными метастазами при выполнении ОФЭКТ было выявлено интенсивное накопление препарата в зонах лимфооттока. Таким образом, чувствительность метода в обнаружении регионарных метастазов составила 100 %.

Выводы. Новый РФП 99mTc-1-тио-D-глюкоза является перспективным туморотропным агентом для молекулярной визуализации. Учитывая данные, полученные на начальном этапе исследования, актуальным является продолжение клинической апробации препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015 Mar 1; 136(5): E35986. doi:10.1002/ijc.29210.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017.
3. Tafreshi N.K., Kumar V., Morse D.L., Gatenby R.A. Molecular and functional imaging of breast cancer. *Cancer Control*. 2010 Jul; 17(3): 14355.
4. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Скуридин В.С. Инновационные радиофармпрепараты для онкологии: разработки Томского национального исследовательского медицинского центра. Злокачественные опухоли. 2017; 7(3): 52–56.
5. Zeltchan R., Medvedeva A., Sinilkin I., Bragina O., Chernov V., Stasyuk E., Rogov A., Il'ina E., Skuridin V. Development and study of 99mTc-1-Thio-D-glucose for visualization of malignant tumors. *AIP Conference Proceedings*. 2017; 1882: 020083.

ФАКТОРЫ РИСКА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ПАЦИЕНТОК С МАСТОПАТИЕЙ И СНИЖЕНИЕ РИСКА С ПОМОЩЬЮ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ

Ю.Д. Вон¹, О.А. Гончарова²

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия¹
ГБУЗ «Ленинградский областной онкологический диспансер», г. Санкт-Петербург, Россия²

Аннотация

Проведено открытое рандомизированное, контролируемое, проспективное исследование фазы II по определению факторов риска рака молочной железы (РМЖ) у больных мастопатией и оценке эффективности патогенетического лекарственного лечения мастопатии. В исследование были набраны 100 больных позднего репродуктивного возраста, страдающих различными формами диффузной мастопатии. Практически у всех больных выявлены различные факторы риска РМЖ: генетические, репродуктивные, гормональные и обменные, нарушения питания. 49 больных получали лекарственный препарат «Мамоклам» по 1 таблетке 3 раза в течение 6 мес; 51 пациентка не получали лечения и вошли в контрольную группу. До лечения или наблюдения и через 6 мес у больных оценивали субъективные симптомы мастопатии, пальпаторные, эхографические и маммографические признаки доброкачественной патологии молочной железы (МЖ), показатели гормонального баланса. Мамоклам вызывал регрессию масталгии и предменструального напряжения МЖ, выделений из сосков, альгоменореи, полименореи, уплотнений в МЖ при пальпации, болезненности в МЖ при пальпации; по данным УЗИ уменьшал толщину железистой ткани в МЖ, вызывал регрессию расширенных протоков и кист; по данным маммографии снижал маммографическую плотность, вызывал регрессию узловых уплотнений и кистовидных образований в МЖ.

Ключевые слова: мастопатия, рак молочной железы, первичная профилактика, мамоклам.

BREAST CANCER RISK FACTORS IN PATIENTS WITH BENIGN BREAST DISEASE AND RISK REDUCTION BY PATHOGENETIC DRUG TREATMENT

J.D.Von¹, O.A. Goncharova²

«N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology» of Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia¹
Leningrad Regional Oncologic Dispensary, Saint-Petersburg, Russia²

Abstract

An open, randomized, controlled, prospective phase II study on the risk factors for breast cancer in patients with benign breast disease and evaluation of the effectiveness of pathogenetic drug treatment of benign breast disease was conducted. In the study were recruited 100 patients of late reproductive age suffering from various forms of diffuse benign breast disease. Almost all patients have various risk factors for breast cancer: genetic, reproductive, hormonal and metabolic, eating habits. 49 patients received the drug "Mamoklam" 1 tablet 3 times a day for 6 months; 51 patients were not treated and entered the control group. Before treatment or observation, and after 6 months, subjective symptoms of benign breast disease, palpatory, echographic and mammographic signs of benign breast pathology, hormonal balance parameters were evaluated in patients. Mamoclam caused a regression of mastalgia and premenstrual tension of the breast, nipple discharge, algomenorrhea, polymenorrhea, palpated breast lumps, pain in the breast during palpation; according to medical ultrasound, reduced the thickness of the glandular tissue in the breast, caused a regression of the dilated ducts and cysts; according to mammography data, reduced mammographic density, caused regression of nodal lumps and cyst formations in the breast.

Keywords: Benign breast disease, Breast cancer, Primary prevention, Mamoklam.

Доброкачественные заболевания МЖ – самая распространенная женская патология, которая встречается, по данным разных авторов, у 30–60 % всех женщин. Мастопатию рассматривают сегодня как один из факторов риска РМЖ, в то же время большинство из факторов риска РМЖ являются одновременно этиопатогенетическими факторами мастопатии. Риск РМЖ не повышается или является минимальным при непролиферативных формах мастопатии, при пролиферативных формах риск возрастает в 2 раза, при пролиферативной мастопатии с атипией – в 4 раза и достигает наиболее высоких цифр (до 12 раз) при протоковой или дольковой карциноме *in situ* [1]. Наблюдение за женщинами, страдающими мастопатией, и проведение патогенетического лечения направлены на первичную профилактику РМЖ. Для того чтобы добиться реальных успехов по снижению заболеваемости РМЖ, необходима большая работа по формированию групп риска из пациенток, страдающих мастопатией, более точная идентификация индивидуального риска и пожизненное проведение у данных пациенток профилактических мероприятий. **Цель исследования** – определение факторов риска РМЖ у больных мастопатией и оценка эффективности патогенетического лекарственного лечения.

Всего в исследование были взяты 104 пациентки, проведена рандомизация на две группы, до конца исследования прослежено 100 больных, из них 49 пациенток основной группы принимали лекарственный препарат «Мамоклам» (ЗАО «Мега Фарм», Москва) по 1 таблетке 3 раза в день в течение 6 мес и 51 пациентка контрольной группы не получали какого-либо лечения и находились под наблюдением. Основным действующим веществом мамоклама является органический связанный йод [2]. Эхографическое и маммографическое обследования молочных желез, исследование гормональных показателей проводились на 7–8-й день оварияльного цикла. Повторные обследования проводились через 6 мес после включения пациентки в исследование. Сравнивались результаты обследований у каждой пациентки до начала лечения (в основной группе) или наблюдения (в контрольной группе) и по окончании лечения или наблюдения. Сравнивались между собой опытная группа и контрольная группа. Статистическую обработку результатов проводили с помощью компьютерной программы STATISTICA стандартными статистическими методами с использованием критериев χ^2 , точного метода Фишера, критерия t (Стьюдента).

В таблице 1 представлены выявленные факторы риска РМЖ у больных мастопатией. Все пациентки имели факторы риска РМЖ: генетические, репродуктивные, гормональные и обменные, внешней среды. Практически у всех больных выявлены различные нарушения питания, повышающие риск РМЖ [3].

Таблица 1

Факторы риска рака молочной железы у больных мастопатией

Факторы риска		Группа	
		Мамоклам, n = 49	Контроль, n = 51
		Число больных с фактором риска	
Генетические	РМЖ у кровных родственников	13 (26,5 %)	9 (17,6 %)
	Рак яичников и тела матки у кровных родственников	1 (2 %)	1 (2 %)
Репродуктивные	Раннее менархе – ≤ 12 лет	11 (22,4 %)	14 (27,5 %)
	Отсутствие беременностей / родов	2 (4,1 %)	3 (5,9 %)
	Поздние первые роды – ≥ 30 лет	2 (4,1 %)	2 (3,9 %)
	Искусственные аборты	44 (89,8 %)	44 (86,3 %)
	Самопроизвольные аборты	4 (8,2 %)	3 (5,9 %)
	Не кормили или мало кормили грудью	17 (34,7 %)	15 (29,4 %)
	Секторальная резекция МЖ по поводу узлового образования	2 (4,1 %)	2 (3,9 %)
Гормональные и обменные	Продолжительность оварияльного цикла > 28 дней	20 (40,8 %)	18 (35,3 %)
	Дисменорея (месячные > 5 дней, болезненные, обильные)	40 (81,6 %)	41 (80,4 %)
	Нарушения менструального цикла в анамнезе	12 (24,5 %)	13 (25,5 %)
	Гинекологические заболевания: миома матки, эндометриоз, кисты яичников, хронический аднексит	16 (32,7 %)	19 (37,3 %)
	Лишний вес или ожирение: ИМТ ≥ 25	22 (44,9 %)	32 (62,7 %)
	Средний ИМТ у больных с его превышением	$29 \pm 2,2$	$28,5 \pm 2,4$

Нарушения питания	Избыток калорий и/или жира	14 (28,6 %)	18 (35,3 %)
	Избыток мясных продуктов	19 (38,8 %)	22 (43,1 %)
	Недостаток рыбы и морепродуктов	36 (73,5 %)	38 (74,5 %)
	Недостаток овощей и фруктов	39 (79,6 %)	44 (86,3 %)
	Низкое потребление бобовых овощей	44 (89,8 %)	48 (94,1 %)
	Низкое потребление крестоцветных овощей	23 (46,9 %)	25 (49 %)

Таблица 2 представляет анализ регресса симптомов и показателей инструментальных исследований у пациенток с мастопатией основной и контрольной группы через 6 мес после начала лечения или наблюдения. В результате лечения у большинства больных наблюдали регрессию субъективных и объективных симптомов мастопатии, эхографических и маммографических показателей доброкачественной патологии МЖ. В контрольной группе у части больных через 6 мес наблюдения также отмечена регрессия субъективных и объективных симптомов мастопатии, эхографических и маммографических показателей доброкачественной патологии МЖ, что, вероятно, связано с процессом инволюции МЖ у женщин позднего репродуктивного возраста. Однако лечебное действие мамоклама по всем параметрам статистически достоверно превышало спонтанную регрессию патологической симптоматики у больных контрольной группы.

Таблица 2

Динамика регресса симптомов и эхо- и маммографических показателей у больных мастопатией в сравниваемых группах

Патология, имевшаяся в начале исследования	Группа	
	Мамоклам, n = 49	Контроль, n = 51
	Число больных с регрессией патологии через 6 мес	
Масталгия	46 из 49 (93,9 %)* ¹	16 из 51 (31,4 %)
ПНМЖ	46 из 49 (93,9 %)* ¹	18 из 51 (35,3 %)
Выделения из сосков	4 из 5 (80 %)	4 из 6 (66,7 %)
Альгоменорея	33 из 35 (94,2 %)* ¹	10 из 39 (25,6 %)
Полименорея	18 из 26 (69,2 %)* ¹	9 из 22 (40,9 %)
Уплотнения в МЖ при пальпации	45 из 49 (91,8 %)* ¹	8 из 51 (15,7 %)
Болезненность МЖ при пальпации	41 из 44 (93,2 %)* ¹	15 из 41 (36,6 %)
Выделения из сосков при надавливании на околососковую область	5 из 6 (83,3 %)	5 из 6 (83,3 %)
Уменьшение толщины железистой ткани в МЖ	32 из 49 (65,3 %)* ¹	16 из 51 (31,4 %)
Расширенные протоки в ткани МЖ	28 из 45 (62,2 %)* ¹	10 из 38 (26,3 %)
Кисты в ткани МЖ	24 из 32 (75 %)* ¹	12 из 28 (42,9 %)
Узловые образования в ткани МЖ	6 из 11 (54,5 %)	4 из 9 (44,4 %)
Уменьшение объема плотных структур и/или степени рентгеновской плотности маммограмм	15 из 49 (30,6 %)* ¹	3 из 51 (5,9 %)
Узловые уплотнения и кистовидные образования в МЖ (по данным маммографии)	16 из 29 (55,2 %)* ¹	6 из 37 (16,2 %)

*¹ Разница с контрольной группой статистически достоверна, $p < 0,05-0,001$.

*² Разница с показателем до лечения статистически достоверна, $p < 0,05-0,001$.

Отдельно стоит отметить положительный эффект мамоклама на маммографическую плотность, являющуюся существенным фактором риска РМЖ. Увеличение маммографической плотности, независимо от других факторов риска, повышает риск развития РМЖ, а также пролиферативных форм мастопатии и предраковых изменений МЖ [1, 4]. Снижение маммографической плотности в результате лечения лекарственным препаратом «Мамоклам» свидетельствует о его потенциальной способности снижать риск РМЖ.

Практически у всех из 100 больных позднего репродуктивного возраста, страдающих мастопатией, выявлены различные факторы риска РМЖ: генетические, репродуктивные, гормональные и обменные, внешней среды и нарушения питания. Важной частью первичной профилактики РМЖ является определение индивидуальных рисков и патогенетическое лечение мастопатии. Лекарственный препарат «Мамоклам» проявил выраженное лечебное действие у больных мастопатией, в том числе по данным маммографии снижал маммографическую плотность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беспалов В.Г., Травина М.Л. Фиброзно-кистозная болезнь и риск рака молочной железы (обзор литературы). Опухоли женской репродуктивной системы. 2015; 11(4): 58–70. doi: 10.17650/1994-4098-2015-11-4-58-70.
2. Керцелаева С.Б., Сметник А.А., Беспалов В.Г. Мастопатия и профилактика рака молочной железы как междисциплинарная проблема. Русский медицинский журнал. 2016; 14: 56–63.
3. *Breast Cancer Prevention*. Health Professional Version. PDQ Cancer Information Summaries [Internet]. National Cancer Institute (US) [Интернет]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65884/> (дата обращения: 01.05.2018)
4. Беспалов В.Г., Негусторов Ю.Ф. Маммографическая плотность как критерий эффективности лечения мастопатии и снижения риска рака молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы. 2017; 13(2): 33–41. doi: 10.17650/1994-4098-2017-13-2-33-41

ПЕРИОПЕРАЦИОННАЯ ПРОФИЛАКТИКА РЕСПИРАТОРНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ОНКОПУЛЬМОНОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ

В.М. Гаркуша¹, А.Г. Кондауров², Н.А. Шефер²

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия¹

Областное государственное автономное учреждение здравоохранения «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия²

Аннотация

Представлен комплекс периоперационных мероприятий, направленных на профилактику респираторных осложнений, у пациентов после хирургического лечения рака легкого. Проанализированы результаты лечения 82 пациентов, которым выполнены анатомические резекции легких или пневмонэктомия на фоне проводимых профилактических мероприятий. Полученные данные позволяют сделать выводы о большой эффективности разработанного комплекса.

Ключевые слова: респираторные осложнения, профилактика, рак легкого.

PERIOPERATIVE PREVENTION OF RESPIRATORY COMPLICATIONS IN ONCOPULMONOLOGICAL PATIENTS

V.M. Garkusha¹, A.G. Kondaurv², N.A. Shefer²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia¹

State Regional Budget Health Care Institution «Tomsk Regional Oncology Center», Tomsk, Russia²

Abstract

A set of perioperative measures aimed at the prevention of respiratory complications in patients after surgical treatment of lung cancer is presented. The results of treatment of 82 patients who underwent anatomic resection of the lungs or pneumonectomy on the background of the preventive measures carried out were analyzed. The obtained data allow to draw conclusions about the great efficiency of the developed complex.

Keywords: Respiratory complications, prevention, lung cancer.

Актуальность. Ежегодно в мире регистрируется более 1 млн новых случаев рака легких, из них 58 % приходится на развитые страны [1]. Несмотря на развитие лучевых методов и появление новых поколений химиопрепаратов, операция остается основой комбинированного лечения и единственным способом радикального вмешательства у пациентов онкоторакального профиля. Особенностью всех онкологических пациентов является большая частота коморбидности, что повышает риск развития осложнений после обширных операций. Возникновение респираторных расстройств, среди висцеральных заболеваний в послеоперационном периоде составляет до 60 %, и связаны они, прежде всего, с поверхностным дыханием, угнетением кашлевого рефлекса, развитием ателектазов и пневмонии, что значительно ухудшает общий прогноз [2]. Для улучшения результатов хирургического лечения и снижения частоты респираторных осложнений, профессиональные сообщества

Европы и США разработали специальные рекомендации, затрагивающие периоперационную подготовку и ведение пациента [4, 5]. Однако в России единого подхода к периоперационному ведению онкоторакальных пациентов до сих пор не существует [2].

Материал и методы. Одноцентровое проспективное нерандомизированное исследование проведено в период с сентября 2016 по декабрь 2017 г. Проанализированы результаты лечения 82 пациентов с медианой возраста 64 года, которым выполнены анатомические резекции легких или пневмонэктомия по поводу рака легкого. Соотношение мужчин и женщин 53\29. Выполнены операции в объеме лоб-билобэктомии (n=54) и пневмонэктомии (n=28). Степень анестезиологического риска оценивали по шкале ASA: II (24), III(55), IV(3). Комплекс профилактических мероприятий включал три этапа. *Предоперационный этап.* Пациенту за трое суток, до запланированной операции назначали небулайзерную терапию с ингаляциями смеси растворов лазолван 1 мл, беродаул 1 мл и физ. раствор 0,9 % – 2 мл. Ингаляции выполнялись ежедневно, три раза сутки в течение 10 мин. За час до операции выполняли катетеризацию эпидурального пространства на уровне Th 4–5. Внутривенно вводили суточную дозу цефтриаксон. *Интраоперационный этап.* После выполнения основного этапа операции пациенту со стороны плевральной полости в области реберно-позвоночного и грудино-реберного сочленений, на уровне выполненной торакотомии, а также в выше и ниже расположенные межреберия вводили смесь препаратов, содержащую нарופן 0,2 % – 20 мл, лидазу 32 ЕД, цефтриаксон 1,0 мг. *Послеоперационный этап.* Сразу после экстубации выполняли санационную фибробронхоскопию с промыванием трахеобронхиального дерева раствором 0,9 % NaCl. На протяжении 48 ч после операции, через эпидуральный катетер при помощи инфузионной помпы вводили 0,2 % раствор нарпина со скоростью 2–4 мл/ч. С первых суток после операции продолжали небулайзерную терапию по той же схеме – 7 сут. Регионарное обезболивание при необходимости дополняют введением нестероидных противовоспалительных препаратов. Во всех случаях пациента активизировали через сутки после операции.

Результаты. Пациенты были информированы обо всех этапах хирургического лечения и периоперационной профилактике в письменном виде. Послеоперационные осложнения в срок до 30 сут после операции зарегистрированы у 7 (8,54 %) пациентов из 82. У пяти пациентов была зафиксирована длительная недостаточность аэростаза, купированная на фоне консервативного лечения. Умерло 3 (3,66 %) из 82 пациентов, и это было связано с внезапной коронарной смертью. Ни у одного из пациентов, получавших комплекс профилактических мероприятий, респираторных осложнений не зафиксировано. Медиана послеоперационного стационарного лечения составила 7 сут.

Благодаря применению у пациентов на предоперационном и послеоперационном этапах небулайзерной терапии с растворами муколитика и комбинированного бронхолитика, происходит улучшение дренажной функции дыхательных путей, уменьшается бронхоспазм и отек слизистой с улучшением микроциркуляции. В послеоперационном периоде главным фактором, приводящим к снижению респираторной функции, является острая послеоперационная боль. Использование эпидуральной анальгезии у пациентов торакального профиля фактически является золотым стандартом, но в комбинации с наркотическими анальгетиками [3]. Использование нами в комбинации с эпидуральной анальгезией внутривенных паравerteбральных и парастернальных блокад позволяет избежать назначения наркотических анальгетиков в раннем послеоперационном периоде. Благодаря непрямым лимфотропным свойствам полученной смеси препаратов нарпина, лидазы и цефтриаксона в тканях создается лекарственное депо, обеспечивающее адекватный блок на весь ранний послеоперационный период и улучшающее кашлевой рефлекс, а дозированное проникновение антибиотика в лимфатический регион легкого дополнительно снижает риск развития инфекционных осложнений. Одним из ключевых мероприятий раннего послеоперационного периода является санационная бронхоскопия. За время оперативного вмешательства в результате тракции и взятия ткани легкого и бронхов зажимами в трахеобронхиальное дерево выделяются слизистый секрет, а также сгустки крови. В результате чего на фоне послеоперационного снижения кашлевого рефлекса возникает риск обтурации вязким секретом и сгустками бронхиол здоровых участков легкого с развитием ателектазов и пневмонии. Промывание трахеобронхиального дерева после экстубации благоприятно отражается на состоянии пациента и снижает риск развития респираторных расстройств.

Выводы. Применение комплекса профилактических мероприятий показало свою безопасность и эффективность. Благодаря этапному подходу обеспечивается предупреждающая коррекция, позволяющая исключать как обострения имеющихся расстройств, так и развитие новых осложнений. а комплексный подход с воздействием на все этапы периоперационного

периода, в том числе с применением лимфотропных технологий, позволяет снизить риск развития респираторных осложнений и обеспечить благоприятный исход хирургического лечения рака легкого.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давыдов М.И. Атлас по онкологии: учебное пособие. Москва: МИА; 2008, 416с.
2. Петрова М.В., Харченко В.П. Защита онкологического больного от респираторных послеоперационных осложнений. Эффективная фармакотерапия. 2015; 12: 1821.
3. Тимербаев В.Х., Генов П.Г., Лесник В.Ю. Проблема обезболивания в торакальной хирургии и пути решения. Общая реаниматология. 2011; VII(5): 4656.
4. Merry A.F., Cooper J.B., Soyannwo O., Wilson I.H., Eichhorn J.H. International standards for a safe practice of anesthesia 2010. Can. J. Anaesth. 2010; 57(11): 1027–1034.
5. Membership of the Working Party: 1, Whitaker Chair D.K., Booth H., Clyburn P., Harrop-Griffiths W., Hosie H., Kilvington B., Macmahon M., Smedley P., Verma R.; Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland. Immediate post-anaesthesia recovery 2013: Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland. Anaesthesia. 2013; 68(3): 288–297.

АЛГОРИТМ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКОЙ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ТЕЛА МАТКИ

С.М. Гелбутовская, Б.А. Минько, В.Л. Винокуров, К.Г. Чам

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. Академика Гранова А.М.» МЗ РФ, г. Москва, Россия

Аннотация

Исследование посвящено изучению роли новых методик в ультразвуковой диагностике: соноэластографии и контрастно усиленному ультразвуковому исследованию в диагностике рака тела матки, разработке алгоритма последовательности ультразвуковых методик в мультипараметрической ультразвуковой диагностике при подозрении на рак тела матки.

Ключевые слова: рак тела матки, соноэластография, контрастно усиленное ультразвуковое исследование (КУУЗИ).

THE ALGORITHM OF ULTRASOUND IN MULTIPARAMETRIC ULTRASONIC DIAGNOSIS OF ENDOMETRIAL CANCER.

S.M. Gelbutovskay, B.A. Minko., V.L. Vinokurov, K.G. Cham

Russian research centre for radiology and surgical technologies by Granov A.M., Moscow, Russia

Abstract

The study is devoted to the study of the role of new techniques in ultrasound diagnosis: sonoelastography and contrast enhanced ultrasound in the diagnosis of uterine cancer. Development of an algorithm for the sequence of ultrasound techniques in multiparametric ultrasound diagnosis of suspected uterine cancer.

Keywords: uterine cancer, sonoelastography, contrast enhanced ultrasound of the pelvic organs (KUUSI).

Материал и методы. Проведено обследование 25 женщин с жалобами на менометроррагию и с подозрением на рак тела матки. Средний возраст пациенток составил $51,8 \pm 2,4$ года. В состоянии постменопаузы находились 11 (63 %) женщин. Все УЗИ выполнялись на УЗ-системе «Acuson-2000» и включали исследование трансабдоминальным и трансвагинальным доступами. Комплексным ультразвуковым методом с использованием В-режима, импульсного доплера, цветового и энергетического картирования, эластографии цветной и сдвиговой волны, контрастного усиления. Эластичность ткани оценивалась качественно по цветовому кодированию и количественно в килопаскалях. Количественную оценку упругости опухолевой ткани осуществляли путем установки метки (Q-box) в зону устойчивого сигнала картирования, выбирая наиболее жесткий по качественным характеристикам участок, и измеряли минимальное (min), среднее (mean) и максимальное (max) значения

упругости. Контрастно усиленное УЗИ проводилось с использованием контрастного препарата «Соноvue».

Результаты и обсуждение. В В-режиме выявлено увеличение толщины эндометрия до $18,1 \pm 6,7$ мм. Структура эндометрия неоднородная. Переходная зона не дифференцировалась. С помощью импульсного доплеровского режима были количественно оценены показатели гемодинамики в маточных артериях, которые составили: МСС – $9,3 \pm 2,1$ см/с, индекс резистентности – $0,56 \pm 0,05$. Методикой цветовой доплерографии регистрировался центральный и периферический внутриопухолевый кровоток умеренной интенсивности в виде единичных сигналов от сосудов.

При УЗИ матки с применением соноэластографии сдвиговой волны в норме миометрий окрашивался преимущественно синим цветом. Средние показатели эластичности неизменного миометрия находились в интервале $11,4 \pm 5,5$ кПа. Ткань опухоли характеризовалась высокими показателями плотности и визуализировалась в синей цветовой гамме, средние числовые значения составляли – $182,9 \pm 80$ кПа. Коэффициент жесткости в неизменном миометрии определялся на уровне $0,7-8,05$. Коэффициент жесткости опухоли варьировал от $0,92$ до $14,3$. Средний показатель коэффициента жесткости опухоли существенно не отличался от неизменного миометрия, так как лишь отдельные участки в опухоли имели высокую плотность. Разница показателей жесткости тканей внутри опухоли и на границе опухоли с неизменным миометрием могла служить показателем степени инвазии опухоли в миометрий.

При контрастном усилении рак эндометрия характеризовался повышенным контрастированием в артериальную фазу, неравномерным накоплением контраста в венозную фазу и быстрым вымыванием контрастного вещества в отсроченную фазу. Патологическое образование эндометрия определялось как гиперконтрастное по отношению к неизменному эндометрию.

Чувствительность метода ультразвукового исследования с контрастированием в диагностике рака эндометрия составила 94 %, специфичность метода также составила 91 %.

Выводы. Рекомендуется использовать следующий алгоритм ультразвуковых методик при параметрическом исследовании женщин с подозрением на рак эндометрия 1. УЗИ в В-режиме трансабдоминальным и трансвагинальным датчиками; 2. Допплерографическое исследование маточных артерий и внутриопухолевого кровотока; 3. УЗИ с использованием соноэластографии; 4. Контрастно усиленное УЗИ органов малого таза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стрижаков А.Н., Давыдов А.И. Трансвагинальная эхография: 2D и 3D методы. М.: ОСЛН. 2006; 160.
2. Федорова Е.В., Липман А.Д. Применение цветового доплеровского картирования и доплерометрии в гинекологии. М.: Видар. 2002; 104.
3. Kurjak A., Kupesic S. Transvaginal color Doppler and pelvic tumor vascularity lessons learned and future challenges. J Ultrasound Obstet Gynecol 1995; 6: pp. 145-59.
4. Kupesic S., Kurjak A., Babic M.M. Normal pelvic blood flow. Doppler Ultrasound in Gynecology. New York, London: The Parthenon Publishing Group, 1998. 1925.
5. Гаженова В.Е. Ультразвуковая диагностика в гинекологии. М.: МЕДпресс-информ, 2005. 264.
6. Dordoni D., Grolli C., Polo C., Tassi P.G. The possible role of transvaginal sonography (TVS) in case of postmenopausal uterine bleeding. Ultrasound Obstet. Gynecol. 1992; 2(Suppl 1): 93.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК-21, 181А, 214, 301А, 1908, РЕГУЛИРУЮЩИХ ЭКСПРЕССИЮ PTEN, В ОПУХОЛЯХ ЭНДОМЕТРИЯ

Н.С. Гелетина, В.С. Кобелев

Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины,
г. Новосибирск, Россия

Аннотация

В патогенезе рака эндометрия одним из важнейших сигнальных путей является PI3K/Akt/mTOR-сигнальный путь, избыточная активация которого приводит к резистентности клеток к апоптозу. Влияние микроРНК на уровни PTEN характерно для многих видов рака, однако в раке эндометрия это изучено в недостаточной степени. В исследовании для изучения были выбраны микроРНК, для которых экспериментально показана регуляция экспрессии PTEN у человека в других опухолях (hsa-miR-1908, hsa-

miR-21, hsa-miR-214, hsa-miR-181a, hsa-miR-301a). В исследовании изучались связи между уровнями PTEN, микроРНК и индексом массы тела пациенток. Наши результаты продемонстрировали высокую вариабельность уровня PTEN в отдельных образцах рака эндометрия. Проведен ПЦР-анализ в реальном времени, который показал, что уровень miR-181a продемонстрировал значительный прирост в тканях рака эндометрия по сравнению с неизмененным эндометрием. Мы не наблюдали статистически значимой корреляции между уровнями микроРНК и PTEN в гетерогенной когорте пациентов. В то же время в образцах, взятых от пациенток с раком эндометрия, выяснилось, что связь между экспрессией PTEN и индексом массы тела имеет значительную положительную корреляцию. Исследование показало, что miR-181a сверхэкспрессируется в раке эндометрия и его уровень отрицательно коррелирует с уровнем PTEN в опухолевых тканях пациентов с нормальной массой тела.

Ключевые слова: рак эндометрия; PTEN; микроРНК; ИМТ.

DETERMINATION OF THE EXPRESSION OF MIRNA-21, 181A, 214, 301A, 1908, REGULATING THE EXPRESSION OF PTEN, IN ENDOMETRIAL TUMORS

N.S. Geletina, V.S. Kobelev

Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Novosibirsk, Russia

Abstract

In the pathogenesis of endometrial cancer, one of the most important signaling pathways is the PI3K / Akt / mTOR-signaling pathway, the excessive activation of which leads to cell resistance to apoptosis. The effect of microRNA on the levels of PTEN is characteristic of many cancers, but in endometrial cancer it is not adequately studied. In the study, microRNAs have been selected for which the regulation of PTEN expression in humans in other tumors has been experimentally shown (hsa-miR-1908, hsa-miR-21, hsa-miR-214, hsa-miR-181a, hsa-miR-301a). The study examined the relationship between the levels of PTEN, microRNA and the body mass index of patients. Our results demonstrated a high variability in the level of PTEN in selected endometrial cancer specimens. Real-time real-time PCR was performed, which showed that the level of miR-181a showed a significant increase in endometrial cancer tissue compared to the unchanged endometrium. We did not observe a statistically significant correlation between the levels of miRNA and PTEN in a heterogeneous cohort of patients. At the same time, in samples taken from patients with endometrial cancer, it was found that the association between PTEN expression and the body mass index has a significant positive correlation. The study showed that miR-181a is overexpressed in endometrial cancer and its level is negatively correlated with the level of PTEN in the tumor tissues of patients with normal body weight.

Keywords: endometrial cancer; PTEN; microRNA; BMI.

Актуальность. Рак эндометрия – актуальная проблема для всех экономически развитых стран, что обусловлено высоким распространением в популяции факторов риска гиперпластических процессов эндометрия. В патогенезе рака эндометрия одним из важнейших сигнальных путей является PI3K/Akt/mTOR-сигнальный путь [1, 2], избыточная активация которого приводит к резистентности клеток к апоптозу. К избыточной активации может приводить инактивация гена PTEN – негативного регулятора PI3K/Akt/mTOR-сигнального пути. Нарушение экспрессии PTEN может происходить как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне с участием микроРНК. Таким образом, поиск микроРНК, ассоциированных со снижением экспрессии гена PTEN, выступает как важный этап на пути понимания механизмов канцерогенеза в ткани эндометрия.

Материал и методы. Материалом исследования являются свежемороженые образцы биопсии эндометрия, полученные у пациенток Новосибирского областного онкологического диспансера с 2015 по 2017 год с диагнозами: 1) аденокарцинома эндометрия I стадии (52 образца); 2) в качестве контрольных, нормальный, внешне не измененный эндометрий, полученный у пациенток с дисплазией шейки матки (26 образцов). Суммарная РНК была выделена из образцов тканей с использованием TRIzol (Invitrogen, США). Экспрессия мРНК PTEN и микроРНК была определена методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Методом ИГХ было исследовано содержание белка PTEN. Для изучения различий уровней экспрессии в любых двух подгруппах использовался непараметрический двухсторонний тест Манна – Уитни. Для анализа корреляции между значениями использовался корреляционный тест Спирмена.

Результаты. В исследовании были проанализированы отношения между уровнями экспрессии мРНК PTEN, экспрессией микроРНК и ИМТ пациенток с раком эндометрия. В исследовании уровни мРНК PTEN умеренно коррелируют с ИМТ (коэффициент Спирмена=0,400, $p=0,004$). Уровень экспрессии PTEN был значительно ниже ($p=0,009$) у пациенток с ИМТ<30. Уровень экспрессии miR-181a был значительно более выражен ($p=0,022$) в подгруппе пациентов с ИМТ<30. Кроме того, экспрессия PTEN в подгруппе пациентов с ИМТ<30 отрицательно коррелировала с экспрессией miR-181a (коэффициент Спирмена = -0,200, $p=0,050$). Различия в уровнях экспрессии других микроРНК не были статистически значимыми.

Исследование показало, что miR-181a сверхэкспрессируется в раке эндометрия, и его уровень отрицательно коррелирует с уровнем PTEN в опухолевых тканях пациентов рака эндометрия без ожирения, что указывает на то, что miR-181a может участвовать в регуляции PTEN в этой подгруппе.

Выводы. Наши результаты способствуют более полному пониманию биологии рака эндометрия, что может привести к открытию новых молекулярных мишеней для противоопухолевой терапии. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы понять ценность miR-181a для прогноза рака эндометрия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуляева Л.Ф., Пустыльник В.О. Молекулярные основы развития патологических процессов. Пути передачи клеточного сигнала. От факторов роста к факторам транскрипции: учеб.-метод. пособие. Новосиб. гос. ун-т. Новосибирск, 2012. 60.
2. Terakawa N., Kanamori Y., Yoshida S. Loss of PTEN expression followed by Akt phosphorylation is a poor prognostic factor for patients with endometrial cancer. *Endocr Relat Cancer* 2003; 10: 203–8.

АКТИВАЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ IN VITRO ДЛЯ ИММУНОТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Ю.В. Гельм, И.А. Пасова, Е.В. Абакушина

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия

Аннотация

В исследование включены данные 48 человек, из них доноров – 22, онкологических больных – 26. Выделенные из крови мононуклеарные клетки активировали до 14 дней в CO₂-инкубаторе в среде с ИЛ-2 и ИЛ-15. Лимфоциты здоровых доноров при культивировании в данных условиях обладают рядом преимуществ по сравнению с лимфоцитами онкологических больных. Клетки доноров обладают более высокой жизнеспособностью, пролиферативной активностью и способностью к более ранней активации, а также секретируют более высокие концентрации противоопухолевых цитокинов в процессе активации.

Ключевые слова: активация лимфоцитов *in vitro*, ИЛ-2, ИЛ-15, адоптивная иммунотерапия.

IN VITRO LYMPHOCYTES ACTIVATION FOR THE IMMUNOTHERAPY OF CANCER PATIENTS

Yu.V. Gel'm, I.A. Pasova, E.V. Abakushina

A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Abstract

The study involved 48 people: donors 22, cancer patients 26. The mononuclear cells isolated from the blood were activated to 14 days in the CO₂- incubator in medium with IL-2 and IL-15. Lymphocytes of healthy donors when cultured under the given conditions, have a number of advantages in comparison with lymphocytes of cancer patients. Donor cells have higher viability, proliferative activity and ability to earlier activation, and secrete higher concentrations of antitumor cytokines during activation.

Keywords: activation of lymphocytes *in vitro*, IL-2, IL-15, adoptive immunotherapy.

Актуальность. Для лечения пациентов с онкологическими заболеваниями в последние годы активно развивают методы клеточной иммунотерапии. Наиболее актуальным становится применение противоопухолевой адоптивной (от англ. adopt – принимать, усыновлять) иммунотерапии на основе активированных *in vitro* лимфоцитов и клеток натуральных киллеров (НК-клеток), противоопухолевый потенциал которых усиливают с помощью культивирования *in vitro* в присутствии цитокинов ИЛ-2, ИЛ-12, ИЛ-15 или ИЛ-18 [1, 2]. Достоверно показано, что иммунная система способна распознавать злокачественные клетки и реагировать на такое распознавание активацией и последующими каскадами иммунных реакций [3]. Также в регуляции иммунного ответа большую роль на всех этапах его развития играют цитокины [4, 5]. Цитокины ИЛ-2, ФНО, ИФН и др., по данным литературы, обладают противоопухолевой активностью как *in vivo*, так и *in vitro* и проявляют избирательную цитотоксичность в отношении некоторых опухолевых клеток, поэтому определение цитокинов, секретируемых активированными клетками, является актуальной задачей.

Целью исследования являлось изучение морфологических особенностей клеток доноров и онкологических больных, их жизнеспособности, определение уровня пролиферативной и функциональной активности при их культивировании в среде с ИЛ-2 и ИЛ-15 до 14 дней.

Материал и методы. В исследование включены данные 48 человек, из них доноров – 22, онкологических больных (меланома и злокачественные образования абдоминальной области) – 26. Для активации лимфоцитов из периферической крови по стандартной методике на градиенте плотности фикола выделяли мононуклеарные клетки [6]. Далее их активировали до 14 дней в концентрации 1,5–2 млн/мл в культуральных флаконах в CO₂-инкубаторе в полной питательной среде, на основе RPMI-1640, содержащей ИЛ-2 и ИЛ-15. Каждые 48–72 ч культивирования проводили замену половины объема питательной среды.

Визуальный анализ изменения формы, размеров, гранулярности, образования групп клеток и наличия адгезивных свойств у культивируемых лимфоцитов оценивали каждый день. Для определения уровня активации клеток методом ИФА в супернатантах 3 и 7 дня культивирования измеряли концентрации ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ-10, ИФН-α и ИФН-γ по инструкции с помощью набора реагентов фирмы «Вектор Бест». Статистический анализ данных проводили с помощью программ Microsoft Excel 2007, данные представляли как среднее по группе ± стандартное отклонение (M±σ).

Результаты. Установлено, что ИЛ-15 больше влияет на пролиферативную и цитотоксическую активность НК-клеток при их культивировании в среде с добавлением комбинации цитокинов ИЛ-2 и ИЛ-15, чем только ИЛ-2. Цитотоксическая активность активированных лимфоцитов выше, чем у неактивированных лимфоцитов, причем у доноров, особенно при низком соотношении мишеней и эффекторов, данная активность выше, чем у онкологических больных. Показано, что после активации лимфоциты приобретают способность эффективнее убивать клетки-мишени. Эти данные хорошо соотносились с изменением морфологии активированных лимфоцитов и увеличением их пролиферативной активности.

Визуально пролиферация лимфоцитов доноров на 2-й день активации была выше, чем у онкологических больных. Адгезия лимфоцитов доноров к поверхности культурального флакона наблюдалась уже с 1–2-го дня, в то время как у больных меланомой с 3–4-го дня культивирования, что отличает их от клеток онкологических больных способностью к более ранней активации. В пуле суспензионных лимфоцитов пролиферацию оценивали с помощью определения точной концентрации клеток. В пуле прилипающих лимфоцитов (40–50 %) степень пролиферации определяли визуально по критериям образования групп клеток, морфологии, размеру, количеству и потенциалу клеточного деления, который увеличивается или остается на прежнем уровне в последующие дни культивирования. Формирование групп клеток доноров в процессе роста наблюдалось со 2–3 дня, что отличает их от клеток больных меланомой более выраженной пролиферативной активностью.

К окончанию процесса культивирования клеток доноров, их количество в среднем по группе увеличилось на 62 %, а ежедневный прирост в день составлял в среднем 2,1 млн клеток, что несколько больше, чем в группе онкологических больных. Показано, что лимфоциты доноров обладают высоким уровнем жизнеспособности, большим, чем клетки онкологических больных, так, на 3-й день жизнеспособность клеток в среднем по группе составляет 99,9±0,3 %, на 7-й день – 95,1±1,6 % и к 13-му дню – 93,8±1,7 %. Это позволяет увеличить сроки культивирования клеток и их активационный потенциал, что является важным фактором при проведении адоптивной иммунотерапии онкологическим больным.

На 3-й день культивирования в супернатантах группы доноров определялись значительные концентрации ИЛ-6 – 302,4±254,8 пг/мл; ИЛ-2 – 303,4±43,7 пг/мл; ИФН-γ 346,7±265,3 пг/

мл, меньшие уровни ИЛ-10 – $76,2 \pm 64,0$ пг/мл; ИЛ-4 – $3,0 \pm 1,6$ пг/мл; ИФН- α – $2,3 \pm 4,5$ пг/мл. Концентрации всех цитокинов к 7-му дню выросли по сравнению с 3-м днем. Статистически значимо увеличилось содержание ИЛ-6 в 2 раза, ИФН- γ – в 3 раза, ИЛ-10 в 6 и ИЛ-4 – в 30 раз (для всех $p < 0,01$), что свидетельствует об увеличении количества активированных лимфоцитов и их секреторной активности.

В супернатантах больных на пике активации (4–8-й день), т.е. в момент максимального формирования групп клеток и начала отлипания их от пластика культурального флакона концентрация ИЛ-6 составила $604,6 \pm 176,6$ пг/мл, ИЛ-2 – $288,7 \pm 28,6$ пг/мл, ИФН- γ – $759,3 \pm 331,7$ пг/мл, ИЛ-10 – $216,5 \pm 268,0$ пг/мл, ИЛ-4 – $20,8 \pm 28,9$ пг/мл, ИФН- α – $1,55 \pm 2,7$ пг/мл. Если полученные данные сравнить с результатами, проанализированными в группе доноров на 7-й день, то можно заметить, что уровень содержания всех исследуемых цитокинов в супернатантах доноров был выше, в значительной степени ИЛ-4 – в 4,2 раз, ИФН- α – в 3,7 раз, ИЛ-10 – в 2 раза ($p < 0,05$), ИФН- γ – в 1,3 раза ($p < 0,05$), что доказывает более выраженную способность продуцировать цитокины, необходимые для противоопухолевой защиты организма, в данных условиях активирования *in vitro*.

Выводы. Лимфоциты доноров обладают способностью к более ранней активации и более высокой пролиферативной активности по сравнению с лимфоцитами онкологических больных. Жизнеспособность активированных лимфоцитов доноров, при добавлении комбинации цитокинов ИЛ-2/ИЛ-15 в полную питательную среду, сохраняется до 94 % к 13-му дню культивирования. Лимфоциты доноров секретируют более высокие концентрации противоопухолевых цитокинов в процессе активации в присутствии ИЛ-2 (250 МЕ/мл) и ИЛ-15 (50 нг/мл) в культуральной среде по сравнению с лимфоцитами онкологических больных. На основе полученных данных можно заключить, что лимфоциты здоровых доноров при культивировании *in vitro* обладают рядом преимуществ по сравнению с лимфоцитами онкологических больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Murray S., Lundqvist A. Targeting the tumor microenvironment to improve natural killer cell-based immunotherapies: on being in the right place at the right time, with resilience. Human vaccines and Immunotherapeutics. 2016; 12(3): 607611.
2. Navarro G.A., Bjorklund A.T., Chekenya M. Therapeutic potential and challenges of natural killer cells in treatment of solid tumors. Frontiers in Immunology. 2015; 6: 202.
3. Бережной А.Е., Чернышева А.Д., Закеева И.Р. Индукция экспрессии молекулы HLA-E на поверхности опухолевых клеток интерфероном-гамма приводит к защите опухолевых клеток от цитотоксического действия лимфоцитов. Вопросы онкологии. 2009; 55(2): 224–229.
4. Абакушина Е.В., Маризина Ю.В., Неприна Г.С. Эффективность совместного применения ИЛ-2 и ИЛ-15 для активации цитотоксических лимфоцитов *in vitro*. Гены и клетки. 2015; 10(2): 7885.
5. Абакушина Е.В., Маризина Ю.В., Каприн А.Д. Морфофункциональная характеристика лимфоцитов человека после активации *in vitro*. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016; 161(5): 678683.
6. Каприн А.Д., Абакушина Е.В., Маризина Ю.В., Неприна Г.С.; ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России. Способ активации цитотоксических лимфоцитов человека. Патент №2603079РФ, МПК А61К38/20, С12N5/078; Заявл. 16.03.2015; Оpubл. 20.11.2016., Бюл.№ 32.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНА TP53 У БОЛЬНЫХ С МЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Г.Ф. Гималова, А.С. Карунас

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа, Россия

Аннотация

Рак легкого является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний и основной причиной смертности от них во всем мире. Мелкоклеточный рак легкого (МРЛ) составляет около 15–20 % всех случаев РЛ и характеризуется коротким анамнезом, быстрым течением, имеет тенденцию к раннему метастазированию. Полногеномные исследования МРЛ показали практически 100 % частоту мутирования гена TP53. Нами проведен поиск мутаций в данном гене у больных МРЛ, проживающих в Республике Башкортостан. Материалами для исследования послужили 50 образцов тканей, фиксированных в формалине и залитых в парафин. Поиск мутаций осуществлялся методом мультиплексной лигазависимой амплификации (MLPA-анализ). В результате исследования выявлены дупликации

в первом, четвертом, седьмом и десятом экзонах и делеции во втором, четвертом, пятом и шестом экзонах гена TP53. Кроме того, в ходе анализа обнаружено четыре образца с мутацией c.1100delC гена CHEK2.

Ключевые слова: рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, MLPA, TP53.

THE STUDY OF TP53 IN SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS FROM THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

G.F. Gimalova, A.S. Karunas

Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

Abstract

Lung cancer is one of the most common cancers and is the leading cause of cancer death worldwide. Small cell lung cancer (SCLC) represents 10–15 % of all lung carcinoma cases and exhibits aggressive behavior, rapid growth, and early development of metastases. Genome-wide studies show almost 100 % TP53 mutation rate. We performed a search for mutations in TP53 in SCLC patients from the Republic of Bashkortostan. The study was conducted on 50 FFPE samples using MLPA analysis. During this analysis we revealed duplications in 1st, 4th, 7th and 10th exons and deletions in 2nd, 4th, 5th and 6th exons of TP53. Besides, we found 4 samples with c.1100delC mutation of CHEK2.

Keywords: lung cancer, small cell lung cancer, MLPA, TP53.

Актуальность. Рак легкого является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний и основной причиной смертности от них во всем мире. Ежегодно в России регистрируется 60 тыс. новых случаев рака легкого, в мире данный показатель достигает 1 млн случаев. Выделяют два основных гистологических типа РЛ: немелкоклеточный (НМРЛ) и мелкоклеточный (МРЛ). МРЛ представляет собой нейроэндокринную опухоль и составляет около 15–20 % всех случаев РЛ. Основным фактором риска развития данного заболевания является курение. МРЛ относится к наиболее злокачественно текущим онкопатологиям и характеризуется коротким анамнезом, быстрым течением, имеет тенденцию к раннему метастазированию [1]. Пятилетняя выживаемость при данном заболевании составляет <7 %. Генетические исследования МРЛ выявили многочисленные хромосомные перестройки [2]. Кроме того, данный вид рака характеризуется высокой частотой мутаций, что, по-видимому, связано с воздействием мутагенов табачного дыма [3]. В большинстве случаев МРЛ обнаруживаются делеции участков, которые содержат гены-супрессоры опухолей (3p, 5q, 13q, 17p), амплификация участков, содержащих различные онкогены (1p, 2p, 3q, 5p, 8q и 19p), соматические мутации в генах факторов транскрипции, ферментов, вовлеченных в модификации хроматина, рецепторов тирозинкиназы и других белков. Полногеномные исследования МРЛ показали практически 100 % частоту мутирования гена TP53 [4, 5]. В связи с этим нами проведен поиск мутаций в данном гене у больных МРЛ, проживающих в Республике Башкортостан.

Материал и методы. Материалом для исследования послужили 50 образцов тканей, фиксированных в формалине и залитых в парафин. Выделение ДНК производилось с помощью набора GeneRead DNA FFPE Kit (Qiagen). Поиск мутаций осуществлялся методом мультиплексной лигазозависимой амплификации (MLPA-анализ).

Результаты. В результате проведенного исследования выявлено 15 образцов, имеющих гетерозиготные дупликации в первом экзоне гена TP53, и один образец с дупликациями в четвертом, седьмом и десятом экзонах гена. Большинство же образцов имели делеции в исследованной области 17p13, содержащей ген TP53. В их числе пять образцов с делециями в седьмом экзоне гена MPUD1, пять образцов с делециями первого экзона ATP1B2, четыре – с делециями 4–6 экзонов гена TP53, три – с делециями экзона 2d гена TP53 и седьмого экзона гена ATP1B2. У одного образца выявлена делеция 13 экзона гена CHEK2. Кроме того, в ходе анализа обнаружено четыре образца с мутацией c.1100delC гена CHEK2.

Итак, большинство из исследованных в ходе данной работы образцов имеет структурные изменения в кодирующих областях гена TP53 и всего региона 17p13.1, что в целом согласуется с литературными данными. Следует также отметить, что выявленная в гене СНЕК2 делеция ассоциирована в различных популяциях с развитием рака молочной железы, яичников и простаты, однако у больных с МРЛ ранее не описана.

Выводы. Таким образом, в проведенном нами исследовании выявлена высокая частота мутирования гена TP53 у больных мелкоклочным раком легкого. Работа выполнена на оборудовании ЦКП “Биомика” (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП “Агидель”) и УНУ “КОДИНК”, с использованием образцов ДНК ЦКП «Коллекция биологических материалов человека» ИБГ УНЦ РАН.

При частичной финансовой поддержке РФФИ, грант №17-44-020115

ЛИТЕРАТУРА

1. Jackman D.M., Johnson B.E. 2005. Small-cell lung cancer. *Lancet* 366: 1385–1396.
2. Wistuba I.I., Behrens C., Virmani A.K., Mele G., Milchgrub S., Girard L., Fondon J.W., Garner H.R., McKay B., Latif F., Lerman M.I., Lam S., Gazdar A.F., Minna J.D. High resolution chromosome 3p allelotyping of human lung cancer and preneoplastic/preinvasive bronchial epithelium reveals multiple, discontinuous sites of 3p allele loss and three regions of frequent breakpoints. *Cancer Res.* 2000; 60: 1949–1960.
3. Toyo ka S., Tsuda T., Gazdar A.F. The TP53 gene, tobacco exposure, and lung cancer. *Hum Mutat* 2003; 21: 229–239.
4. Peifer M., Fernández-Cuesta L., Sos M.L., George J., Seidel D., Kasper L.H., Plenker D. Integrative genome analyses identify key somatic driver mutations of small-cell lung cancer. *Nat Genet* 44: 1104–1110.
5. Rudin C.M., Durinck S., Stawiski E.W., Poirier J.T., Modrusan Z., Shames D.S., Bergbower E.A., Guan Y., Shin J., Guillory J., Rivers C.S., Foo C.K., Bhatt D., Stinson J., Gnad F., Haverty P.M., Gentleman R., Chaudhuri S., Janakiraman V., Jaiswal B.S., Parikh C., Yuan W., Zhang Z., Koeppen H., Wu T.D., Stern H.M., Yauch R.L., Huffman K.E., Paskulin D.D., Illei P.B., Varella-Garcia M., Gazdar A.F., de Sauvage F.J., Bourgon R., Minna J.D., Brock M.V., Seshagiri S. Comprehensive genomic analysis identifies SOX2 as a frequently amplified gene in small-cell lung cancer. *Nat Genet* 44: 1111–1116.
6. Выилов Е.В., Филиошкина В.Ю., Крылов А.Л., Марков В.А. Эффективность реперфузионных мероприятий при инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST у больных 70 лет и старше. *Сибирский медицинский журнал.* 2014; 29(1): 25–29.
7. Goldberger J.J., Bonow R.O., Cuffe M., Liu L., Rosenberg Y., Shah P.K., Smith S.C., Subacius H.; OBTAIN Investigators. Effect of beta-blocker dose on survival after acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2015; 66(13): 1431–1441. doi: 10.1016/j.jacc.2015.07.047.
8. Schultz J.E.J., Hsu A.K., Gross G.J.J. Ischemic preconditioning and morphine-induced cardioprotection involve the delta (δ)-opioid receptor in the intact rat heart. *Mol. Cell. Cardiol.* 1997; 29(8): 2187–2195. doi:10.1006/jmcc.1997.045.
9. Neckar J., Szarszoi O., Herget J., Ostadal B., Kolar F. Cardioprotective effect of chronic hypoxia is blunted by concomitant hypercapnia. *Physiol. Res.* 2003; 52(2): 171–175.
10. Zhang W.P., Zong Q.F., Gao Q., Yu Y., Gu X.Y., Wang Y., Li Z.H., Ge M. Effects of endomorphin-1 postconditioning on myocardial ischemia/reperfusion injury and myocardial cell apoptosis in a rat model. *Mol. Med. Rep.* 2016; 14(4): 3992–3998. doi: 10.3892/mmr.2016.5695.

ОЦЕНКА ЛИМФОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАДИОИЗОТОПНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

А.В. Гольдберг, Ю.В. Белевич

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В исследование было включено 22 больных со злокачественными опухолями гортани и гортаноглотки T2–4N0M0. Данным пациентам для выявления “сторожевых” лимфатических узлов в несколько точек по периферии опухоли вводился радиофармпрепарат ^{99m}Tc-“Алотех” в дозе 20 МБк в каждое место инъекции. Планарная сцинтиграфия и ОЭКТ больным проводилась через 20 мин и 3 ч после введения радиофармпрепарата. В ходе оперативного лечения выполнялось выявление “сторожевых” лимфатических узлов с помощью гамма-зонда. Всего было определено 28 “сторожевых” лимфатических узлов. Количество визуализированных СЛУ на одного пациента составило от 1 до 3. Таким образом, применение радиоизотопных методов исследования для выявления СЛУ значимо повышает эффективность диагностики лимфогенного метастазирования.

Ключевые слова: рак гортани и гортаноглотки, лимфогенное метастазирование, сторожевые лимфатические узлы, радионуклидная диагностика.

NUCLEAR MEDICINE IMAGING TECHNIQUES FOR THE ASSESSMENT OF LYMPH NODE METASTASIS IN PATIENTS WITH LARYNGEAL AND HYPOPHARYNGEAL CANCER

A.V. Goldberg, Yu.V. Belevich

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The study included 22 patients with stage T2-4N0M0 laryngeal and hypopharyngeal cancer. To detect sentinel lymph nodes (SLN), peritumoral injections of ^{99m}Tc -Alotech at a dose of 20 MBq per quadrant were made the day before surgery. Planar scintigraphy and single photon emission computed tomography (SPECT) were performed 20 minutes and 3 hours after the tracer injection. Intraoperative SLN detection was performed using gamma probe. A total of 28 SLNs were identified. The number of identified SLNs per patient ranged from 1 to 3. Thus, the use of nuclear medicine imaging techniques for SLN visualization significantly improves the detection of lymph node metastasis.

Keywords: laryngeal and hypopharyngeal cancer, lymph node metastasis, sentinel lymph nodes, nuclear medicine imaging.

Актуальность. Рак гортани и гортаноглотки представляет одну из актуальных и сложных проблем в современной онкологии. В структуре общей заболеваемости злокачественными опухолями рак гортани составляет 2,97 %, рак гортаноглотки – 0,98 % [1]. При этом выбор адекватной тактики лечения и показатели выживаемости при раке гортани и гортаноглотки в значительной мере зависят от точности диагностики как первичной опухоли, так и регионарной распространенности процесса. Общая частота метастатического поражения шейных лимфатических узлов составляет, по данным разных авторов, от 17 до 70 % [2]. Проблема лимфогенного метастазирования сегодня является ключевой проблемой в онкологии, так как именно характер поражения лимфатических узлов является одним из факторов, определяющих прогноз. Исследования последних лет показали, что выявление и изучение состояния “сторожевых” лимфатических узлов является важным диагностическим методом оценки регионарного метастазирования и определения показаний к расширенной лимфодиссекции [2, 3]. Изучение возможностей использования лимфосцинтиграфии с новым радиофармпрепаратом – ^{99m}Tc -“Алотех” позволит рационально планировать объем оперативного вмешательства, обеспечивающий оптимальные функциональные и отдаленные результаты лечения.

Материал и методы. Материалом для нашего исследования являлось определение сторожевых лимфатических узлов у 22 пациентов со злокачественными опухолями гортани и гортаноглотки T2-4N0M0, получавших комбинированное лечение в отделении опухолей головы и шеи ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН в 2006 г. Преобладали больные со стадией процесса T3 – 12 человек (54,5 %), из них рак гортани диагностирован у 11 пациентов, рак гортаноглотки – у 1. Реже встречалась стадия T2 – у 7 больных раком гортани и у 1 раком гортаноглотки, по одному случаю рака гортани и гортаноглотки T4 стадии опухолевого процесса.

Пациенты находились в возрастном интервале от 41 до 64 лет, средний возраст составил 57 лет.

Для выявления СЛУ при раке гортани и гортаноглотки методом радионуклидной визуализации радиофармпрепарат мы вводили за сутки до операции во время видеоларингоскопии в ткани по периферии опухоли в нескольких точках по 20 МБк в каждое место инъекции. Планарную сцинтиграфию и ОЭКТ выполняли на гамма-камере (E.CAM 180, Siemens, Германия) через 20 мин и 3 ч после введения индикатора с захватом зон регионарного лимфооттока. Непосредственно во время операции с помощью гамма-зонда (Gamma Finder II, Германия) проводили выявление СЛУ, его маркировку и выделение для гистологического исследования.

Результаты и обсуждение. Всего определено 28 “сторожевых” лимфатических узлов. Количество визуализированных СЛУ на одного пациента составило от 1 до 3. Среднее количество выявленных СЛУ – 1,3. При проведении ОЭКТ у 17 пациентов (77,3 %) обнаружен 1 сторожевой лимфатический узел, у 4 больных (18,2 %) – 2 л/узла, у 1 (4,5 %) – 3 л/

узла, располагающихся как на стороне поражения, так и на контралатеральной. Результаты интраоперационного детектирования оказались аналогичными. Все «сторожевые» лимфатические узлы были отмаркированы для морфологического исследования. После планового гистологического исследования «сторожевых» лимфатических узлов метастатическое поражение было выявлено у 3 (13,6 %) из 22 прооперированных нами больных с диагнозом рак гортани/гортаноглотки без клинически определяемых на дооперационном этапе регионарных метастазов. У 19 больных (86,4 %) отсутствовало метастатическое поражение СЛУ. Из них воспалительная инфильтрация диагностирована у 7 (31,8 %) пациентов; синусный гистиоцитоз, фиброз – у 7 (31,8 %); интактные лимфатические узлы – у 5 (22,7 %).

Выводы. Таким образом, нами были изучены частота и закономерность лимфогенного метастазирования в зависимости от размеров опухоли. У двух больных со стадией Т4 идентифицировано 2 и 3 СЛУ, у трёх пациентов с Т3 стадией опухолевого процесса выявлено по 2 СЛУ как на стороне основного процесса, так и контралатерально. То есть при более распространённом процессе определялось большее количество СЛУ. При увеличении размера опухоли соответственно увеличивалось и расстояние между инъекциями, что приводило к оттоку лимфы в большее количество групп лимфатических узлов. Кроме того, пациенты, у которых после гистологического исследования выявлено метастатическое поражение «сторожевых» лимфоузлов, имели распространённую первичную опухоль.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность). Москва, 2018. 31–32.
2. Чернов В.И., Афанасьев С.Г., Синилкин И.Г., Тицкая А.А., Августиневич А.В. Радионуклидные методы исследования в выявлении «сторожевых» лимфатических узлов. Сибирский онкологический журнал. 2008; 4(28): 510.
3. Синилкин И.Г., Чернов В.И., Чойнзонов Е.Л., Чижевская С.Ю., Тицкая А.А., Зельчан Р.В. Выявление сторожевых лимфатических узлов при раке гортани и гортаноглотки. Бюллетень сибирской медицины. 2014; 13(1): 116–121.

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА BRN-3 α В РАЗВИТИИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.К. Горбунов, Л.В. Спирина, Е.А. Усынин

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В исследование было включено 54 пациента с высоким уровнем простат-специфического антигена (ПСА). Всем пациентам была выполнена биопсия предстательной железы с последующей рандомизацией: рак предстательной железы (n=37), отсутствие рака простаты (n=17). Материалом для исследования являлись образцы ткани предстательной железы, полученные при проведении диагностической биопсии. В обеих группах определён уровень экспрессии генов Brn-3 α , AR, ER α , а также компонентов АКТ/m-TOR сигнального пути. Были получены данные об увеличении экспрессии мРНК транскрипционного фактора Brn-3 α в 4,13 раза в ткани РПЖ по сравнению с нормальной тканью простаты. Отмечен рост экспрессии ER α в 30,33 раза в опухолевых клетках по сравнению с нормальной тканью простаты. При сравнительном анализе экспрессии генов компонентов АКТ/m-TOR сигнального пути в развитии рака предстательной железы отмечена активация данного сигнального каскада, доказательством которой является повышенный уровень экспрессии протеинкиназы АКТ, а также повышение уровня мРНК m-TOR.

Ключевые слова: рак предстательной железы, транскрипционный фактор Brn-3 α , АКТ/m-TOR сигнальный путь.

THE ROLE OF THE TRANSCRIPTION FACTOR BRN-3 α IN THE DEVELOPMENT OF PROSTATE CANCER

A.K. Gorbunov, L.V. Spirina, E.A. Usynin

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Аннотация

54 patients with high-level prostate-specific antigen (PSA) were included in the study. All patients underwent biopsy of the prostate with subsequent randomization: prostate cancer (n=37), absence of prostate cancer (n=17). The material for the study was prostate tissue samples obtained during diagnostic biopsy. In both groups, the level of expression of Brn-3 α , AR, ER genes, as well as components of the AKT/m-TOR signaling pathway is determined. Data were obtained on the increase in the expression of the mRNA of the transcription factor Brn-3 α by 4.13 times in the PCa tissue compared to normal prostate tissue. Growth of ER expression was observed in 30,33 times in tumor cells in comparison with normal prostate tissue. In a comparative analysis of the expression of AKT/m-TOR signaling gene genes in the development of prostate cancer, activation of this signaling cascade was noted, which is evidenced by an increased level of AKT protein kinase expression, as well as a m-TOR mRNA level.

Keywords: prostate cancer, transcription factor Brn-3 α , AR, ER, AKT/m-TOR signaling pathway.

Актуальность. В развитии гормонозависимых опухолей человека большое значение имеют транскрипционные факторы. Одним из ключевых факторов транскрипции является Brn-3 α (POU4F1). Он представляет собой фактор транскрипции 4-го класса белков POU, известный также как нейрогенный фактор. Данный белок в большей степени определяется в периферической нервной системе, нейронах сетчатки, в клетках В- и Т- лимфоцитарных линий, а также в ткани молочной и предстательной железы [1]. В 2008 г. Diss J.K. et al. предположили, что транскрипционный фактор Brn-3 α вовлечен в различные процессы онкогенеза, участвует в проведении апоптотических сигналов и контролирует скорость клеточного цикла [2]. Кроме того, выявлено влияние данного показателя на уровень экспрессии рецепторов половых гормонов: эстрогенов (ER) и андрогенов (AR) [3].

Цель исследования – изучить уровень экспрессии транскрипционного фактора Brn-3 α , рецепторов AR, ER α , компонентов AKT/mTOR сигнального пути в нормальной и опухолевой ткани предстательной железы.

Материал и методы. В исследование было включено 54 пациента с повышенным уровнем простат-специфического антигена (ПСА), среднее значение которого составило 34,1 $\pm$ 8,7 нг/мл, в возрасте от 40 до 80 лет. Всем пациентам была выполнена биопсия предстательной железы с последующей рандомизацией: группа пациентов с верифицированным раком предстательной железы (РПЖ) (n=37) и пациенты с не подтвердившимся онкологическим диагнозом (n=17). Материалом для исследования являлись образцы ткани предстательной железы, полученные при проведении диагностической биопсии.

Для определения уровня экспрессии генов Brn-3 α , AR, ER α , а также компонентов AKT/m-TOR сигнального пути использовались следующие методы: РНК выделяли с помощью набора RNeasy mini Kit, содержащего ДНК-азу I (Qiagen, Germany). Для оценки количества выделенной РНК на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA) оценивали концентрацию и чистоту выделения РНК. Концентрация РНК составила от 80 до 250 нг/мкл, A260/A280=1,95–2,05; A260/A230=1,90–2,31. Целостность РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA) и набора R6K ScreenTape (Agilent Technologies, USA). RIN составил 5,6 – 7,8.

Уровень экспрессии генов оценивали при помощи количественной обратной-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) с использованием красителя SYBR Green на амплификаторе iCycler (Bio-Rad, USA). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора ОТ m-MuLV-RN (БиоЛабмикс, Россия) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией к набору. ПЦР ставили в трех репликах в объеме 25 мкл, содержащем 12,5 мкл БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (БиоЛабмикс, Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров и 50 нг кДНК. Двухшаговая программа амплификации включала 1 цикл – 94 °C, 10 мин – предварительная денатурация; 40 циклов – 1 шаг 94°C, 10 сек и 2 шаг 20 сек – при температуре 60 °C. Праймеры были подобраны с использованием программы Vector NTI Advance 11,5 и базы данных NCBI.

Результаты и их обсуждение. Нами были получены данные об увеличении экспрессии мРНК транскрипционного фактора Brn-3 α в 4,13 раза в ткани РПЖ по сравнению с нормальной тканью простаты. В клетках опухоли предстательной железы происходит увеличение экспрессии данного маркера, что непосредственно влияет на уровень рецепторов стероидных гормонов (ER и AR).

Отмечен рост экспрессии ER α в 30,33 раза в опухолевых клетках по сравнению с нормальной тканью простаты. При этом выявлено, что в обеих группах пациентов определяется высокий уровень мРНК AR. Полученные данные свидетельствуют о том, что для злокачественных опухолей предстательной железы характерно повышение экспрессии как ER α , так и AR. Имеются сведения, что пролиферация опухолевых клеток простаты в условиях *in vitro* происходит под влиянием активирующих сигналов ER α , определяя особенности течения заболевания. Выявленный факт является молекулярной особенностью опухолевых клеток, и его значимость еще предстоит оценить.

При сравнительном анализе экспрессии генов компонентов АКТ/m-TOR сигнального пути в развитии рака предстательной железы отмечена активация данного сигнального каскада, доказательством которой является повышенный уровень экспрессии протеинкиназы АКТ. В ткани рака предстательной железы зафиксировано увеличение этого показателя в 4,9 раза по сравнению с нормальной. Дополнительным доказательством высокой активности АКТ/m-TOR сигнального пути при злокачественных новообразованиях явилось повышение уровня мРНК m-TOR в 8,4 раза. Стоит отметить, что сходные значения уровня фосфатазы PTEN наблюдались как в нормальной ткани, так и при раке предстательной железы.

Дополнительные сведения, подтверждающие связь молекулярных маркеров с наличием патологических изменений в ткани предстательной железы, были получены при проведении корреляционного анализа. Так, при изучении корреляционных зависимостей в нормальной ткани предстательной железы выявлены связи молекулярных показателей с ядерным фактором Bn-3 α . Уровень его экспрессии зависел от мРНК гена 4E-BP1 ($r=0.9$; $p=0.001$) и от мРНК m-TOR ($r=0.8$; $p=0.001$). Также подтверждена значимость AR в развитии предопухолевых заболеваний простаты. Отмечены корреляции между экспрессией AR, экспрессией c-Raf ($r=0.7$; $p=0.001$), 70 S6 киназой ($r=0.95$; $p=0.001$) и PTEN ($r=0.8$; $p=0.014$). Вероятно, повышение экспрессии AR, приводящее к активации АКТ/m-TOR сигнального пути, сочетается с высоким уровнем мРНК PTEN.

В ткани РПЖ отмечена прямая зависимость экспрессии Bn-3 α от уровня мРНК 4EBP1 ($r=0.4$; $p=0.01$) и мРНК AR ($r=0.28$; $p=0.018$). При этом определяется отрицательная зависимость между экспрессией AR и PDK1 в ткани РПЖ ($r=-0.42$; $p=0.001$), а также положительные зависимости между AR, уровнем мРНК c-RAF ($r=0.57$; $p=0.001$) и 70 S6 киназой ($r=0.5$; $p=0.001$). Интересным является факт сопряженности между экспрессией PTEN и AR ($r=0.66$; $p=0.001$), а также Bn-3 α ($r=0.29$; $p=0.001$). Кроме того, с помощью корреляционного анализа было выявлено влияние эстрогеновых рецепторов в ткани РПЖ на уровень активации АКТ/m-TOR сигнального пути, что подтверждается связями между экспрессией ER α и АКТ ($r=0.57$; $p=0.01$), а также с c-RAF ($r=0.57$; $p=0.01$), GSK-3 β ($r=0.40$; $p=0.015$) и PDK1 ($r=0.28$; $p=0.01$).

Выводы. Повышение активности АКТ/m-TOR сигнального каскада, на фоне исходных значений мРНК PTEN, обусловлено влиянием транскрипционного фактора Bn-3 α на уровень экспрессии ER α . Усиление связей между компонентами сигнального пути, рецепторами гормонов и Bn-3 α способствует развитию рака предстательной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Budhram-Mahadeo V., Fujita R., Bitsi S., Sicard P., Heads R. Co-expression of POU4F2/Brn-3b with p53 may be important for controlling expression of pro-apoptotic genes in cardiomyocytes following ischaemic/hypoxic insults. *Cell Death and Disease*. 2014; 5: 1503. doi:10.1038/cddis.2014.452.
2. Diss J.K., Faulkes D.J., Walker M.M., Patel A., Foster C.S., Budhram-Mahadeo V., Djamgoz M.B., Latchman D.S., Berwick D.C. A simple technique for the prediction of interacting proteins reveals a direct Brn-3a-androgen receptor interaction. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 1528615295.
3. Berwick D.C., Diss J.K., Budhram-Mahadeo V.S., Latchman D.S. A simple technique for the prediction of interacting proteins reveals a direct Brn-3a-androgen receptor interaction. *J Biol Chem.* 2010; 285(20): 1528615295. doi: 10.1074/jbc.M109.071456.

СЕКСУАЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ У БОЛЬНЫХ ДГПЖ НА ФОНЕ КОНСЕРВАТИВНОЙ ТЕРАПИИ

Р.А. Грива^{1,2}, С.А. Храмов^{1,2}

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Ростовский научно-исследовательский онкологический институт»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Россия¹

НУЗ «Дорожная клиническая больница» на ст. Ростов-Главный ОАО «РЖД», г. Ростов, Россия²

Аннотация

Влияние консервативной терапии на сексуальную функцию у больных доброкачественной гиперплазией предстательной железы.

Ключевые слова: сексуальная функция, ДГПЖ.

SEXUAL FUNCTION IN PATIENTS WITH BPH ON THE BACKGROUND OF CONSERVATIVE THERAPY

R.A. Griva^{1,2}, S.A. Chramov^{1,2}

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov, Russia¹

NUZ «Road Clinical Hospital» on the station Rostov-Main OAO «Russia's railways», Rostov, Russia²

Abstract

The effect of conservative therapy on sexual function in patients with benign prostatic hyperplasia.

Keywords: sexual function, benign prostatic hyperplasia.

Актуальность. Изучение сексуальной функции у больных ДГПЖ на фоне консервативной терапии (КТ) представляется актуальным [1].

Материал и методы. 104 больным ДГПЖ проводилась КТ (дугастерид 0,5 + тамсулозин 0,4) в течение 6 мес. Больные рандомизированы на 2 группы: 1-я группа – только КТ (n = 72), 2-я группа – КТ + ингибитор ФДЭ по требованию (n = 32). Эффективность лечения оценена с помощью самоанкетирования пациентов. Использовались: опросник возрастных симптомов мужчины AMS (раздел по оценке сексуальной функции), краткий опросник по оценке половой функции BSFI [2], МИЭФ-5. Анкетирование выполнено перед лечением, через 3 и 6 мес терапии.

Результаты. В обеих группах в целом определяются низкие исходные показатели компонентов сексуальной функции пациентов. Через 3 мес КТ в обеих группах выявлено некоторое снижение практически всех показателей или отсутствие в них динамики. В 1-й группе показатели AMS достоверно ухудшились с 10,4±0,7 до 12,9±0,8 баллов (p < 0,03). Через 6 мес в 1-й группе достоверно изменился показатель оценки проблемы с 5,1±0,9 («небольшая проблема») до 9,4±0,9 балла («очень незначительная проблема»), (p < 0,02). Во 2-й группе к 6-му мес по результатам МИЭФ достоверно улучшилась эректильная функция – с 13,7±1,2 до 17,4±2,7 балла (p < 0,02), в BSFI также достоверно возрос эректильный компонент – с 4,5±1,0 до 6,6±1,2 баллов (p < 0,05). Показатели AMS выявили улучшение сексуальной функции пациентов с 13,3±1,0 до 9,0±1,3 балла (p < 0,02).

Выводы. Таким образом, у пациентов с ДГПЖ имеются значительные исходные нарушения сексуальной функции. Ухудшение сексуальной функции на фоне КТ ДГПЖ кратковременно и в целом нивелируется к 6-му мес терапии. Применение и-ФДЭ улучшает эректильную функцию при проведении КТ у больных ДГПЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ефремов Е.А., Мельник Я.И., Охоботов Д.А. Современные аспекты лечения ДГПЖ у сексуально активных пациентов. Эффективная фармакотерапия. Урология и Нефрология. 2008; 4: 1823.
2. O'Leary M.P., Fowler F.J., Lenderking W.R., Barber B., Sagnier P.P., Guess H.A., Barry M.J. A brief male sexual function inventory for urology. Urology. 1995; 46(5): 697706.

УЛЬТРАЗВУКОВЫЕ КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Р.А. Грива, С.А. Храмов

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Ростовский научно-исследовательский онкологический институт»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Россия¹

НУЗ «Дорожная клиническая больница» на ст. Ростов-Главный ОАО «РЖД»,
г. Ростов-на-Дону, Россия²

Аннотация

Консервативная терапия (КТ) – наиболее часто используемый метод лечения больных доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ). Появление современных лекарственных средств привело в 90-х годах прошлого века к существенному снижению числа операций по поводу ДГПЖ [1]. УЗИ простаты (ПЖ) может и должно быть использовано для оценки эффективности КТ [2].

Ключевые слова: ультразвуковые критерии, доброкачественная гиперплазия предстательной железы.

ULTRASOUND CRITERIA OF THE EFFICIENCY OF TREATMENT OF BONE-QUALITY HYPERPLASIA OF THE PROSTATE GLAND

R.A. Griva^{1,2}, S.A. Chramov^{1,2}

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia¹

NUZ «Road Clinical Hospital» on the station Rostov-Main ОАО «Russia's railways»,
Rostov-on-Don, Russia²

Abstract

Conservative therapy (CT) is the most used method of treatment of patients with benign prostatic hyperplasia (BPH). The emergence of modern medicines led in the 90 years of the last century to a significant reduction in the number of operations for BPH [1]. Ultrasound of the prostate (RV) can and should be used to assess the effectiveness of CT [2].

Keywords: ultrasound criteria, benign prostatic hyperplasia.

Актуальность. Изучение изменений в ПЖ методом ТРУЗИ с доплерографией в динамике при проведении 6-месячного курса консервативной терапии (КТ).

Материал и методы. Объектом исследования явились 30 пациентов с СНМП, обусловленных ДГПЖ. Всем больным выполнялось ТРУЗИ простаты с доплерографией перед началом лечения и через 6 мес непрерывного курса терапии дутастеридом (0,5 мг) и тамсулозином (0,4мг в сут). Исследование производилось на ультразвуковой системе Zonare-Ultra, с использованием полостного датчика Е 94 МГц. Оценивались объем ПЖ (V1); объем гиперплазии (V2); скоростные показатели кровотока (Vmax – максимальная скорость, Vmin – минимальная скорость, RI – индекс резистентности) в системе паракапсулярных (ПКА) и парауретральных (ПУА) артерий.

Результаты. Данные ТРУЗИ до начала терапии: V1 – 58,9±8,6 см³, V2 – 28,2±7,7 см³; показатели кровотока в ПКА: Vmax – 15,3±1,0 см/с, Vmin – 4,0±0,3 см/с, RI – 0,68±0,01; показатели кровотока в ПУА: Vmax – 18,3±1,2 см/с, Vmin – 5,1±0,3 см/с, RI – 0,73±0,02. Данные ТРУЗИ после 6 месячного курса терапии: V1 – 45,3±6,0 см³, V2 – 19,2±6,0 см³; показатели кровотока в ПКА: Vmax – 12,7±0,6 см/с, Vmin – 3,0±0,2 см/с, RI – 0,7±0,01; показатели кровотока в ПУА: Vmax – 17,3±2,0 см/с, Vmin – 4,7±0,5 см/с, RI – 0,72±0,02. Таким образом, на фоне КТ отмечается достоверное уменьшение объема ПЖ и объема ее гиперплазии (p=0,05 и 0,04 соответственно), снижение Vmax и Vmin в системе ПКА (p=0,03 и 0,007 соответственно). Изменения линейных параметров кровотока в системе ПУА и RI во всех случаях оказались статистически недостоверными.

Выводы. Использование дутастерида и тамсулозина в терапии ДГПЖ приводит к уменьшению объема ПЖ и объема ее гиперплазии за счет снижения динамических характеристик интраорганного кровотока. Данная проблема требует дальнейшего изучения в динамике КТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аляев Ю., Григорян В., Атмалауханов Р., Шнотъ Е., Лубенников А. Иммуноterapia больных раком предстательной железы: вчера, сегодня, завтра. Врач. 2007; 11: 37-39.
2. Roehrborn C.G., Boyle P., Gould A.L., Waldstreicher J. Serum prostate-specific antigen as a predictor of prostate volume in men with benign prostatic hyperplasia. Urology. 1999; 53(3): 581-589.

ДЛИТЕЛЬНОСТЬ КОНСЕРВАТИВНОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С ДГПЖ

Р.А. Грива^{1,2}, С.А. Храмов^{1,2}

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

г. Ростов-на-Дону, Россия¹

НУЗ «Дорожная клиническая больница», г. Ростов-на-Дону, Россия²

Аннотация

Важным направлением лечения ДГПЖ является усовершенствование консервативной терапии (КТ) заболевания. Медикаментозное лечение по рекомендациям ЕАУ включает в себя применение только препаратов из групп ингибиторов 5 α редуктазы и α адrenoблокаторов. Длительность терапии дутастеридом на настоящий момент четко не определена [1].

Ключевые слова: консервативная терапия, ДГПЖ.

DURATION OF CONSERVATIVE THERAPY IN PATIENTS WITH BPH

R.A. Griva^{1,2}, S.A. Chramov^{1,2}

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia¹

NUZ «Road Clinical Hospital», Rostov-on-Don, Russia²

Abstract

An important area of treatment for BPH is the improvement of conservative therapy (CT) of the disease. Drug treatment according to the recommendations of the EAU includes the use of only drugs from groups of inhibitors of 5 α reductase and α adrenoblockers. The duration of dutasteride therapy is not clearly defined at this time.

Keywords: conservative therapy, BPH.

Актуальность. Изучить возможность проведения коротких курсов КТ – дутастерид+тамсулозин у пациентов с ДГПЖ небольших размеров.

Материал и методы. КТ проводилась 112 больным ДГПЖ в течение 2016– 2017 гг. в Дорожном урологическом центре НУЗ ДКБ ОАО «РЖД» на ст. Ростов-Главный. Выделена группа пациентов (n=14), которым КТ была прекращена после 6 мес лечения, так как у них определялся выраженный регресс симптоматики, значительное уменьшение объема ПЖ и ее гиперплазии. Эффективность лечения оценена с помощью самоанкетирования, инструментальных и лабораторных методов обследования.

Результаты. По результатам анкетирования данные I-PSS достоверно улучшились к 6 мес с 11,1 $\pm$ 1,0 до 2,0 $\pm$ 0,6 балла ($p < 0,009$); QoL с 4,3 $\pm$ 0,3 до 1,0 $\pm$ 0,2 ($p < 0,001$). Результаты МИЭФ достоверно не изменились – с 18 $\pm$ 1,7 до 21,6 $\pm$ 0,9 балла ($p < 0,4$). Урофлоуметрические показатели также улучшились: V max возросла с 17,9 $\pm$ 1,2 мл/сек до 27,9 $\pm$ 2,6 мл/сек ($p < 0,006$); V res – с 335 $\pm$ 50 мл до 419 $\pm$ 27 мл ($p < 0,02$); ПСА у пациентов уменьшился с 2,2 $\pm$ 0,6 до 0,56 $\pm$ 0,17 нг/мл ($p < 0,007$), уровень тестостерона увеличился с 17,2 $\pm$ 1,9 до 22,3 $\pm$ 2,5 нг/мл ($p < 0,045$); По данным ТРУЗИ V простаты уменьшился с 31,7 $\pm$ 2,3 до 24,6 $\pm$ 2,1 ($p < 0,02$); V гиперплазии с 7,2 $\pm$ 1,1 до 3,0 $\pm$ 1,1 ($p < 0,004$); Кровоток в паракапсулярных и парауретральной артериях ПЖ изменился в сторону снижения максимальной ($p < 0,0005$ и $p < 0,05$ соответственно) и минимальной ($p < 0,05$ и $p < 0,008$) скорости.

Выводы. Установлена эффективность шестимесячного курса дутастерида и тамсулозина у определенной группы пациентов с ДГПЖ. Как правило, это пациенты с ПЖ менее 40 куб. см, умеренно выраженными СНМП и молодым возрастом. Применение коротких курсов КТ

в целом не ухудшает эректильную функцию и вызывает изменение гемодинамики в ПЖ, которые становятся значимыми к 6-му мес терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аляев Ю., Григорян В., Атталлауханов Р., Шпоть Е., Лубенников А. Иммунолечение больных раком предстательной железы: вчера, сегодня, завтра. Врач. 2007; 11: 37-39.

ФОРМИРОВАНИЕ ДОЗНОГО ПОЛЯ ЭЛЕКТРОННОГО ПУЧКА С ПОМОЩЬЮ ПЛАСТИКОВОГО КОМПЕНСАТОРА

А.А. Григорьева¹, А.А. Красных¹, И.А. Милойчикова^{1,2}, Ю.М. Черепенников¹, С.Г. Стучебров¹

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск, Россия¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

В работе представлено обоснование применения пластиковых компенсаторов из HIPS-пластика для получения сложного поля при проведении интраоперационной лучевой терапии пучками быстрых моноэнергетических электронов. Показаны результаты использования пластикового компенсатора для формирования поля электронов сложной конфигурации в твердотельном тканезквивалентном фантоме.

Ключевые слова: пучок электронов, распределение дозы, бетатрон, трехмерная печать.

ELECTRON BEAM DOSE FIELD FORMATION BY PLASTIC COMPENSATOR

A.A. Grigoryeva¹, A.A. Krasnykh¹, I.A. Miloichikova^{1,2}, Yu.M. Cherepennikov¹, S.G. Stuchebrov¹

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

The paper demonstrated the possibility to use plastic compensators made of HIPS-plastic for obtaining a dose field with complex form during intraoperative radiotherapy using beams of fast monoenergetic electrons. The results of proof-of-principle experiment to form dose field in a solid-state tissue-equivalent phantom using plastic compensator are shown.

Keywords: electron beam, dose distribution, betatron, three-dimensional printing.

Введение. На сегодняшний день успешно используется интраоперационная лучевая терапия пучками быстрых электронов, которая заключается в подведении к опухоли высокой дозой ионизирующего излучения [1]. При проведении таких процедур существует необходимость формирования сложных полей для облучения новообразований, расположенных близко к критическим органам.

На практике при проведении сеансов интраоперационной лучевой терапии для снижения дозовой нагрузки применяются либо дополнительные фильтры, которые устанавливаются на пути следования пучка, позволяющие сместить объемное распределение дозы в тканях пациента ближе к поверхности, либо дополнительные блоки, помещающиеся в ткани под ложе опухоли, что требует дополнительного хирургического вмешательства [1]. Наличие метода быстрого и точного изготовления изделий сложной формы для формирования пучков электронов позволит избежать вышеописанных недостатков. Таким решением может стать применение методов быстрого прототипирования [2].

Целью работы было исследование возможности применения полимерных компенсаторов, изготовленных с помощью современных технологий трехмерной печати, для задач формирования полей облучения.

Результаты и обсуждение. Для оценки работоспособности данного подхода был проведен ряд экспериментов на выведенном пучке электронов интраоперационного бетатрона МИБ-6Э отделения радиотерапии Научно-исследовательского института онкологии Томского НИМЦ [1]. Были исследованы дозные распределения пучка электронов с энергией 6,0 МэВ для овального аппликатора с размером поля 6×8 см². Форма дозного поля и глубинное распределение дозы определялись с применением дозиметрических пленок GafChromic EBT3 в тканезквивалентном дозиметрическом фантоме PW3 [3, 4].

Для формирования сложного поля облучения был изготовлен полимерный компенсатор из HIP-пластика посредством технологий трехмерной печати. Внешний вид изделия представлен на рис. 1.



Рис. 1. Внешний вид пластикового компенсатора

В ходе исследования были проведены измерения формы дозного поля и глубинного распределения дозы открытого пучка бетатрона и с применением полимерного компенсатора.

На рис. 2 представлены результаты измерения формы дозного поля на глубине 1 см в твердотельном фантоме.

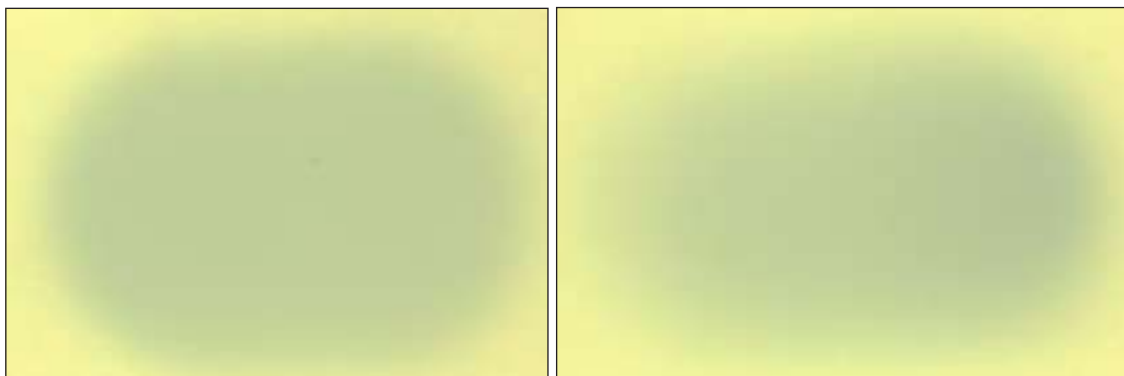


Рис. 2. Форма дозного поля: а – открытый пучок, б – с компенсатором

На рис. 3 показаны глубинные распределения дозы пучка электронов с полимерным компенсатором и без него.

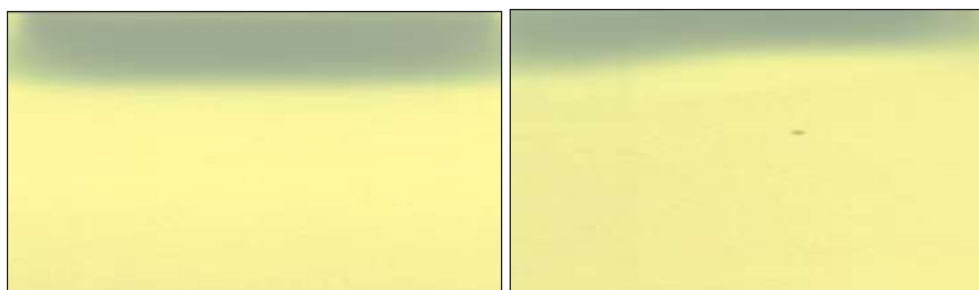


Рис. 3. Глубинное распределение дозы пучка электронов: а – открытый пучок, б – с компенсатором

На рисунках видно влияние компенсатора на распределение дозы в объеме тканезквивалентного фантома.

Заключение. В рамках данного исследования показана возможность применения изделий, изготовленных из HIP-пластика посредством использования технологии трехмерной печати для формирования дозного поля и глубинного распределения дозы пучка электронов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Завьялов А.А., Мусабаева Л.И., Лисин В.А., Чойнзонов Е.Л., Новиков В.А., Коломиец Л.А., Тузиков С.А., Афанасьев С.Г., Дубский С.В., Анисеня И.И., Тюкалов Ю.И., Миллер С.В., Добродеев А.Ю., Чивчиш Л.Н., Нечитайло М.Н., Жеравин А.А. Пятнадцатилетний опыт применения интраоперационной лучевой терапии. Сибирский онкологический журнал. 2004; 23: 7584.
2. Красных А.А., Милойчикова И.А., Стучебров С.Г. Анализ характера взаимодействия электронных пучков с модифицированным АБС-пластиком. Вестник Национального исследовательского ядерного университета МИФИ. 2017; 6(2): 108112. doi: 10.1134/S2304487X17020080.
3. GAFCHROMIC DOSIMETRY MEDIA, TYPE EBT-3. [Электронный ресурс]. URL: http://www.gafchromic.com/documents/EBT3_Specifications.pdf. (дата обращения: 05.02.2018).
4. Твердотельный тканезквивалентный фантом RW3 Slab Phantom. [Электронный ресурс]. URL: <http://epsilonelektronik.com/wp-content/uploads/2015/05/Slab-Phantom-Datasheet.pdf> (дата обращения: 03.02.2018).

СТРАТИФИКАЦИЯ ДАННЫХ ВИТАЛЬНОГО АНАМНЕЗА ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Я.Р. Гузарь

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», г. Абакан, Россия

Аннотация

Выявление колоректального рака (КРР) на ранних стадиях требует формирования когорты пациентов для приоритетного квалифицированного эндоскопического обследования. Возраст является основным независимым фактором риска развития спорадического КРР, для изучения частоты других факторов риска по данным витального анамнеза проведено анкетирование 66 пациентов с диагнозом КРР, установленным по TNM, верифицированным морфологически в соответствии с МКБ-10 пересмотра.

Ключевые слова: колоректальный рак, факторы риска, скрининг.

STRATIFICATION OF DATA OF VITAL HISTORY AMONG THE GROUP OF PATIENTS WITH CRC

I.A. Guzar

Khakas State University of N.F. Katanov, Abakan, Russia

Abstract

Detection of colorectal cancer (CRC) at the early stages requires the formation of the cohort of patients for priority endoscopic examination. Age is a major independent risk factor for sporadic CRC. A survey of 66 patients with a diagnosis of CRC, TNM installed and verified morphologically was conducted to explore the frequency of risk factors according to the vital history.

Keywords: colorectal cancer, factors risk, scrining.

КРР занимает одно из ведущих мест в мире в структуре заболеваемости и смертности от онкологических заболеваний [1]. Патогенез КРР основывается на сумме экзо- и эндогенных многолетних влияний на весь организм, его подсистем и скомпрометированный орган-мишень, прежде всего, его клеточный аппарат и микроокружение, приводящее в конечном итоге к генным мутациям с последующей неконтролируемой клональной экспансией соматических клеток [2]. С увеличением возраста риск развития КРР у формально здорового человека значительно повышается [3].

Исследование проводилось в ГБУЗ Республики Хакасия «Республиканский клинический онкологический диспансер» методом анкетирования пациентов (66 человек) с верифицированным диагнозом КРР для изучения факторов риска по данным витального анамнеза, на основании добровольного информированного согласия (100 %). Изучены: регистрационная карта больного злокачественным новообразованием (ф. 030/ГРР), извещение о больном с впервые в жизни установленным диагнозом рака или другого злокачественного новообразования (ф. 090/у), статистический талон для регистрации заключительных (уточненных)

диагнозов (форма N 025-2/у). Статистическая обработка проводилась в пакете прикладных программ BioStatPro 5.9.8. Применялись непараметрические методы. Достоверность различий между двумя группами пациентов оценивалась с применением критерия соответствия (χ^2) при $p \leq 0,05$.

Среди госпитального контингента с КРР родственников первой и второй степени родства с раком любой локализации имели 39,4 % пациентов, из них наследственность по КРР была подтверждена у 18,2 % пациентов. Ряд пациентов (4,5 %) реализовали наследственный потенциал до появления КРР и имели в анамнезе рак иной локализации (табл. 1).

Таблица 1

Данные витального анамнеза пациентов с КРР по наследственности онкологическими заболеваниями

Возраст пациентов при установлении диагноза КРР	Всего (n = количество пациентов)	Наследственность по КРР (n = количество пациентов)	Наследственность по онкологическим заболеваниям (n = количество пациентов)	Опухоли другой локализации (n = количество пациентов)
Все пациенты	100 % 66	18,2 % (12)	39,4 % (26)	4,5 % (3)
Пациенты до 50 лет	9,1 % (6)	3 % (2)	3 % (2)	0
Пациенты 50 и более лет	90,9 % (60)	15,2 % (10)	36,4 % (24)	4,5 % (3)

Средний возраст мужчин составил 64,03 года, женщин 63,75 года. Доля пациентов с дебютом заболевания до 50 лет составила 9,1 % (в том числе 6 % – женщины, 3,1 % – мужчины). Сопутствующая и фоновая патология среди госпитального контингента с КРР: сахарный диабет (СД) 2 типа выявлен у 15,1 % пациентов, женщин было в 4 раза больше, чем мужчин. Жёлчно-каменная болезнь (ЖКБ) на стадии холецистэктомии имела у 10,6 % пациентов, у женщин в 2,5 раза чаще, чем у мужчин. Все три заболевания одновременно (КРР, СД 2 типа и ЖКБ) выявлены у 6 % пациентов, женщины в 3 раза чаще имели сочетанную патологию по сравнению с мужчинами. Воспалительные заболевания кишечника отмечались в 5 раз чаще у женщин (7,6 %), чем у мужчин (1,5 %), что является статистически значимым ($p < 0,05$) (табл. 2).

Таблица 2

Особенности сопутствующей и фоновой патологии у госпитального контингента с КРР за 2017 г.

Сопутствующая патология	Все пациенты, %	Мужчины, %	Женщины, %	p
Сахарный диабет 2 типа	15,1	3,0	12,1	0,15
ЖКБ, холецистэктомия	10,6	3,0	7,6	0,12
Воспалительные заболевания кишечника	9,1	1,5	7,6	0,05
ЖКБ, холецистэктомия и сахарный диабет 2 типа	6,0	1,5	4,5	0,24

Примечание: p – уровень статистической значимости показателя при сравнении у мужчин и женщин, достоверность статистической значимости различий при $p < 0,05$.

Установлена достоверная связь КРР с предшествующими полипами слизистой оболочки толстой кишки в 40,9 % случаев. Ожирение и избыточная масса тела являлись частым фактором риска (81,3 %) до развития КРР. Среди мужчин статистически значимо чаще диагностировали избыточную массу тела (30,3 %, $p < 0,05$), а среди женщин – ожирение разной степени (33,3 %, $p < 0,05$). Гиподинамия выявлена у 18,9 % пациентов с КРР, мужчины имели этот фактор риска в 5 раз чаще, чем женщины – 15,2 и 3 % соответственно. Среди госпитального контингента курящими были 33,3 % пациентов с КРР, доля мужчин в два раза больше, чем доля женщины – 24,3 % и 12,1 % соответственно. Злоупотребление алкоголем выявлено у 68,2 % пациентов, в том числе у 37,9 % мужчин и 30,3 % женщин (табл. 3).

Таблица 3

Факторы риска развития КРР среди госпитального контингента за 2017 г.

Показатель	Все пациенты		Мужчины		Женщины	
	Абсолютные числа	Доля, %	Абсолютные числа	Доля, %	Абсолютные числа	Доля, %
Гиподинамия	12	18,9	10	15,2	2	3
Курение	22	33,3	16	24,3	8	12,1
Алкоголь	45	68,2	25	37,9	20	30,3

Анамнез является важным фактором отбора пациентов для проведения квалифицированного эндоскопического исследования толстой кишки в диагностике предопухолевой патологии и рака на ранних стадиях развития опухолевого процесса, который указывает на факторы риска и степень их выраженности. В когорту пациентов для приоритетного обследования могут быть включены: мужчины или женщины старше 55 лет, имеющие ожирение или избыточную массу тела, сахарный диабет 2 типа, полипы слизистой оболочки толстой кишки, родственников с КРР или злокачественные образования в анамнезе. Для мужчин также характерно курение и злоупотребление алкоголем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиссов В.И. Онкология: клинические рекомендации. М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2015. 638.
2. Животовский А.С., Кутихин А.Г., Брусина Е.Б., Цитко Е.А. Эпидемиология колоректального рака: обзор факторов риска. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2013; 1(68): 58–64.
3. Практическое руководство Всемирного гастроэнтерологического общества и Международного союза по профилактике рака пищеварительной системы: Скрининг колоректального рака, 2008 [Интернет]. URL: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/colorectal-cancer-screening-russian-2008.pdf> (дата обращения 8.12.2017).

ЭКСПРЕССИЯ МРНК ГЕНОВ ХИМИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КАК ИНДИКАТОР ЭФФЕКТА НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО

И.В. Дерюшева, М.М. Цыганов, Е.О. Родионов, М.К. Ибрагимов

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В среднем частота объективного ответа на неоадьювантную химиотерапию (НХТ) при лечении больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) составляет около 16 %. В этой связи актуальным и перспективным является поиск предсказательных факторов, основанных на экспрессии генов химиочувствительности. Таким образом, **целью работы** явилось изучение связи уровня экспрессии генов химиочувствительности с эффективностью неоадьювантной химиотерапии у больных НМРЛ. **Материал и методы.** В исследование были включены 30 больных НМРЛ IIA – IIIB стадии. Из биопсийного материала нормальной и опухолевой тканей легкого до НХТ выделяли РНК. Уровень экспрессии генов химиочувствительности оценивали при помощи обратнo-транскриптазной количественной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR). **Результаты.** Анализ показателей экспрессии изучаемых генов позволил установить значимые различия в группах больных с разным эффектом НХТ. В 67 % случаев (10/15) отсутствие экспрессии *ERCC1* обуславливает наличие объективного ответа на лечение, по сравнению с группой, где присутствует экспрессия ($p < 0,05$). Наличие низкого (менее 0,2) и высокого (более 1,2) уровня экспрессии *BRCA1* сопряжено с низкими показателями эффективности НХТ, по сравнению с группой больных, чей уровень находился в пределах нижней и верхней границы тертилей.

Ключевые слова: неоадьювантная химиотерапия, немелкоклеточный рак легкого, гены химиочувствительности, экспрессия генов, ответ на химиотерапию.

MRNA EXPRESSION OF CHEMOSENSITIVITY GENES AS A PREDICTOR OF RESPONSE TO NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER

I.V. Deryusheva, M.M. Tsyganov, E.O. Rodionov, M.K. Ibragimova

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The objective response rate to neoadjuvant chemotherapy (NAC) in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) is approximately 16 %. Therefore, the search for new predictive factors and markers that could precisely predict the NAC response and be relevant to the choice of the adequate treatment policy is of utmost importance. The purpose of the study was to analyze the relationship between the expression levels of chemosensitivity genes and NAC response in patients with non-small cell lung cancer. The study included 30 patients with stage IIA-IIIb NSCLC. Total RNA was isolated from normal and tumor lung tissue samples prior to NAC. The expression level of chemosensitivity genes was evaluated by real-time reverse transcriptase quantitative PCR (RT-qPCR). A significant difference in the expression levels of the studied genes between patients with different NAC response was found. The objective response to therapy was observed in 67 % (10/15) of patients having no ERCC1 expression compared to those with ERCC1 expression ($p < 0.05$). Low (less than 0.2) and high (more than 1.2) BRCA1 expression levels were associated with low rates of NAC response compared with patients whose expression level was between the lower and upper quartiles.

Keywords: non-small cell lung cancer, neoadjuvant chemotherapy, chemotherapy efficacy, chemosensitivity genes, gene expression.

Актуальность. Частота объективного ответа на неоадьювантную химиотерапию при лечении пациентов с НМРЛ остается сравнительно невысокой. Исходя из этого, основным трендом в современной онкологии является понимание молекулярно-биологических изменений в опухоли, поиск их ассоциаций с эффективностью лечения и прогнозом заболевания. Так, при немелкоклеточном раке легкого ключевыми генами химиочувствительности являются *BRCA1*, *RRM1* и др., которые определяют резистентность/чувствительность опухолевых клеток к отдельным химиопрепаратам. Таким образом, целью данной работы явилось изучение связи уровня экспрессии генов химиочувствительности с эффективностью неоадьювантной химиотерапии у больных немелкоклеточным раком легкого.

Материал и методы. В исследование были включены 30 больных НМРЛ IIA – IIIB стадии, центральной или периферической локализации с морфологически верифицированным диагнозом. Всем пациентам проводилось 2 курса НХТ по схеме винорелбин /карбоплатин с последующей оценкой эффекта по шкале RECIST. После НХТ пациентам проводилась операция, затем 3 курса адьювантной химиотерапии (АХТ) по схеме винорелбин/карбоплатин. В качестве исследуемого материала был использован биопсийный материал нормальной и опухолевой ткани (~10 мм³) легкого. РНК выделяли из 30 парных образцов нормальной ткани легкого и опухоли, с помощью набора RNeasy Plus mini Kit (Qiagen, Germany) в соответствии с инструкцией производителя. Уровень экспрессии генов химиочувствительности *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TUBB3*, *TYMS*, *GSTP1* оценивали при помощи обратной транскриптазной количественной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 8.0».

Результаты и обсуждение. Важно отметить, что экспрессия мРНК является вариабельной величиной, поэтому для более точного определения связи экспрессии генов химиочувствительности с эффектом НХТ при помощи статистического анализа пациенты были разделены на тертили (рис. 1).

Для *ERCC1* было установлено, что отсутствие экспрессии данного гена в опухоли легкого до начала проведения НХТ в 67 % случаев (10/15) обуславливает наличие объективного ответа на лечение, по сравнению с группой, где присутствует экспрессия (группа экспрессии от 0 до 0.4, $p=0.06$, и группа экспрессии более 0.4, при $p=0.02$). Подобный результат был получен при анализе экспрессии гена *GSTP1*. Согласно нашим результатам, наличие в опухоли уровня *GSTP1* выше 1,0 сопряжено с низкой эффективностью НХТ (80 % пациентов

со стабилизацией; 8 случаев из 10), по сравнению с группой больных с низким уровнем экспрессии данного гена (менее 0,4), у которых в 83 % случаев наблюдается объективный ответ на лечение. Далее нами было установлено, что наибольшая эффективность НХТ наблюдается в группе больных со средним значением (группа 0,3–1,0) экспрессии гена *RRM1*. В 10 случаях из 12 (83 %) показан хороший ответ на лечение, по сравнению с группой экспрессии более 1 ($p=0,04$).

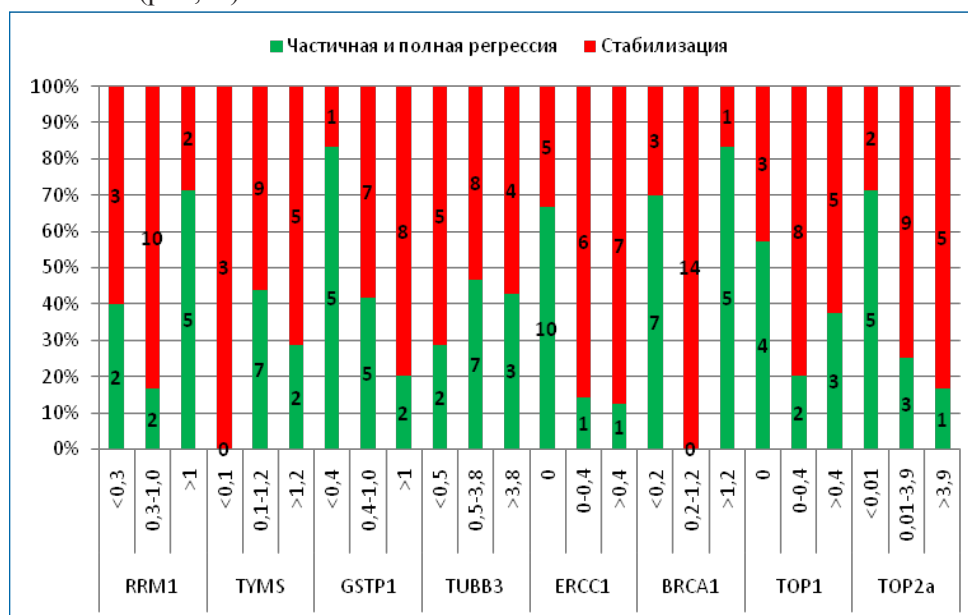


Рис. 1. Ответ на неoadъювантную химиотерапию в зависимости от групп экспрессии генов химиочувствительности

Для *ERCC1* было установлено, что отсутствие экспрессии данного гена в опухоли легкого до начала проведения НХТ в 67 % случаев (10/15) обуславливает наличие объективного ответа на лечение, по сравнению с группой, где присутствует экспрессия (группа экспрессии от 0 до 0,4, $p=0,06$, и группа экспрессии более 0,4, при $p=0,02$). Подобный результат был получен при анализе экспрессии гена *GSTP1*. Согласно нашим результатам, наличие в опухоли уровня *GSTP1* выше 1,0 сопряжено с низкой эффективностью НХТ (80 % пациентов со стабилизацией; 8 случаев из 10), по сравнению с группой больных с низким уровнем экспрессии данного гена (менее 0,4), у которых в 83 % случаев наблюдается объективный ответ на лечение. Далее нами было установлено, что наибольшая эффективность НХТ наблюдается в группе больных со средним значением (группа 0,3–1,0) экспрессии гена *RRM1*. В 10 случаях из 12 (83 %) показан хороший ответ на лечение, по сравнению с группой экспрессии более 1 ($p=0,04$).

Интересный результат был получен для гена *BRCA1*, было показано, что наличие низкого (менее 0,2) и высокого (более 1,2) уровня экспрессии сопряжено с низкими показателями эффективности НХТ, по сравнению с группой больных, чей уровень находился в пределах нижней и верхней границы тертилей.

Выводы. В настоящем исследовании была изучена экспрессия генов химиочувствительности *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TUBB3*, *TYMS*, *GSTP1* в опухолевой ткани легкого до проведения неoadъювантной химиотерапии и оценена связь с эффективностью лечения. Анализ полученных результатов позволил установить значимые различия в эффективности лечения в группах больных с разным уровнем экспрессии *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1* и *GSTP1*. Исследование продолжается.

БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ ЕСПФ С ЦЕЛЮ ПОИСКА МАРКЕРОВ СИРР+ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

А.А. Дмитриев, Р.О. Новаковский

ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, г. Москва, Россия

Аннотация

Инактивация генов-супрессоров опухолевого роста – ключевое событие, необходимое для трансформации нормальной эпителиальной клетки в злокачественную опухоль. Одним из основных механизмов, приводящих к подавлению экспрессии генов-супрессоров, является гиперметилирование их промоторных областей. Фенотип опухоли, для которого характерно плотное гиперметилирование регуляторных областей одновременно многих генов, был назван CIMP+ (CpG island methylator phenotype). Определение таких опухолей необходимо для прогностики заболевания и назначения оптимальной схемы лечения. Выявить CIMP+ опухоли возможно только с использованием молекулярно-генетических методов исследования, однако до сих пор нет надежных маркеров этого фенотипа, которые можно было бы применять в широкой клинической практике. Нами разработан скоринг, который посредством биоинформатического анализа метиломных и транскриптомных данных проекта The Cancer Genome Atlas (TCGA), а также других ресурсов позволяет определять потенциальные маркеры CIMP+ эпителиальных опухолей различных локализаций.

Ключевые слова: CIMP+, эпителиальные опухоли, TCGA, метилирование ДНК, гены-супрессоры опухолевого роста.

THE BIOINFORMATICS ANALYSIS OF TCGA PROJECT DATA AIMED TO SEARCH FOR CIMP+ MARKERS OF EPITELIAL TUMORS

A.A. Dmitriev, R.O. Novakovskiy

Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Abstract

Inactivation of tumor suppressor genes is a key event necessary for the transformation of a normal epithelial cell into a malignant tumor one. One of the main mechanisms leading to the suppression of tumor suppressor genes is the hypermethylation of their promoter regions. The tumor phenotype, which is characterized by dense hypermethylation of regulatory regions of many genes simultaneously, was called CIMP+ (CpG island methylator phenotype). Identification of such tumors is necessary for prognosis of the disease and prescription of an optimal treatment regimen. CIMP+ tumors can only be detected with molecular genetic methods, but there are still no reliable markers of this phenotype that can be used in a wide clinical practice. We have developed the scoring that, through bioinformatics analysis of methylomic and transcriptomic data of The Cancer Genome Atlas (TCGA) project and other resources, allows identification of potential markers of CIMP+ epithelial tumors of different localizations.

Keywords: CIMP+, epithelial tumors, TCGA, DNA methylation, tumor suppressor genes.

Актуальность. CIMP+ (CpG island methylator phenotype) опухоли, характеризующиеся эпигенетической нестабильностью, впервые были выделены в отдельную группу при исследовании рака толстой кишки [1]. Выявить такие опухоли можно только с помощью молекулярно-генетических исследований, их отличительной чертой является высокий уровень метилирования промоторных областей одновременно многих генов. Определение CIMP+ опухолей необходимо для прогностики заболевания, а для лечения пациентов с такими опухолями разрабатываются специфичные эффективные схемы [2]. В последнее время всё больше свидетельств приводится в пользу существования CIMP+ группы опухолей и при других видах рака [3, 4], однако до сих пор нет надежных маркеров, которые можно было бы широко использовать в клинической практике [5].

Материал и методы. Разработка скоринга для выявления потенциальных маркеров CIMP+ опухолей велась с использованием созданного нами ранее приложения CrossHub [6], которое позволяет проводить совместный анализ данных проектов The Cancer Genome Atlas (TCGA), Encyclopedia of DNA Elements (ENCODE), Gene Ontology (GO), а также баз данных и предсказательных алгоритмов по взаимодействию микроРНК с мРНК и транскрипционных факторов с регуляторными областями генома. Для создания скоринга использовались в первую очередь данные проекта TCGA. Этот проект посвящен широкомасштабному исследованию молекулярно-генетических характеристик опухолей различных локализаций

и предоставляет для свободного пользования геномные, транскриптомные и метиломные данные для тысяч образцов десятков видов рака.

Результаты. Для определения группы CIMP+ опухолей проанализировали метиломные данные проекта TCGA и обнаружили, что наиболее ярко группа CIMP+ выделяется при анализе 80, 85, 90 и 95 перцентилей уровня метилирования по всем промоторным CpG-сайтам. Метиломные данные получены проектом TCGA с помощью микрочипов Illumina Infinium HumanMethylation450K, которые позволяют одновременно определять уровень метилирования более чем 450 тысяч CpG-сайтов генома. Ассоциацию CpG-сайта с промоторной областью гена устанавливали по данным проекта ENCODE. Далее разработали критерии, которым должен удовлетворять CpG-сайт, чтобы уровень его метилирования мог быть использован в качестве маркера CIMP+ опухолей: 1) уровень метилирования CpG-сайта должен быть ассоциирован с общим уровнем метилирования промоторных областей генома, а именно средним между 80, 85, 90 и 95 перцентильями, т.е. с CIMP+ опухолями; 2) уровень метилирования CpG-сайта должен варьировать в широких пределах в опухолевых образцах, чтобы можно было разграничить группу CIMP+ опухолей от не CIMP+; 3) уровень метилирования CpG-сайта должен быть высоким в CIMP+ опухолях и низким в гистологически нормальных тканях, чтобы исключить ложноположительные результаты; 4) метилирование CpG-сайта должно быть функциональным, т.е. сайт должен находиться в промоторной области, а его гиперметилирование ассоциировано со значительным подавлением экспрессии соответствующего гена. В анализ включили виды рака, для которых в TCGA представлено репрезентативное число опухолевых и парных к ним гистологически нормальных образцов, такие как рак молочной железы, легкого, толстой кишки. В результате анализа для каждого из исследованных видов рака получили рейтинг CpG-сайтов – потенциальных маркеров CIMP+ опухолей и определили гены, сразу для нескольких CpG-сайтов которых получен высокий рейтинг.

Выводы. На основе приложения CrossHub и данных проектов TCGA и ENCODE разработан скоринг, позволяющий определять CpG-сайты промоторных областей генов, которые являются наиболее перспективными маркерами CIMP+ эпителиальных опухолей различных локализаций. Для оценки надежности предложенных с использованием скоринга маркеров необходимы дальнейшие исследования на независимых выборках первичных опухолей.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (тема № 01201363819)

ЛИТЕРАТУРА

1. Toyota M., Ahuja N., Ohe-Toyota M., Herman J.G., Baylin S.B., Issa J.P. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999; 96(15): 8681–6.
2. Suzuki H., Yamamoto E., Maruyama R., Niinuma T., Kai M. Biological significance of the CpG island methylator phenotype. *Biochemical and biophysical research communications*. 2014; 455(1–2): 35–42. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.07.007.
3. Dmitriev A.A., Kashuba V.I., Haraldson K., Senchenko V.N., Pavlova T.V., Kudryavtseva A.V., Anedchenko E.A., Krasnov G.S., Pronina I.V., Loginov V.I., Kondratieva T.T., Kazubskaya T.P., Braga E.A., Yenamandra S.P., Ignatjev I., Ernberg I., Klein G., Lerman M.I., Zabarovsky E.R. Genetic and epigenetic analysis of non-small cell lung cancer with Nottl-microarrays. *Epigenetics*. 2012; 7(5): 502–13. doi: 10.4161/epi.19801.
4. Wang H., Yan W., Zhang S., Gu Y., Wang Y., Wei Y., Liu H., Wang F., Wu Q., Zhang Y. Survival differences of CIMP subtypes integrated with CNA information in human breast cancer. *Oncotarget*. 2017; 8(30): 48807–19. doi: 10.18632/oncotarget.16178.
5. Hughes L.A., Melotte V., de Schrijver J., de Maat M., Smit V.T., Bovee J.V., French P.J., van den Brandt P.A., Schouten L.J., de Meyer T., van Criekinge W., Ahuja N., Herman J.G., Weijenberg M.P., van Engeland M. The CpG island methylator phenotype: what's in a name? *Cancer research*. 2013; 73(19): 5858–68. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4306.
6. Krasnov G.S., Dmitriev A.A., Melnikova N.V., Zaretsky A.R., Nasedkina T.V., Zasedatelev A.S., Senchenko V.N., Kudryavtseva A.V. CrossHub: a tool for multi-way analysis of The Cancer Genome Atlas (TCGA) in the context of gene expression regulation mechanisms. *Nucleic acids research*. 2016; 44(7): e62. doi: 10.1093/nar/gkv1478.

КИСТОЗНЫЕ ОБРАЗОВАНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: ЗНАЧЕНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ЭЛАСТОГРАФИИ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Е.С. Дроздов

Областное государственное автономное учреждение здравоохранения
«Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия

Аннотация

Цель исследования – оценить эффективность ультразвуковой эластографии в дифференциальной диагностике кистозных образований поджелудочной железы. Обследовано 70 пациентов с кистозными образованиями поджелудочной железы. Структура клинических форм: цистаденома – 9 (в т.ч. серозная цистаденома – 2, муцинозная цистаденома – 2, муцинозная цистаденокарцинома – 5), псевдокиста – 61. Проводилось сравнение эффективности дифференциальной диагностики кистозных образований поджелудочной железы при помощи трансабдоминального ультразвукового обследования и ультразвуковой эластографии. Определены показатели ультразвуковой эластографии для различных видов кистозных образований поджелудочной железы. Чувствительность, специфичность, прогностичность положительного результата, прогностичность отрицательного результата, общая точность методики составили соответственно 97 %, 75 %, 74 %, 97 % и 84 %. Значение AUC (площадь, ограниченная ROC-кривой) для ультразвуковой эластографии составляет 0,93 ($p=0,028$). Показано превосходство методики эластографии над стандартным трансабдоминальным ультразвуковым исследованием в дифференциальной диагностике кистозных образований поджелудочной железы. Ультразвуковая эластография является эффективным, не инвазивным методом дифференциальной диагностики кистозных образований поджелудочной железы и может быть широко применена в клинической практике.

Ключевые слова: эластография, дифференциальная диагностика, кисты поджелудочной железы.

PANCREATIC CYSTIC LESIONS: SIGNIFICANCE OF ULTRASONIC ELASTOGRAPHY IN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS

E.S. Drozdov

State Regional Budget Health Care Institution «Tomsk Regional Oncology Center», Tomsk, Russia

Abstract

Aim. Evaluate the effectiveness of ultrasonic elastography in the differential diagnosis of pancreatic cystic lesions. **Materials and methods.** Seventy patients pancreatic cystic lesions were examined. Structure of clinical forms: serous cystadenoma-2, mucinous cystadenoma-2, mucinous cystadenocarcinoma-2, highly differentiated endocrine functionally inactive cystic tumor-1, solid pseudopapillary tumor-1, mixed sero-neuroendocrine neoplasia-1, pseudocyst-61. **diagnosis** of cystic pancreatic formations with the help of transabdominal ultrasound examination (with 3D reconstruction) and ultrasonic elastography. **Results.** The parameters of ultrasonic elastography for various types of cystic pancreatic formations were determined. Sensitivity, specificity, prognosticity of the positive result, predictability of the negative result, the overall accuracy of the technique were 97 %, 75 %, 74 %, 97 % and 84 %, respectively. The AUC value (the area bounded by the ROC curve) for ultrasonic elastography is 0.93 ($P = 0.028$). The superiority of the elastography technique over the standard transabdominal ultrasound in differential diagnosis of cystic pancreatic formations. **Conclusions.** Ultrasonic elastography is an effective, non-invasive method of differential diagnosis of cystic pancreatic formations and can be widely used in clinical practice.

Keywords: elastography, differential diagnosis, pancreatic cysts.

Актуальность. На протяжении последних 20 лет отмечается рост частоты встречаемости кистозных образований поджелудочной железы (КПЖ), что, вероятнее всего, обусловлено усовершенствованием диагностических методик визуализации и увеличением среднего возраста населения [1]. При этом частота выявляемости КПЖ составляет 2–3 % при выполнении компьютерной томографии (КТ), 13–45 % при магнитно-резонансной томографии (МРТ) и 24 % при аутопсии. Некоторые виды кист обладают потенциалом к малигнизации, в редких случаях встречаются первично злокачественные кистозные образования [2].

По мнению ряда авторов, не существует «универсальной» методики дифференциальной диагностики кистозных образований поджелудочной железы [3, 4]. Вместе с тем отсутствие четких критериев дифференцировки характера кисты до операции может привести к выбору неправильной тактики, выполнению повторных вмешательств или, наоборот, задержке радикального лечения и, как следствие, к запущенности опухолевого процесса [5–7].

В последние годы все более широко используется новый метод – ультразвуковая эластография, позволяющая оценить степень деформации и жесткость тканей в зоне интереса в процессе обычного ультразвукового исследования. Следует отметить, что эластография

характеризуется рядом преимуществ, среди которых меньшая операторзависимость и хорошая воспроизводимость [8]. **Цель исследования** – оценка возможностей метода ультразвуковой эластографии в дифференциальной диагностике кистозных образований поджелудочной железы различной этиологии.

Материал и методы. В исследование включено 70 пациентов с кистозными образованиями поджелудочной железы различной этиологии, проходивших обследование и лечение в ОГАУЗ «Медицинский центр им. Г.К. Жерлова» (г. Северск, Томская обл.), в том числе 31 (44,3 %) мужчина и 39 (55,7 %) женщин, в возрасте от 26 до 75 лет ($48,9 \pm 1,9$ лет). Структура клинических форм: цистаденома – 9 (в т.ч. серозная цистаденома – 2, муцинозная цистаденома – 2, муцинозная цистаденокарцинома – 5), псевдокиста – 61. Всем пациентам выполняли комплексное обследование, с 2015 г. в перечень обследований была включена компрессионная эластометрия и эластография сдвиговой волной.

Исследование выполняли натощак, после стандартного ультразвукового осмотра органов брюшной полости в серошкальном и доплерографическом режимах на аппарате Aplio – 500 (Toshiba, Япония). Эластографию у всех пациентов выполняли с помощью конвексного датчика C1-6 МГц. Датчик располагали перпендикулярно поверхности тела с минимальным мануальным давлением. Зону опроса устанавливали последовательно в области головки, тела, хвоста. После выбора области интереса с целью стабилизации изображения производилась фиксация положения руки на 4–6 с. В каждой зоне проводили 5–10-кратное измерение сначала в режиме компрессионной эластометрии, затем пациенту предлагали выпить 200,0–400,0 мл дегазированной жидкости для получения достаточного акустического доступа к поджелудочной железе и выполняли измерения в режиме эластографии сдвиговой волной. Качественная оценка, в результате математического анализа, эластичность тканей на экране отображалась определенными цветами (цветовое картирование). Оптимизация производилась изменением степени компрессии, карты окрашивания, динамического диапазона и продолжительности персистенции.

Количественную оценку жесткости тканей (измерение модуля Юнга) или скорость сдвиговой волны проводили в зонах интереса (внутри образования, на границе с неизменной тканью и в неизменной ткани поджелудочной железы) (рис. 1), производили оценку следующих показателей: 1) среднее значение (Ave) – м/с или кПа; 2) стандартное отклонение (SD); 3) коэффициент соотношения показателей тангентной и рефферентных зон (Ratio).

Результаты. Значения модуля Юнга в псевдокисте составили в среднем $16 \pm 2,27$ кПа, коэффициент соотношения $2,4 \pm 0,72$; при серозной цистаденоме коэффициент жесткости был выше – $30 \pm 7,4$ кПа, а коэффициент соотношения, напротив, был меньше – $1,3 \pm 0,86$. Для муцинозной цистаденомы характерным было повышение и коэффициента жесткости ($78,5 \pm 11,6$ кПа), и коэффициента соотношения ($3,2 \pm 0,55$). Максимальные показатели коэффициента жесткости ($100 \pm 10,6$ кПа) и коэффициента соотношения ($8 \pm 1,9$) были характерны для цистаденокарциномы. Таким образом, при коэффициенте соотношения < 5 ед. – наиболее вероятно наличие у пациента доброкачественного процесса; в случае, когда коэффициент соотношения превышает 5, следует думать о злокачественном процессе. Чувствительность, специфичность, прогностичность положительного результата, прогностичность отрицательного результата, общая точность ультразвукового исследования и ультразвуковой эластографии составили соответственно 83 %, 40 %, 55 %, 94 %, 64 % и 97 %, 75 %, 74 %, 97 %, 84 % ($p=0,0001$). Проверка гипотезы по соответствию полученных данных разработанным критериям диагностики осуществлялась построением ROC-кривой и расчетом площади под кривой — AUC. Значение AUC для трансабдоминального УЗ исследования и эластографии составляют 0,76 и 0,92 соответственно ($p=0,028$). Эти результаты показывают превосходство эластографии над УЗ исследованием в дифференциальной диагностике кистозных образований поджелудочной железы.

Выводы. Таким образом, первый опыт применения ультразвуковой эластографии позволяет сделать выводы о высокой степени достоверности определения этиологии кистозных образований поджелудочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fernandez-del Castillo C., Targarona J., Thayer S.P., Rattner D.W., Brugge W.R., Warshaw A.L. Incidental pancreatic cysts: clinicopathologic characteristics and comparison with symptomatic patients. *Archives of Surgery* 2003; 138(4): 427–434. doi: 10.1001/archsurg.138.4.427.
2. Laffan T.A., Horton K.M., Klein A.P., Berlanstein B., Siegelman S.S., Kawamoto S., Johnson P.T., Fishman E.K., Hruban R.H. Prevalence of unsuspected pancreatic cysts on MDCT. *American Journal of Roentgenology*. 2008; 191(3): 802–807. doi: 10.2214/AJR.07.3340.
3. Quan S.Y., Visser B.C., Poultides G.A., Norton J.A., Chen A.M., Banerjee S., Friedland S., Park W.G. Predictive factors for surgery among patients with pancreatic cysts in the absence of high-risk features for malignancy. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2015; 19(6): 1101–1105. doi: 10.1007/s11605-015-2786-3.

4. Farrell J.J. Prevalence, diagnosis and management of pancreatic cystic neoplasms: current status and future directions. *Gut Liver*. 2015; 9: 571–589. doi: 10.5009/gnl15063.
5. Hutchins G.F., Draganov P.V. Cystic neoplasms of the pancreas: a diagnostic challenge. *World J Gastroenterol*. 2009; 15(1): 48–54. doi: 10.3748/wjg.15.48.
6. Plichta J.K., Brosius J.A., Pappas S.G., Abood G.J., Aranha G.V. The changing spectrum of surgically treated cystic neoplasms of the pancreas. *HPB Surgery*. 2015; 2015. doi: 10.1155/2015/791704.
7. Морозова А.Г., Борсуков А.В., Мамошин А.В. Комплексная эластография печени и поджелудочной железы. *Медицинская визуализация*. 2015; (3): 75–83.
8. Itoh A., Ueno E., Tohno E., Kamma H., Takahashi H., Shiina T., Yamakawa M., Matsumura T. Breast disease: clinical application of US elastography for diagnosis. *Radiology*. 2006; 239(2): 341–350. doi:10.1148/radiol.2391041676.

АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ КОМПОНЕНТОВ TGF- β 1 СИГНАЛЬНОГО ПУТИ И ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ БЕЛКОВ АКТ(P473), PTEN С ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ТЕРАПИИ ТАМОКСИФЕНОМ У БОЛЬНЫХ ЛЮМИНАЛЬНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Т.А. Дронова^{1,2}, С.В. Паталяк¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»,
г. Томск, Россия²

Аннотация

Молекулярные механизмы чувствительности/резистентности к терапии тамоксифеном определяются взаимодействием внутриклеточных сигнальных каскадов рецепторов факторов роста с эстрогеновыми рецепторами. **Целью** данного исследования явилось изучение связи белковой и генной экспрессии рецепторов трансформирующего фактора роста бета I и II типов (TGF- β R1, TGF- β R2), протеинкиназы B (Akt(p473)), фосфатазы PTEN и функционально значимых полиморфных вариантов их генов с эффективностью адъювантной терапии тамоксифеном у больных люминальным раком молочной железы (РМЖ). Полученные в результате исследования данные позволяют рассматривать уровень экспрессии Akt(p473) и TGF- β R1, а также полиморфизм гена TGF- β R2 (rs2228048) в качестве маркеров с потенциальной прогностической значимостью в отношении ответа на тамоксифен.

Ключевые слова: люминальный рак молочной железы, тамоксифен, рецепторы трансформирующего фактора роста бета, внутриклеточные белки.

ANALYSIS OF THE TGF- β 1 SIGNALING COMPONENTS AND AKT (P473), PTEN PROTEINS THE TAMOXIFEN EFFECACY IN LUMINAL BREAST CANCER PATIENTS

Т.А. Dronova^{1,2}, S.V. Patalyak¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia¹
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

Molecular mechanisms of sensitivity/resistance to tamoxifen threatment are determined by the interaction of growth factor receptors signaling with estrogen receptors. The aim of this study was to examine the relationship between the protein and gene expression of transforming growth factor beta receptors types I and II (TGF- β R1, TGF- β R2), protein kinase B (Akt (p473)), PTEN phosphatase and their polymorphisms with the tamoxifen efficacy in luminal breast cancer patients. Our data allow considering the Akt (p473) and TGF- β R1 gene/protein expression, as well as TGF- β R2 (rs2228048) polymorphism as markers with potential prognostic significance with respect to tamoxifen response.

Keywords: luminal breast cancer, tamoxifen, transforming growth factor receptors beta, intracellular proteins.

Участие белков семейства трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) в развитии и поддержании гормональной резистентности обусловлено взаимодействием TGF- $\beta 1$ -сигнального пути с эстрогеновыми рецепторами. Реализация такого взаимодействия возможна посредством как классических Smad-зависимых механизмов, так и с участием белков PI3K/Akt/mTOR-сигнального каскада [1]. Однако вклад компонентов TGF- $\beta 1$ -сигнального каскада во взаимосвязи с внутриклеточными белками Akt1 и PTEN в эффективность гормональной терапии тамоксифеном у больных раком молочной железы остается малоизученным.

Целью исследования явилось изучение связи белковой и генной экспрессии рецепторов TGF- $\beta R1$, TGF- $\beta R2$, внутриклеточных белков Akt(p473) и PTEN, а также полиморфных вариантов их генов с эффективностью адъювантной терапии тамоксифеном у больных люминальным РМЖ.

Согласно отдаленным результатам лечения, 27 пациенток имели прогрессирование заболевания на фоне приема тамоксифена (тамоксифен-резистентная группа), 95 больных составили группу без признаков прогрессирования (тамоксифен-чувствительная группа). Уровень экспрессии мРНК генов TGF- $\beta R1$, TGF- $\beta R2$, Akt1, PTEN, их полиморфизмов TGF- $\beta R1$ (rs334354), TGF- $\beta R2$ (rs2228048), Akt1(rs1130233), PTEN(rs11202592) изучен с помощью ПЦР в режиме реального времени. Уровень белковой экспрессии TGF- $\beta R1$, Akt(p473) и PTEN оценивался иммуногистохимическим методом.

Изучение взаимосвязи исследуемых маркеров с эффективностью адъювантной терапии тамоксифеном было проведено в общей группе больных РМЖ, а также в группах пациенток с люминальным А и В подтипом опухоли. Высокая частота встречаемости дикого генотипа гена TGF- $\beta R2$ (rs2228048) была характерна как для тамоксифен-чувствительных больных общей группы ($p=0,045$), так и люминального А подтипа ($p=0,040$).

Анализ экспрессии мРНК исследуемых генов показал, что у пациенток тамоксифен-чувствительной группы уровень экспрессии гена TGF- $\beta R1$ значимо выше по сравнению с тамоксифен-резистентной группой больных. Различия оказались значимы только для общей группы больных, вне зависимости от молекулярного подтипа ($p=0,040$). Выявлена ассоциация высокого уровня белковой экспрессии TGF- $\beta R1$ с чувствительностью к гормональной терапии у больных люминальным В подтипом РМЖ ($p=0,052$).

В отношении экспрессии фосфорилированной формы белка Akt1 показано, что у пациенток с прогрессированием заболевания всех трех рассматриваемых групп уровень экспрессии Akt(p473) значимо выше по сравнению с больными, имеющими благоприятный исход РМЖ ($p=0,048$; $p=0,000$ и $p=0,007$; соответственно). Выявлена положительная корреляционная связь между уровнем экспрессии мРНК гена TGF- $\beta R1$ и уровнем экспрессии гена Akt1 ($r=0,358$; $p=0,021$). Подобная корреляционная зависимость была выявлена и для белковых продуктов данных генов ($r=0,557$; $p=0,000$). Показано, что уровень экспрессии мРНК Akt1 коррелировал с полиморфными вариантами гена Akt1 (rs1130233) ($r=-0,338$; $p=0,030$).

Проведенное исследование позволило выявить особенности полиморфного статуса и экспрессии молекулярно-генетических маркеров, связанных с TGF- $\beta 1$ -сигнальным путем при разных подтипах эстроген-зависимого РМЖ. Уровень экспрессии Akt(p473) и TGF- $\beta R1$, а также полиморфизм гена TGF- $\beta R2$ (rs2228048), могут являться маркерами с потенциальной прогностической значимостью в отношении ответа на тамоксифен.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lamouille S., Derynck R. Cell size and invasion in TGF-beta-induced epithelial to mesenchymal transition is regulated by activation of the mTOR pathway. J Cell Biol. 2007 Jul 30; 178(3): 43751. doi:10.1083/jcb.200611146.

ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ В ОПРЕДЕЛЕНИИ РОЛИ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ МАММОГРАФИИ С ДИНАМИЧЕСКИМ КОНТРАСТИРОВАНИЕМ ДО И ПОСЛЕ ЛИПОФИЛИНГА

Н.С. Дубровская, О.Н. Чернова, А.В. Важенин, В.С. Васильев

ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины», г. Челябинск, Россия

Аннотация

Целью исследования явилось определение роли магнитно-резонансной маммографии с динамическим контрастированием до и после липофилинга. В работе выявлены возможности и ограничения магнитно-резонансной маммографии, возможные послеоперационные осложнения, разработан диагностический алгоритм диспансерного наблюдения пациенток до и после липофилинга.

Ключевые слова: магнитно-резонансная маммография, липофилинг, послеоперационные осложнения.

FIRST RESULTS IN DEFINING THE ROLE OF MAGNETIC RESONANCE MAMMOGRAPHY WITH DYNAMIC CONTRAST ENHANCEMENT BEFORE AND AFTER LIPOFILLING

N.S. Dubrovskaya, O.N. Chernova, A.V. Vazhenin, V.S. Vasilev

Chelyabinsk Regional Clinical Center for Oncology and Nuclear Medicine, Chelyabinsk, Russia

Abstract

The aim of the study was to define the role of magnetic resonance mammography with dynamic contrast enhancement before and after lipofilling. In the survey there had been elicited facilities and limitations of magnetic resonance mammography, possible postoperative complications, also diagnostic algorithm of dispensary supervision had been developed.

Keywords: magnetic resonance mammography, lipofilling, postoperative complications.

Цель исследования – определить роль магнитно-резонансной маммографии (МРМ) с динамическим контрастированием до и после липофилинга.

Материал и методы. Исследования проводились в ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины» на МРТ томографе 1.5Т с применением специальной катушки (breast coil) и использованием стандартного протокола. За период с 2014 по 2016 г. было исследовано 15 пациенток (17 исследований), у 13 из них было комбинированное лечение по поводу рака молочной железы, 2 пациентки – здоровы. У 7 МРТ-маммография была выполнена до липофилинга, у 8 женщин после.

Результаты. По результатам МРТ все пациентки были разделены на 4 группы: 1. Пациентки с липонекрозом (n=2); 2. Пациентки с сочетанием нескольких осложнений (n=9);

3. Пациентки с вторичным злокачественным образованием (n=2); 4. Норма (n=2). В 7 случаях МРТ было выполнено непосредственно перед липофилингом, у 1 из них были выявлены признаки вторичного поражения подмышечного лимфатического узла справа, позже было подтверждено гистологическим исследованием. В связи с такой находкой женщине было отложено в липофилинге и вновь назначена химиотерапия. 8 пациенткам МРТ было выполнено после липофилинга, у 1 из них был выявлен рецидив карциномы молочной железы.

Также перед операцией мы рассчитывали объемы молочных желез, так как приживление липоаспирата осуществляется за счет питания от реципиентных тканей и зависит от объема вводимого жира. При контрольной МРТ через 7–8 мес после последней сессии липофилинга мы выявили 2 липонекроза, 9 маслянистых кист, линейные тяжи фиброзно-рубцовой ткани, повторяющие траекторию иглы при введении жира.

Заключение. 1. Магнитно-резонансную маммографию необходимо выполнять до принятия решения о липофилинге для достоверного исключения рака молочной железы, особенно у женщин с онкоанамнезом. 2. Правильный расчет объема молочной железы важен для пластических хирургов в определении количества трансплантируемого жира. 3. Использование МРТ в сроки 1, 6, 12 мес после завершения этапа липофилинга позволяет выявить послеоперационные осложнения, ЗНО и оценить резорбцию жировой ткани. 4. Комплексное МР-исследование является точным методом диагностики различной патологии при липофилинге.

ЛИТЕРАТУРА

1. Труфанов Г.Е., Серебрякова С.В., Юхно Е.А. МРТ в маммологии. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2009. 201.
2. Любота Р.В., Аникусько Н.Ф., Зотов А.С., Верецако Р.И., Любота И.И. Липофилинг как метод реконструктивно-восстановительного лечения больных раком молочной железы (обзор литературы). Опухоли женской репродуктивной системы. 2014; 4: 1014.

3. Illouz Y.G., Sterodimas A. Autologous fat transplantation to the breast: a personal technique with 25 years of experience. *Aesthetic Plast Surg.* 2009 Sep; 33(5): 70615. doi: 10.1007/s00266-009-9377-1.

4. Schultz L., Lindegren A., Wickman M. Improved shape and consistency after lipofilling of the breast: patients' evaluation of the outcome. *J Plast Surg Hand Surg.* 2012; 46(2): 85–90.

КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ

Н.В. Елисеева

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород, Россия

Аннотация

Первичная открытоугольная глаукома представляется как полиэтиологическое, полипатогенетическое, нейродегенеративное, трудноизлечимое заболевание [1]. Первичная инвалидность вследствие глаукомы занимает первое место среди всех офтальмопатологий и составляет в среднем 28 % [2]. Тезисы посвящены новым данным, касающимся факторов риска и прогрессирования первичной открытоугольной глаукомы у населения Центрального Черноземья России. В результате проведенного исследования установлены основные факторы риска и прогрессирования глаукомы: системные и локальные.

Ключевые слова: первичная открытоугольная глаукома, факторы риска глаукомы, нейродегенеративное заболевание.

CLINICAL FEATURES OF PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA

N.V. Eliseeva

Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

Abstract

Primary open-angle glaucoma is represented as a polyethological, polypathogenetic, neurodegenerative, intractable disease [1]. Primary disability due to glaucoma ranks first among all ophthalmopathologies and averages 28 % [2]. These are devoted to new data on the risk factors and progression of primary open-angle glaucoma in the population of the Central Chernozem Region of Russia. As a result of the study, the main risk factors and progression of glaucoma were established: systemic and local.

Keywords: open-angle glaucoma, glaucoma risk factors, neurodegenerative disease.

Проблема первичной открытоугольной глаукомы в настоящее время остается одной из наиболее актуальных в современной офтальмологии. Это обусловлено тем, что, несмотря на большой опыт исследования глаукомы и внушительное количество работ, на данный момент отсутствуют точные данные о том, какой именно процесс доминирует в этиопатогенезе [3–8].

Методы. Группу исследования составили 755 человек: 455 человек основной группы, 300 человек контрольной группы. Выборка сделана на базе отделения микрохирургии глаза Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа. В выборку внесены пациенты русской национальности, родившиеся в Центральном Черноземье, неродственники. В процессе сбора анамнеза и проведения клинического исследования больных с первичной открытоугольной глаукомой рассмотрены следующие группы факторов: системные и локальные. К системным относят: сопутствующую патологию, возрастные особенности, половой признак, наследственность, органические или функциональные нарушения кровообращения, нарушение вязкости крови, а локальным: аномалии рефракции, особенности строения роговицы, повышение внутриглазного давления, асимметрию показателей внутриглазного давления, характерного для глаукомного процесса, между парных глаз. Все участники подписали письменное информированное согласие в соответствии с принципами Хельсинкской декларации.

Результаты. Рассмотрены системные факторы риска: средний возраст больных 70,53±7.43 года (варьировали от 46 до 89), контрольная группа 69,24±10,14 года (варьировали

от 40 до 87 лет) $p > 0,05$). Среди 455 человек основной группы мужчин было 227 (49,6 %) и женщин 228 (48,7 %). В контрольной выборке мужчин было 148 (48,7 %), женщин 152 (51,39 %) ($p > 0,05$). Среди сопутствующей патологии чаще выявлялись гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет 2 типа. Среди больных ПОУГ гипертоническая болезнь установлена у 63,28 %, в контрольной группе – у 56,83 % ($p > 0,05$). Ишемическая болезнь сердца установлена у больных ПОУГ у 44,43 %, в контрольной группе – у 41,67 % ($p > 0,05$). Сахарный диабет 2 типа установлен у 15,05 % среди больных ПОУГ и в контрольной группе здоровых людей у 14,17 % ($p > 0,05$). Среди всех больных ПОУГ 78,02 % имели сопутствующую патологию, тогда как группа здоровых составляет 64,66 % ($p > 0,05$). Аномалии рефракции были выявлены у 35,96 % больных ПОУГ, в контрольной группе 15 % ($p > 0,05$). Толщина роговицы менее 520 мкм в общей группе больных ПОУГ составляет 45,05 %, в контрольной – 32,66 % ($p > 0,05$).

Выводы. В результате исследования факторов риска существенных различий между группой больных первичной открытоугольной глаукомой и контрольной группой здоровых людей не выявлено.

ЛИТЕРАТУРА

1. Нестеров А.П. Глаукома. Москва. 2014. (2-е издание, переработанное).
2. Еричев В.П., Туманов В.П., Панюшкина Л.А. Глаукома и нейродегенеративные заболевания. Национальный журнал глаукома. 2012; 1: 6268.
3. Астахов Ю.С., Рахманов В.В. Наследственность и глаукома. Офтальмологические ведомости. 2012; 5(4): 5157.
4. Газизова И.Р. Глаукома как нейродегенеративное заболевание. РМЖ. Клиническая офтальмология. 2014; 3: 123127.
5. Карл Э. Глаукома и артериальная гипертония. Российский офтальмологический журнал. 2016; 9(1): 105111.
6. Алексеев В.Н., Запорожец Л.А., Ал-Майсам Р. Первичная глаукома у больных с различной соматической патологией: особенности наблюдения и течения. РМЖ. Клиническая офтальмология. 2016; 2: 7982.
7. Курьшева Н.И., Арджевнишвили Г.Д., Трубилина А.В., Маслова Е.В., Лепешкина Л.В., Аракелян Р.К. Возрастная макулярная дегенерация и глаукома: особенности ретробульбарного кровотока. Точка зрения Восток-Запад. 2016; 2: 6668.
8. Vithana E.N., Aung T., Khor C.C., Cornes B.K., Tay W.T., Sim X., Lavanya R., Wu R., Zheng Y., Hibberd M.L., Chia K.S., Seielstad M., Goh L.K., Saw S.M., Tai E.S., Wong T.Y. Collagen-related genes influence the glaucoma risk factor, central corneal thickness. Hum. Mol. Genet. 2011; 20: 649658. doi: 10.1093/hmg/ddq511.

ДЕТЕКЦИЯ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ KRAS МЕТОДОМ DIGITAL DROPLET PCR ПРИ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ

Я.С. Енин, О.И. Кит, Д.И. Водолажский

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Скрининг мутаций в гене KRAS служит традиционным маркером эффективности проведения таргетной терапии колоректального рака. Мутации в 12 кодоне второго экзона гена KRAS присутствуют в 40 % колоректальных опухолей, и мониторинг мутационного статуса вместе с уровнем мутантной ДНК представляет большой клинический интерес. Однако уровень чувствительности традиционно используемого метода RT-PCR в некоторых случаях (например, жидкостная биопсия) оказывается не достаточным.

Ключевые слова: *kras* мутации, цифровая капельная ПЦР.

DETECTION OF MUTATIONS IN THE KRAS GENE BY THE DIGITAL DROPLET PCR METHOD FOR COLON ADENOCARCINOMA

Ya.S. Yenin, O.I. Kit, D.I. Vodolazskyi

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Screening of mutations in the KRAS gene serves as a traditional marker for the effectiveness of targeted therapy for colorectal cancer. Mutations in the 12th codon of the second exon of the KRAS gene are present in 40 % of colorectal tumors, and monitoring of the mutational status along with the level of mutant DNA is of

great clinical interest. However, the sensitivity level of the traditionally used RT-PCR method in some cases (for example, fluid biopsy) is not sufficient.

Keywords: KRAS mutations, Digital Droplet PCR.

Скрининг мутаций в гене KRAS необходим для повышения эффективности проведения таргетной терапии.

В данное исследование включены 123 пациента Юга России, больных аденокарциномой толстой кишки, получавших плановое лечение в ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ. Методом Digital Droplet PCR с использованием набора «KRAS Screening Multiplex kit» (Bio-Rad, USA) детектировали наличие/отсутствие 7 активирующих мутаций во втором экзоне гена KRAS в образцах FFPE блоков, прошедших первичный скрининг на наличие KRAS-мутаций с использованием набора реактивов «Real-time-PCR-KRAS-7M» (Биолинк, Новосибирск) и проявивших статус WT гена KRAS для 5 % уровня чувствительности. ДНК для исследования получена из FFPE-блоков методом фенол-хлороформной экстракции. Исследование проведено с соблюдением принципов ICH GCP.

Частота встречаемости мутаций во втором экзоне гена KRAS в выборке из 123 пациентов составила 74 %. Технология Digital Droplet PCR не позволяет получать данные в реальном времени, а выдает результаты по количеству событий в каждом образце: прямое количество мутантных копий ДНК по каналу FAM и прямое количество копий ДНК дикого типа по каналу HEX (задано набором KRAS Screening Multiplex kit). Полученные результаты анализа образцов были разбиты на следующие группы по количеству наблюдаемых событий. Первую группу составили образцы ДНК от 32 человек с количеством событий по каналу FAM меньше 5 в каждом образце (под событием имеется в виду количество копий мутантной ДНК на 20 µL образца). Приняты как отрицательные или не имеющие мутаций (26,02 %). Вторую группу, составили 20 человек с диапазоном событий 5–10 по каналу FAM, copies/µL приняты как положительные (16,3 %). Третью группу составили 47 пациентов с диапазоном событий 10–50 copies/µL по каналу FAM, приняты как положительные или имеющие мутации в гене KRAS (38,2 %). Четвертую группу составили 11 пациентов с диапазоном зарегистрированных событий 50–200 copies/µL по каналу FAM, приняты как положительные (8,94 %). Пятую группу составили 13 пациентов с диапазоном событий – 200 copies/µL по каналу FAM, приняты как положительные (10,7 %).

Метод Digital Droplet PCR показал гораздо более высокую аналитическую чувствительность для обнаружения SNP мутаций в сравнении с Real-Time PCR, что может иметь критически важное значение при назначении препаратов таргетной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Andersen R.F., Spindler K.L., Brandslund I., Jakobsen A., Pallisgaard N. Improved sensitivity of circulating tumor DNA measurement using short PCR amplicons. Clin Chim Acta. 2015 Jan 15; 439: 97–101. doi: 10.1016/j.cca.2014.10.011.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ПРОДОЛЖЕННОГО РОСТА ГЛИОМ ПРИ КОНТРАСТНОЙ МРТ

А.А. Ермакова¹, О.Ю. Бородин^{1,2}, М.Ю. Санников^{1,2}, В.Ю. Усов²

ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия¹

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

Описаны возможные критерии дифференцирования продолженного роста глиом от стабилизации в послеоперационном периоде. Приведен протокол сканирования головного мозга пациентов в условиях двойного контрастирования с эффектом переноса намагниченности и построением перфузионных карт.

Ключевые слова: головной мозг, опухоль, перфузия, перенос намагниченности.

DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF GLIOMAS RECURRENCE USING CONTRAST-ENHANCED MRI

A.A. Ermakova¹, O.Yu. Borodin^{1,2}, M.Yu. Sannikov^{1,2}, V.Yu. Ussov²

Tomsk Regional Oncology Center, Tomsk, Russia¹

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

Possible criteria for differentiation of the continued growth of gliomas from stabilization in the postoperative period are described. The protocol for scanning patients brain under conditions of double contrasting with the magnetization transfer effect and with the construction of perfusion cards are given.

Keywords: brain, tumor, perfusion, magnetization transfer.

Цель исследования – разработать дифференциально-диагностические критерии для рецидива (продолженного роста) глиом после комбинированного противоопухолевого лечения от стабилизации при статической контрастной МРТ.

Материал и методы. Материалом для ретроспективного исследования служили МР-томограммы 18 пациентов после оперативного лечения опухолей головного мозга. Средний возраст пациентов 36,3±16,5 года. МРТ исследования проводились на томографе Toshiba, 1,5 Т. Протокол сканирования выполнен в условиях двойного контрастирования согласно схеме: 1) контрастная МРТ в дозе 0,2 ммоль/кг с получением постконтрастных T1-ВИ на 5-й мин и T1-MT-ВИ на 8-й мин, 2) T2*-перфузионное МРТ в дозе 0,1 ммоль/кг с получением постконтрастных T1-ВИ на 1-й мин. Для оценки контрастности и контрастирования выделяли зону интереса (ROI) в области послеоперационных изменений и в здоровой ткани на симметричном участке. Для статистической обработки использовался критерий Вилкоксона при $p < 0,05$. Для оценки чувствительности и специфичности использовали ROC анализ.

Результаты. На основе анализа зон интереса в области послеоперационных изменений на T2*-перфузионных картах МРТ, T1-TSE и T1-TSE-MTC 173 ROI соответствовали группе – стабилизация и 38 ROI – группе рецидив. Получены параметры гемодинамики очагов с относительными значениями rCBV, rCBF, rMTT. Сравнительный анализ между группами стабилизации и рецидива показал значимое увеличение параметров гемодинамики rCBV, rCBF и rMTT ($p = 0,001$ и $p = 0,004$ для rMTT) в группе рецидива. При этом выявлено, что пороговое значение rCBV $> 1,82$ в отличие от литературных данных (rCBV=1,75) обладает наибольшей чувствительностью и специфичностью, что требует продолжения исследования на большей группе пациентов. При анализе контрастного эффекта измерены области интереса в области послеоперационных изменений в группе со стабилизацией ($n=110$) и с рецидивом ($n=55$). В группе рецидива после первого контрастирования с МТС коэффициенты контраста составили 2,07 (1,86–2,32) %, в группе стабилизации 1,09 (1–1,29) % соответственно ($p < 0,001$). При ROC-анализе выявлены пороговые значения коэффициента контраста (КК=1,26) и коэффициента усиления (КУ=1,31), которые позволяют на постконтрастных T1-ВИ после внутривенного введения контрастного препарата в дозе 0,2 ммоль/кг выявить рецидив или продолженный рост глиом с максимальной чувствительностью и специфичностью при $p < 0,001$. При дополнительном введении контрастного препарата в дозе 0,1 ммоль/кг массы КК и КУ в группе стабилизации значимо не различаются ($p = 0,4$), однако в группе рецидива выявлены значимые различия ($p < 0,001$).

Заключение. Таким образом, статическая контрастная МРТ в дозе 0,2 ммоль/кг в сочетании с результатами оценки T1-ВИ при дополнительном введении парамагнетика в дозе 0,1 ммоль/кг может рассматриваться в качестве первичного метода дифференциальной диагностики рецидива (продолженного роста) глиом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грибанова Т.Г., Фокин В.А., Мартынов Б.В., Труфанов Г.Е., Пащикова А.А. Возможности магнитно-резонансной перфузии в дифференциальной диагностике рецидива глиальных опухолей головного мозга и постлучевых изменений. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2014; (4), 5457.
2. Борodin О.Ю., Усов В.Ю., Ермакова А.А., Пыжова И.Б., Санников М.Ю., Казанцева Е.В., Рыжаков В.М. Динамическая контрастная магнитно-резонансная ангиография сосудов головного мозга и перфузионное исследование в диагностике рецидивов опухолей головного мозга. Медицинская визуализация. 2016; (3): 7179.

ГЕРМИНАЛЬНЫЕ МУТАЦИИ В ГЕНЕ APC ПРИ КЛАССИЧЕСКОЙ ФОРМЕ АДЕНОМАТОЗНОГО ПОЛИПОЗА

И.Ю. Ефимова, Д.И. Водолажский

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России), г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Рак толстой кишки (РТК) относится к наиболее распространенным онкологическим заболеваниям. Генетические факторы оказываются значимыми в 15–30 % случаев. Одной из основных наследственных причин РТК является семейный аденоматозный полипоз (САП). Без лечения к 40 годам у таких пациентов обычно развивается РТК. Поэтому молекулярно-генетическое исследование наследственных форм колоректального рака необходимо как для самих пациентов в целях индивидуализации лечения, так и для их кровных родственников для формирования групп риска развития рака толстой кишки. САП – аутосомно-доминантный синдром, развивающийся вследствие герминальных мутаций в гене APC. **Целью исследования** стало определение спектра мутаций гена APC у пациентов, проживающих на Юге России и проходивших диагностику и лечение на базе ФГБУ «РНИОИ». В исследование вошли 13 пациентов с клинической картиной аденоматозного полипоза и 18 кровных родственников. Молекулярно-генетическое исследование включало выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови пациентов, амплификацию экзонов гена APC и прямое секвенирование ампликонов по методу Сэнгера. В исследуемой группе больных было выявлено 9 пациентов с герминальной мутацией в гене APC, что составило 69,2 %. Обнаружены следующие мутации: три вида нонсенс-мутаций – 847C>T (p.Arg283Term), c.2362A>T (p.Lys788Term) и c.2365C>T (p.Gln789Term), мутация сайта сплайсинга – c.1744-2A>G, 5 делеций – (две – c.3927_3931delAAAGA, c.4666delA, c.1485delT и c.3495_3504delATATAATGAA). Наследственные мутации обнаружены у шести кровных родственников пациентов. Проведено медико-генетическое консультирование, даны рекомендации.

Ключевые слова: семейный аденоматозный полипоз, MUTYH-ассоциированный полипоз, рак толстой кишки, герминальные мутации.

GERMLINE MUTATION OF THE APC GENE IN THE CLASSIC FORM OF FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS

I.U. Efimova, D.I. Vodoladjskiy

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Colon cancer (RTK) is one of the most common cancer diseases. Genetic factors are significant in 15–30 % of cases. One of the main hereditary causes of RTK is family adenomatous polyposis (SAP). Without treatment by the age of 40 these patients usually develops RTK. Therefore, the molecular genetic study of hereditary forms of colorectal cancer is necessary both for the patients themselves in order to individualize treatment, and for their blood relatives to form groups at risk of colon cancer. ARS is an autosomal dominant syndrome that develops due to germinal mutations in the gene called APC. The purpose of this study was to determine the spectrum of mutations of the APC gene in patients living in the South of Russia and held the diagnosis and treatment on the basis of fgbu "RNII". The study included 13 patients with a clinical picture of adenomatous polyposis and 18 blood relatives. Molecular genetic study included DNA isolation from peripheral blood leukocytes of patients, amplification of ARS gene exons and direct sequencing of amplicons by Sanger method. In the study group of patients 9 patients with germinal mutation in the ARS gene were revealed, which amounted to 69.2 %. Detected the following mutations: three nonsense mutations – 847C>T (p.Arg283Term), c.2362A>T (p.Lys788Term) and c.2365C>T (p.Gln789Term), the mutation site of splicing - p. 1744-2A>G, 5 deletions (with two – c.3927_3931delAAAGA, c.4666delA, c.1485delT and c.3495_3504delATATAATGAA). Hereditary mutations were found in six blood relatives of patients. Medical and genetic counseling was conducted, recommendations were given.

Keywords: Familial adenomatous polyposis, MUTYH-associated polyposis, colorectal cancer, germinal mutations.

Актуальность. Семейный аденоматозный полипоз – тяжелое аутомно-доминантное заболевание, развивающееся вследствие герминальной мутации в гене APC (Adenomatous Polyposis Coli). Частота встречаемости данного синдрома колеблется от 1 на 6800 до 1 на 29 000 человек [1]. Около 1 % случаев рака толстой кишки связывают с этим заболеванием. Семейный аденоматозный полипоз (САП) характеризуется преимущественным поражением толстой кишки множественными аденоматозными полипами и высоким индексом их малигнизации (до 100 %) [2]. Количество полипов толстой кишки может варьировать. Сотни и тысячи полипов характерны для классической формы заболевания, менее 100 – для аттенуированной [3].

Мутации гена APC обнаруживаются в 80–90 % случаев классического САП. APC-ген расположен на длинном плече пятой хромосомы (5q21-22). Состоит из 8535 пар оснований, организованных в 15 кодирующих экзонов. Белок содержит 2843 аминокислотных остатка. Мутации в гене APC впервые были описаны в 1991 году и сегодня известно более 600 их вариантов. Наиболее частыми являются мутации, приводящие к синтезу укороченного белка APC: это мутации со сдвигом рамки считывания (68 %), нонсенс мутации (30 %), крупные делеции (2 %). Большинство как соматических, так герминальных мутаций определяются в 15 экзоне гена. Горячие точки гена локализованы в 1309 и 1061 кодонах, частота мутаций в которых составляет 17 и 11 % соответственно [4]. Примерно у 10–30 % заболевание развивается вследствие мутации *de novo* [5,6].

Материал и методы. Поиск наследственных мутаций проводился у 13 пациентов с клиническими признаками семейного аденоматозного полипоза (САП). Все пациенты проходили диагностику и лечение на базе ФГБУ «РНИОИ». Выделение геномной ДНК было выполнено из лейкоцитов периферической крови по стандартной методике с использованием фенол-хлороформной экстракции. Концентрацию полученных препаратов ДНК измеряли на флуориметре Qbit 2.0 (Invitrogen, USA) с помощью набора Quant-iT Tm DNA и нормализовывали до 2 нг/мкл. 15 кодирующих экзонов гена APC с примыкающими частями интронов (50–100 пар нуклеотидов) амплифицировали методом полимеразной цепной реакции с использованием 23 пар праймеров. Далее полученные фрагменты ДНК секвенировали по двум комплементарным цепям с помощью прибора ABI PRISM 3500 (8 capillaries; Applied Biosystems). У всех больных изучался семейный анамнез.

Результаты и обсуждение. В исследуемой группе больных было выявлено 9 пациентов с герминальной мутацией в гене APC, что составило 69,2 %. Наиболее часто обнаруживались мутации со сдвигом рамки считывания (55,5 %) и формированием стоп кодона (две – с.3927_3931delAAAGA, с.4666delA, с.1485delT и с.3495_3504delATATAATGAA). Одна из данных мутаций – ранее не описанная делеция ATATAATGAA в с.3495 положении, приводящая к образованию стоп кодона и синтезу укороченного белка (p.Tyr1166ArgfsTer94). Вторыми по частоте стали нонсенс-мутации (33,3 %): 847C>T (p.Arg283Term), с.2362A>T (p.Lys788Term), с.2365C>T (p.Gln789Term). У одного из пациентов выявлена мутация сайта сплайсинга с.1744-2A>G. Наиболее частым вариантом (22,2 %) была мутация с.3927_3931delAAAGA. Данный патогенный вариант с частотой около 20 % также занимает первое место по встречаемости и в других популяциях [7]. У шести кровных родственников пациентов также были обнаружены соответствующие мутации. Все семьи прошли медико-генетическое консультирование с рекомендациями по осуществлению пожизненного клинического мониторинга лицам с выявленными мутациями.

Выводы. Пациентам с клиническими проявлениями семейного аденоматозного полипоза необходимо проводить молекулярно-генетическое тестирование. Обнаружение мутации подтверждает диагноз САП и является немаловажным в вопросе индивидуализации лечения больного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Petersen G.M., Slack J., Nakamura Y. Screening guidelines and premorbid diagnosis of familial adenomatous polyposis using linkage. *Gastroenterology* 1991; 100(6): 1658–1664.
2. Kastrinosand F., Syngal S. Inherited Colorectal Cancer Syndromes. *Cancer J.* 2011; 17 (6): 405–415.
3. Talseth-Palmer B.A. The genetic basis of colonic adenomatous polyposis syndromes. *Hered Cancer Clin Pract.* 2017 Mar 16; 15: 5. doi: 10.1186/s13053-017-0065-x.
4. Wachsmannova-Matellova L., Stevurkova V., Adamcikova Z., Holec V., Zajac V. Different phenotype manifestation of familial adenomatous polyposis in families with APC mutation at codon 1309. *Neoplasma.* 2009; 56(6): 486–9.
5. Ripa R., Bisgaard M.L., Bülow S., Nielsen F.C. De novo mutations in familial adenomatous polyposis (FAP). *Eur. J. Hum. Gen.* 2002; 10: 631–63.
6. Kastrinosand F., Syngal S. Inherited Colorectal Cancer Syndromes. *CancerJ.* 2011; 17 (6): 405–415.
7. Wachsmannova-Matellova L., Stevurkova V., Adamcikova Z., Holec V., Zajac V. Different phenotype manifestation of familial adenomatous polyposis in families with APC mutation at codon 1309. *Neoplasma.* 2009; 56(6): 486–9.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ФДТ У ПАЦИЕНТА С МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМ СИНХРОННЫМ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ПИЩЕВОДА И ВЕРХНЕДОЛЕВОГО БРОНХА

С.В. Зинченко¹, А.И. Иванов²

Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия¹

Республиканский клинический онкологический диспансер, г. Казань, Россия²

Аннотация

Спустя 25 лет после начала широкого клинического применения фотодинамической терапии в России так и не получены четкие и однозначные рекомендации по применению и возможностям этого метода. Ограниченные возможности применения фотодинамической терапии в рамках оказания высокотехнологической медицинской помощи, относительная дороговизна фотосенсибилизатора в большинстве случаев являются препятствием к полноценному внедрению метода в практику онкологических учреждений. Целью нашего доклада является описание клинического случая эффективного использования метода фотодинамической терапии как метода выбора у пациента с синхронным местнораспространенным раком пищевода и бронха. Отмечена стойкая (6 мес) стабилизация синхронного опухолевого процесса на фоне системной монотерапии этопозидом и двукратной эндоскопической фотодинамической терапии опухолей пищевода и бронха. На фоне проводимого лечения пациент социально активен, не предъявляет каких-либо жалоб. Таким образом, фотодинамическая терапия при местнораспространенных опухолях пищевода и легких является методом выбора паллиативной терапии, что позволяет достичь хороших показателей выживаемости при высоком качестве жизни. Дальнейшее применение данного метода лечения может способствовать улучшению качества лечения пациента с распространенными опухолями разной локализации.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, рак легкого, рак пищевода.

EXPERIENCE IN THE USE OF PDT IN A PATIENT WITH LOCALLY ADVANCED SYNCHRONOUS SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE ESOPHAGUS AND UPPER BRONCHUS

S.V. Zinchenko¹, A.I. Ivanov²

Kazan Federal University, Kazan, Russia¹

Tatarstan Cancer Center, Kazan, Russia²

Abstract

After 25 years from the beginning of a wide clinical application of photodynamic therapy in Russia, has not yet received clear and unambiguous recommendations for the use and possibilities of this method. The limited possibilities of photodynamic therapy in the framework of high-tech medical care, the relative cost of photosensitizer in most cases are an obstacle to the full implementation of the method in the practice of cancer institutions. The purpose of our report is to describe a clinical case of effective use of photodynamic therapy as a method of choice in a patient with synchronous locally advanced cancer of the esophagus and bronchus. Marked persistent (6 months) stabilization of synchronous neoplastic process in the background system of monotherapy with etoposide and two-time endoscopic photodynamic therapy of tumors of the esophagus and bronchus. Against the background of the treatment, the patient is socially active, does not make any complaints. Thus, photodynamic therapy in locally distributed tumors of the esophagus and lungs is a method of choice of palliative therapy, which allows to achieve good survival rates at a high quality of life. Further study of the application of this method of treatment can improve the quality of treatment of patients with common tumors of different locations.

Keywords: photodynamic therapy, lung cancer, cancer of the esophagus.

Актуальность. Спустя 25 лет после начала широкого клинического применения фотодинамической терапии (ФДТ) в России так и не получены четкие и однозначные рекомендации по применению и возможностям этого метода. Ограниченные возможности применения ФДТ в рамках программы оказания высокотехнологичной медицинской помощи (ВМП), относительная дороговизна фотосенсибилизатора в большинстве случаев являются препятствием к полноценному внедрению метода в практику онкологических учреждений.

Множество публикаций, посвященных успешному использованию ФДТ при большинстве онкологических нозологий [1–3], тем не менее не привели к «прорыву» методики. И собственный опыт, тем более успешный, на наш взгляд, имеет значительную практическую ценность.

Целью доклада является описание клинического случая эффективного использования ФДТ как метода отчаяния у пациента с синхронным местнораспространенным раком пищевода и легкого.

Материал и методы. Пациент В., 68 лет, наблюдается в ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ РТ» с декабря 2011 г. с диагнозом: Рак гортани T3N1M0. Состояние после комплексного лечения. В 2012 г. с января по июль получил комплексную терапию по поводу рака гортани: сочетанная химиолучевая терапия (2 курса химиотерапии по схеме ТРФ, лучевая терапия до суммарной очаговой дозы 80 Гр классическим фракционированием, в июне 2012 г. футлярно-фасциальное иссечение клетчатки шеи 2–5-й зон справа. Регулярно наблюдался в РКОД, признаков рецидивирования не выявлено.

С декабря 2016 г. стал отмечать появление сухого кашля и затруднение глотания. Обратился за медицинской помощью в РКОД в марте 2017 г. После проведенного комплекса обследований выявлено поражение верхнедолевого бронха правого легкого и нижней трети (39 см) пищевода плоскоклеточным раком умеренной дифференцировки (рис. 1). По результатам ПЭТ/КТ диагностировано метастатическое поражение забрюшинных и средостенных лимфоузлов, левого надпочечника. Исследование на ВПЧ не проводилось.

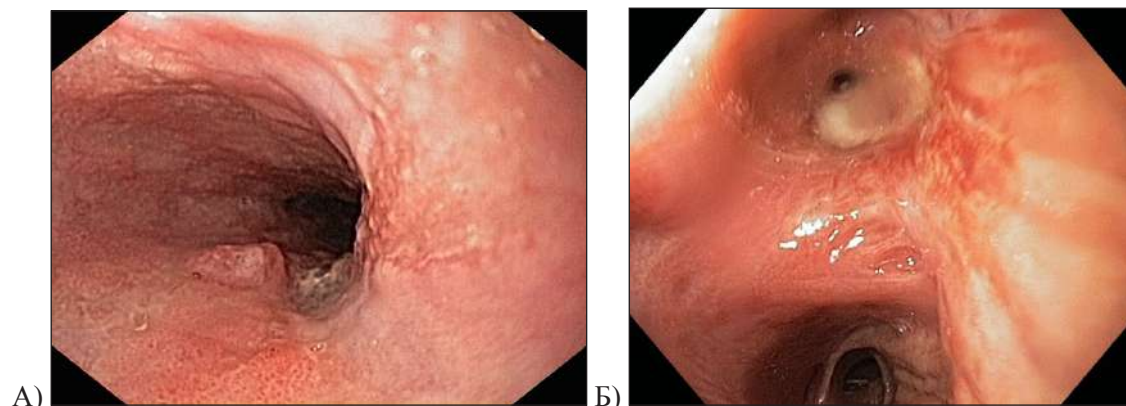


Рис. 1. А) Опухоль нижней трети пищевода до начала специализированного лечения, апрель 2017 г. Б) Опухоль верхнедолевого бронха справа с обтурацией C2-3 до начала специализированного лечения, апрель 2017 г.

Из-за наличия отдаленных метастазов в проведении операции и лучевой терапии отказано, рекомендована паллиативная химиотерапия этопозидом (200 мг в день 1–5 сут с перерывом в 21 день) в монорежиме 6 курсов.

Пациент коллегиально обсужден, решено системное воздействие дополнить ФДТ. По причине нарастания дисфагии, а также отсутствия опыта одномоментного ФДТ решено начать с эндоскопической лазерной терапии опухоли пищевода. На рис. 1 представлено состояние опухолей до начала специализированного лечения.

ФДТ проводилось аппаратом Латус 662 нм с использованием торцевого световода диаметром 400 мкм, с мощностью выходного пучка 1,4 кВт с экспозицией 8 мин (подведена энергия 150–180 Дж) после введения 0,35 % раствора радахлорина из расчета 1 мг/кг. Процедура проводилась без общей анестезии. Отмечен недостаток в виде гиперперистальтики пищевода и беспокойного поведения пациента, что затрудняло проведение процедуры. Послеоперационный период протекал без особенностей.

По результатам фиброэзофагогастроскопии (ФЭГДС) через 3 нед после процедуры отмечен хороший эффект, принято решение о проведении симультантной ФДТ верхнедолевого бронха и пищевода. Что и было выполнено по той же методике. Через 1 мес на контрольном

осмотре по данным ФЭГДС и фибробронхоскопии (ФБС) отмечен выраженный терапевтический эффект (рис. 2). Спустя 3 мес на очередном контрольном ФЭГДС и ФБС выявлена стабилизация опухоли пищевода, прогрессия опухоли верхнедолевого бронха с нарастанием субателектаза сегментарных бронхов С 2–3. 17.10.17 выполнена повторная эндобронхиальная ФДТ с контактной лазерной деструкцией опухоли (рис. 2).

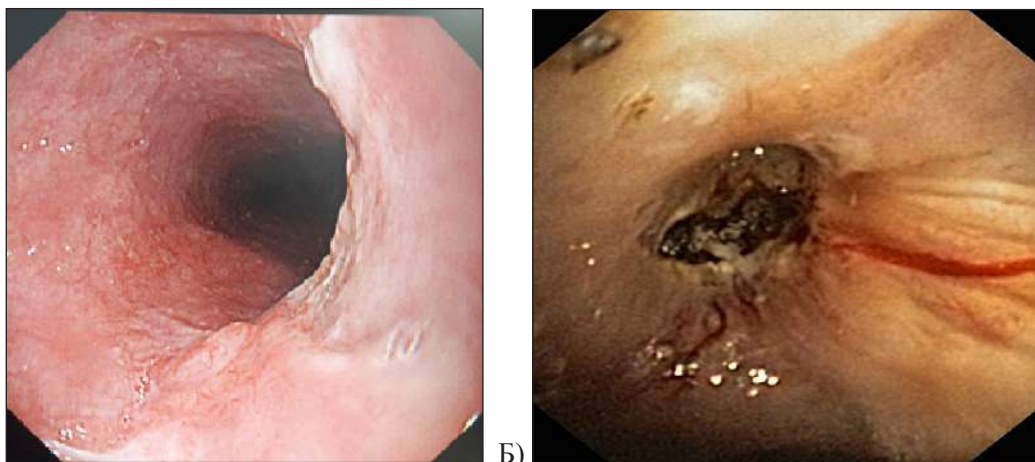


Рис. 2. А) Опухоль нижней трети пищевода после ФДТ, октябрь 2017 г. Б) Опухоль верхнедолевого бронха справа сразу после проведения сеанса ФДТ, октябрь 2017 г.

Результаты и обсуждения. Отмечена стойкая (6 мес) стабилизация синхронного опухолевого процесса на фоне системной монотерапии этопозидом и двукратной эндоскопической ФДТ опухолей пищевода и легкого. На фоне проводимого лечения пациент социально активен, не предъявляет каких-либо жалоб.

Выводы. ФДТ при местнораспространенных опухолях пищевода и легких является методом выбора паллиативной терапии, что позволяет достичь хороших показателей выживаемости при высоком качестве жизни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015 Mar 1; 136(5): E359-86. doi: 10.1002/ijc.29210.
2. *Cancer Fact sheet* February 2017 [Электронный ресурс]. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en.html>
3. Parkin D.M. International variation. *Oncogene*. 2008; 23(38): 6329–6340.

СЕЛЕКТИВНЫЙ ПЛАЗМООБМЕН В ЛЕЧЕНИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

Н.Е. Зудерман, И.А. Горошинская, Н.Д. Ушакова, О.Н. Шатохина

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Обследовано 28 больных первично выявленной секретирующей множественной миеломой (18 мужчин и 10 женщин), которые были разделены на две группы: основная группа (n=15) с включением в терапию селективного плазмообмена и контрольная (n=13) – получавших стандартное лечение. Исследовали концентрации парапротеина, свободных легких цепей Ig, показатели эндогенной интоксикации. В группе больных с включением селективного плазмообмена выявили более прогрессивное снижение показателей интоксикации, парапротеина и СЛЦ Ig, отмечали более выраженный клинический эффект на специальное лечение в сравнении с контрольной группой.

Ключевые слова: множественная миелома, эндогенная интоксикация, парапротеинемия, свободные легкие цепи Ig, селективный плазмообмен.

SELECTIVE PLASMA EXCHANGE IN TREATMENT OF MULTIPLE MYELOMA

N.E. Zuderman, I.A. Goroshinskaya, N.D. Ushakova, O.N. Shatohin

Federal State Budgetary Institution «Rostov Research Oncological Institute» of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

We examined 28 patients newly diagnosed with secretory multiple myeloma (18 men and 10 women) divided into two groups: the main group ($n=15$) received the treatment involving selective plasma exchange, and the control group ($n=13$) received the standard treatment. Paraprotein, Ig free light chains and parameters of endogenous intoxication were studied. Patients receiving selective plasma exchange demonstrated a more progressive decrease in intoxication, paraprotein and Ig free light chains, as well as a more pronounced clinical response to the special treatment, compared to the controls.

Keywords: multiple myeloma, endogenous intoxication, paraproteinemia, Ig free light chains, selective plasma exchange.

Актуальность. Течение множественной миеломы (ММ) сопровождается гиперпродукцией моноклональных иммуноглобулинов, что влечет за собой развитие многочисленных органных и системных нарушений, формирование синдрома эндогенной интоксикации. Успех лечения ММ зависит не только от патогенетически обоснованной специфической противоопухолевой терапии, но и от эффективности борьбы с многочисленными осложнениями [1, 2]. Таким образом, применение в комплексе сопроводительной терапии детоксикационного лечения может способствовать повышению ее эффективности. **Цель исследования** – изучение детоксикационного эффекта селективного плазмообмена в комплексе лечения больных первично выявленной секретирующей множественной миеломой.

Материал и методы. Основу исследования составили 28 больных первично выявленной секретирующей множественной миеломой (18 мужчин и 10 женщин) в возрасте от 48 до 69 лет ($58,5 \pm 2,2$), проходивших лечение в ФГБУ «РНИОИ» МЗ России в 2015–2017 гг. Все больные разделены на две группы. Основную группу составили 15 человек, в комплекс лечения которых был включен селективный плазмообмен (СПО). В контрольную группу вошли 13 больных, которым проводили стандартную полихимиотерапию (ПХТ). У всех больных диагностировали II–III стадии миеломной болезни. Селективный плазмообмен проводили за сутки до начала курса ПХТ. Детоксикацию выполняли на аппарате «Мультифильтрат» фирмы «Fresenius» (Германия) с использованием систем магистралей и плазмосепаратора «EVACLIO EC-2C20» фирмы «Toha» (Япония) со скоростью перфузии 120–150 мл/мин. Объем плазмэкстракции составлял 10 литров. Замещение осуществляли 7 % альбуминсодержащим плазмозамещающим раствором 10 л («MultiLac» фирмы «Фрезениус», Германия) + Альбумин 20 % – 600 мл). Антикоагуляция – гепарин 2 тыс. Ед. каждый час в артериальный сегмент магистрали до плазмосепаратора. Для определения детоксикационного эффекта СПО методом капиллярного электрофореза («Helena Bioscience V8», Великобритания) исследовали концентрацию парапротеина и свободных легких цепей (СЛЦ) иммуноглобулинов (κ и λ) в сыворотке крови. Изучали биохимические показатели эндогенной интоксикации: молекулы средней массы (МСМ) при двух длинах волн (254 нм и 280 нм), эффективную концентрацию альбумина (ЭКА), резервную связывающую способность альбумина (ССА), индекс токсичности (ИТ), коэффициент интоксикации (КИ) [3,4]. Исследования проводили до, через 30 мин после окончания сеанса экстракорпоральной детоксикации после проведения 4 курсов химиотерапии.

Результаты. При анализе результатов у всех больных до начала лечения выявили парапротеинемию, что связано с неконтролируемой пролиферацией клональных плазматических клеток, обусловленной хромосомными нарушениями и патологией стромального микроокружения [1]. Концентрация парапротеина в крови у больных основной группы составила $64,77 \pm 5,4$ г/л ($52,4 \pm 4,1$ %), в контрольной – $62,5 \pm 5,1$ г/л ($54,6 \pm 4,8$ %), СЛЦ IgG (κ или λ). В основной группе к-СЛЦ выявили у 7 больных, в контрольной – у 7. Наличие λ -СЛЦ наблюдали в основной группе у 8 больных, в контрольной – у 6. Концентрация к-СЛЦ в крови больных основной группы составила $28,3 \pm 4,9$ г/л ($39,9 \pm 8,4$ %), контрольной – $28,1 \pm 5,6$ г/л

(44,6±6,8 %). Содержание λ -СЛЦ у больных основной группы было 32,8±8,7 г/л (81,5±6,7 %), контрольной – 36,1±7,2 г/л (80,5±6,3 %). При проведении селективного плазмообмена отмечали снижение содержания в крови парапротеина на 32 %, к-СЛЦ на 43 %, λ -СЛЦ на 68 % ($p < 0,05$).

Для всех больных до начала лечения было характерно снижение общей концентрации альбумина (ОКА), его эффективной концентрации и связывающей способности (ССА). Уровень ОКА в сыворотке крови был снижен относительно нормальных значений на 24,1 % (основная группа – 31,9±2,2 г/л, контрольная группа – 33,6±2,3 г/л, здоровые люди – 44,7±1,2 г/л; $p < 0,05$); ЭКА – на 57,2 % (основная группа – 16,5±2,1 г/л, контрольная группа – 16,1±2,2 г/л, здоровые люди – 36,5±1,3 г/л; $p < 0,05$); ССА – на 44,5 % (основная группа – 45,5±6,2 г/л, контрольная группа – 44,7±5,4 г/л, здоровые люди – 81,9±1,95 г/л; $p < 0,05$). При этом ИТ был увеличен в 7,2 раза (основная группа – 1,7±0,4, контрольная группа – 1,6±0,6, здоровые люди – 0,2±0,03; $p < 0,05$), КИ – в 3,5 раза (основная группа – 23,6±4,9, контрольная группа – 23,5±5,4, здоровые люди – 6,8±0,2; $p < 0,05$). Статистически значимого увеличения содержания МСМ не наблюдалось. Полученные результаты свидетельствуют о наличии у исследуемых больных до начала противоопухолевой терапии эндогенной интоксикации [5]. В группе больных с включением СПО после завершения полного курса лекарственной противоопухолевой терапии отмечали более значительный регресс снижения показателей моноклонального белка, продукции СЛЦ IgG в сравнении с результатами, полученными в контрольной группе. Также в основной группе наблюдали более выраженное уменьшение уровня эндогенной интоксикации, что характеризовалось более интенсивным ростом связывающей способности альбумина, а также снижением индекса токсичности и коэффициента интоксикации, по сравнению с контрольной группой.

При анализе клинической эффективности у больных основной группы наблюдали более выраженную эффективность специальной терапии. Полную ремиссию и стабилизацию заболевания в основной группе регистрировали у 80,4 % больных (в контрольной – 58,5 %); лечение без эффекта – у 19,6 % (в контрольной – у 41,5 %).

Выводы. Включение в комплекс сопроводительного лечения больных ММ селективного плазмообмена позволяет уменьшить содержание парапротеина, СЛЦ, выраженность эндогенной интоксикации, повысить эффективность специфической терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. Современный взгляд на проблему. Алматы: Коста. 2007; 480.
2. Бессмельцев С.С. Множественная миелома. Вестник гематологии. 2014; 10(3): 639.
3. Габриэлян Н.И., Липатова В.И. Опыт использования показателей средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей. Лаб. дело. 1984; (3): 138140.
4. Матвеев С.Б., Спиридонова Т.Г., Клычникова Е.В., Николаева Н.Ю., Смирнова С.В., Голиков П.П. Критерии оценки эндогенной интоксикации при ожоговой травме. Клиническая и лабораторная диагностика. 2003; (10): 5253.
5. Кит О.И., Горошинская И.А., Зудерман Н.Е., Ушакова Н.Д., Лысенко И.Б., Немайкалова Л.А., Нескубина И.В., Николаева Н.В., Капуза Е.А., Шатохина О.Н. Показатели эндогенной интоксикации у больных множественной миеломой в динамике комплексного лечения. Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2017; 4(1): 7581. doi:10.23683/0321-3005-2017-4-1-75-81.

СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

С.А. Зуйков

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, г. Донецк, Украина

Аннотация

Цель – установить особенности взаимодействия компонентов системы свободно-радикального окисления в патогенезе злокачественной трансформации. **Материал и методы:** материалом для исследования была плазма крови и гомогенаты тканей (опухолевые и смежные ткани желудка) 35 больных в возрасте 40–80 лет. Изучили активность ферментов обмена пуриновых нуклеотидов – аденозиндезаминазу (АДА) и ксантиноксидазу (КО), как показатели прооксидантной системы; антиоксидантную защиту – глутатионпероксидазу (ГПО) и супероксиддисмутазу (СОД). Методом изучения активностей ферментов была спектрофотометрия. **Результаты.** Нами установлено увеличение активности АДА и КО в плазме крови и в гомогенатах опухолевых тканей желудка относительно контроля. Изменение активностей ферментов антиоксидантной защиты имеет разнонаправленный характер: снижение ак-

тивности СОД и повышение активности ГПО в плазме крови у больных раком желудка относительно контроля и повышение СОД и снижение ГПО в опухолевых тканях относительно нетрансформированной слизистой желудка. **Выводы.** Полученные данные, свидетельствуют о дисбалансе в антиоксидантной системе у онкобольных, способствуя лучшему выживанию опухолевых клеток.

Ключевые слова: аденозиндезаминаза, ксантинооксидаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, рак желудка, окислительный стресс.

FREE RADICAL OXIDATION IN ONCOLOGICAL PATIENTS

S.A. Zuikov

Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk, Ukraine

Abstract

Aim: to study the features of the interaction of components of the system of free-radical oxidation in the pathogenesis of malignant transformation. **Materials and Methods:** the cancer and adjacent tissues of 35 patients 40–80 years aged were studied. The activity of purine metabolism enzymes – adenosine deaminase (ADA) and xanthine oxidase (XO) which has the prooxidant ability were determined as well as the activity of antioxidant defense enzyme – glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD). The activities of enzymes were measured by spectrophotometry. **Results:** we established that increasing of ADA and XO activities in the blood plasma and in homogenates of tumor tissues of the stomach with relatively to control. The antioxidant protection enzymes activity changes were oppositely directed: a reduction in the activity of SOD and an increase in the activity of GPO in the blood plasma in patients with stomach cancer with respect to control and an increase in SOD and a decrease in GPO in tumor tissues versus non-malignized stomach mucosa. **Conclusion:** the data obtained indicate an imbalance in the antioxidant system in cancer patients, contributing to a better survival of tumor cells.

Keywords: adenosine deaminase, xanthine oxidase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, stomach cancer, oxidative stress.

Актуальность. Онкологические заболевания являются одной из основных проблем здравоохранения во всем мире, а в странах СНГ считаются второй по значимости причиной смертности среди населения, после заболеваний сердечно-сосудистой системы [1], при этом опухоли желудка занимают одно из лидирующих мест в структуре данной патологии [2]. Раку желудка (РЖ) присущ целый ряд метаболических нарушений, тесно связанных между собой [3], причем ведущую роль в патогенезе опухолевого роста играет разобщение соотношения про- и антиоксидантных систем в клетке, а также нарушения метаболизма нуклеотидов, способствуя усиленной генерации активных форм кислорода (АФК) [4]. Следовательно, **цель работы** – установить особенности взаимодействия компонентов системы свободно-радикального окисления в патогенезе злокачественной трансформации. Для достижения поставленной цели были поставлены задачи: выявить особенности катаболизма пуриновых нуклеотидов для оценки прооксидантного статуса и изучить особенности изменения ферментативной антиоксидантной защиты (АОЗ), связанные со злокачественной трансформацией, в плазме крови и гомогенатах тканей – опухоли и нетрансформированной слизистой оболочки желудка (СОЖ).

Материал и методы. Было обследовано 35 больных РЖ с различной стадией заболевания (I–IV стадия). Гистологической формой РЖ являлась аденокарцинома. Возраст всех обследуемых от 40 до 80 лет. Группу контроля, для изученных показателей в плазме крови, составили 80 здоровых добровольцев, не имеющих онкозаболеваний и тяжелых патологий желудочно-кишечного тракта. В качестве показателей системы генерации СРО нами была изучена активность ключевых ферментов распада пуриновых нуклеотидов – аденозиндезаминазы (АДА) в нмоль/мин*мг и ксантинооксидазы (КО) в мкмоль/мин*мг, а для изучения АОЗ нами были определены активности ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) в ед/мг и глутатионпероксидазы (ГПО) в мкмоль/мин*мг. Определение всех исследуемых показателей проводилось спектрофотометрически и регистрировалось на спектрофотометре Specord-200. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы «Statistica 10.0» Statsoft.

Результаты и обсуждение. У больных РЖ в плазме крови установлено статистически значимое повышение активностей ферментов катаболизма пуринов по сравнению с контрольной группой.

ной группой ($p < 0,001$): активность АДА составила $6,47 \pm 1,77$ ($2,45 \pm 0,54$ соответственно) и КО – $0,568 \pm 0,121$ ($0,344 \pm 0,142$ соответственно), при этом в гомогенатах опухолевых тканей активности ферментов также были выше относительно тканей СОЖ ($p < 0,001$) – $23,4 \pm 2,76$, $12,5 \pm 1,85$ соответственно, для АДА и для КО $6,66 \pm 1,78$ и $2,05 \pm 0,66$ соответственно. Проведя корреляционный анализ на выявление взаимосвязи между ферментами пуринового обмена в плазме крови и гомогенатах тканей (опухолевой и СОЖ) у больных РЖ установили прямые взаимосвязи между АДА в ткани опухоли и плазме крови $r = 0,81$ ($p \leq 0,001$), в ткани опухоли и СОЖ $r = 0,69$ ($p \leq 0,001$). Для КО статистически значимых взаимосвязей не установлено.

Изучив ферментативное звено АОЗ, установили, что в плазме крови больных РЖ активность СОД достоверно ниже по сравнению со здоровыми добровольцами: $0,131 \pm 0,010$ и $0,180 \pm 0,042$ соответственно ($p \leq 0,001$), тогда как в опухолевых тканях активность фермента выше, относительно ткани СОЖ – $75,8 \pm 6,22$ и $52,5 \pm 6,59$ соответственно ($p \leq 0,001$). При этом в плазме крови активность ГПО была выше у больных РЖ, составив $7,81 \pm 0,71$ ($6,76 \pm 0,66$ соответственно), а в опухолевых тканях достоверно ниже контроля $15,2 \pm 1,77$ и $22,7 \pm 2,27$ ($p \leq 0,001$). Исследуя связь между показателями АОЗ у больных РЖ обнаружены прямые взаимосвязи между СОД в ткани опухоли и СОЖ $r = 0,41$ ($p \leq 0,05$), а также между ГПО в ткани опухоли и ткани СОЖ $r = 0,86$ ($p \leq 0,001$). Следовательно, у больных РЖ во всех изученных образцах между ферментами первой линии АОЗ обнаружен дисбаланс в работе ключевых ее ферментов.

Выводы. Повышение активности АДА в плазме у больных РЖ может выступать не только как маркер целостности клеточных мембран опухолевой ткани (тем более что в ткани опухоли АДА повышена по сравнению с нетрансформированными тканями), но и свидетельствует о системности процесса злокачественной трансформации. При этом акцент в АОЗ у больных РЖ смещен на СОД, а не на ГПО, причем дисрегуляция ферментативного звена АОЗ выступает как патогенетическое звено прогрессии опухолевого роста, приводя к накоплению перекиси водорода в опухолевой ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванцов А.К. Заболеваемость злокачественными новообразованиями в мире, РФ и отдельных её регионах (обзор литературы). Молодой ученый. 2014; 2: 337339.
2. Рыбалкина Д.Х., Дюсембаева Н.К., Шпаков А.Е., Салимбаева Б.М., Дробченко Е.А., Иманбеков М.М. Обзор современных эпидемиологических аспектов по онкопатологии. Гигиена труда и медицинская экология. 2015; 49(4): 3148.
3. Phan L.M., Yeung S.C., Lee M.H. Cancer metabolic reprogramming: importance, main features, and potentials for precise targeted anti-cancer therapies. Cancer Biol. Med. 2014; 11(1): 119. doi: 10.7497/j.issn.2095-3941.2014.01.001.
4. He Y.C., Zhou F.L., Shen Y., Liao D.F., Cao D. Apoptotic death of cancer stem cells for cancer therapy. Int. J. Mol. Sci. 2014; 15(5): 83358351. doi: 10.3390/ijms15058335.

ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СОМАТО-СТВОЛОВОГО ПЕРЕХОДА В ПРОГРЕССИРОВАНИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М.К. Ибрагимова^{1,2}, М.М. Цыганов¹, И.В. Дерюшева¹, П.В. Казанцева¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Россия²

Аннотация

Введение. При исследовании опухоли молочной железы 62 больных до лечения и после неoadъювантной химиотерапии обнаружена гиперэкспрессия в резидуальной опухоли 14/16 генов сомато-стволового перехода у больных с развившимися впоследствии метастазами. **Целью исследования** явилась оценка эффективности НХТ и безметастатической выживаемости больных РМЖ на основе изучения наличия амплификационных клонов в первичной опухоли больных и оценке экспрессии генов сомато-стволового перехода. **Материал и методы.** Материалом для исследования служили парные образцы биопсийного материала до лечения для каждого из пациентов. Была выделена ДНК из исследуемого материала при помощи набора QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). Наличие амплификаций определялось в вышеуказанных регионах с использованием микроматрицы CytoScan HD Array (Affymetrix, USA). **Результаты.** Было показано, что при гиперэкспрессии в остаточной резидуальной опухоли трех из изучаемых генов ОСТ3, LAT и LMNB2 у 69 % больных зарегистрировано возникновение гематогенных метастазов. При гипоекспрессии хотя бы одного из этих генов 5-летняя безметастатическая выживаемость составляет

94 % (34/36). **Заключение.** Получена модель прогнозирования возникновения гематогенного метастазирования на основе анализа экспрессии 16 генов сомато-стволового перехода.

Ключевые слова: рак молочной железы, экспрессия генов сомато-стволового перехода, неoadъювантная химиотерапия, прогноз.

IMPORTANCE OF EXPRESSION OF GENES OF SOMATO-STEM TRANSITION IN PROGRESSION OF BREAST CANCER

M.K. Ibragimova^{1,2}, M.M. Tsyganov¹, I.V. Deryusheva¹, P.V. Kazantseva¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

Background. In a study of breast cancer in 62 patients before and after neoadjuvant chemotherapy, overexpression in the residual tumor of 14/16 genes of somato-stem transition in patients with metastases that developed subsequently was shown. The purpose of this study was to evaluate the efficacy of NAC and the non-metastatic survival of breast cancer patients by studying the presence of amplification clones in the primary tumor of patients and evaluating the expression of somato-stem junction genes. Materials and methods. The material for the study was paired samples of biopsy material prior to treatment for each patient. DNA was isolated from the test material using the QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). The presence of amplifications was determined in the above regions using the CytoScan HD Array microarray (Affymetrix, USA). The results. It was shown that in overexpression in the residual residual tumor of three of the studied OCT3, LAT and LMNB2 genes, 69 % of patients reported the occurrence of hematogenous metastases. With the hypoeexpression of at least one of these genes, the 5-year non-metastatic survival rate is 94 % (34/36). Conclusion. A model for predicting the onset of hematogenous metastasis is obtained on the basis of an analysis of the expression of 16 genes of the somato-stem transition.

Keywords: breast cancer, expression genes of the somato-stem transition, neoadjuvant chemotherapy, prognosis.

Введение. Результаты предыдущих исследований показали, что при проведении неoadъювантной химиотерапии (НХТ) под влиянием химиопрепаратов происходит клональная эволюция опухоли, при которой происходит изменение опухолевых клонов (ОК) – полное/частичное исчезновение или появление новых клонов. Новые клоны, образованные под действием НХТ, содержат амплификации в следующих локусах: 5p, 6p, 7q, 8q, 13q, 9p, 9q, 10p, 10q21.1, 16p, 19p, 18chr. При этом выявлено, что появление в остаточной резидуальной опухоли в процессе НХТ любых двух и более амплификаций этих регионов приводит к 100 % гематогенному метастазированию, у всех остальных больных с элиминацией ОК, отсутствием действия химиотерапии на клоны или у больных с появлением делеционных клонов не было гематогенных метастазов в 5-летний период наблюдения (по методу Каплана – Майера, $p=0,00001$ Log-rank test). На основании этих данных нами была высказана рабочая гипотеза о том, что клоны, несущие амплификации в вышеуказанных локусах, являются потенциальными метастатическими клонами. Возможно, в процессе клональной эволюции опухоли соматическими опухолевыми клетками, благодаря гиперэкспрессии (например, за счет амплификации локусов) генов (которые связывают с индукцией стволовых клеток), приобретает способность к обратному переходу в опухолевые стволовые клетки – осуществление сомато-стволового перехода. Предполагается, что только такие опухолевые клетки могут образовывать метастазы [1, 2].

Материал и методы. В исследование включены 62 больных с морфологически верифицированным диагнозом РМЖ ПА – ПИВ (T1–4N0–3M0), возраст 26–68 лет (средний возраст $47,43 \pm 0,78$ года). Материалом для исследования служили парные образцы биопсийного материала до лечения для каждого из пациентов. Была выделена ДНК и РНК из исследуемого материала при помощи наборов QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany) и RNeasy mini kit plus (Qiagen, Germany) соответственно. Наличие амплификаций определялось в вышеуказанных регионах с использованием микроматрицы CytoScan HD Array (Affymetrix, USA). Экспрессию генов сомато-стволового перехода оценивали при помощи метода обратного транскриптной ПЦР в режиме реального времени (qPCR) с оригинальными праймерами и зондами по технологии TaqMan.

Результаты. Была показана гиперэкспрессия в резидуальной опухоли после НХТ генов сомато-стволового перехода (TERT; OCT3; SMO; MYC; SNAI2; MOB3B; TGFBR1; KLF4; BMI1; VIM; FLT3; LAT; SMAD2; LMNB2; KLF1; TGFb) у больных с развившимися впоследствии метастазами. Установлено, что у больных без метастазов до лечения гиперэкспрессированы 5 генов – OCT3; BMI1; LMNB2; TGFb1 и FLT3; у больных с метастазами до лечения гиперэкспрессированы 7 генов – OCT3; BMI1; LMNB2; TGFb1; TERT; SNAI2; TGFbR1. После проведения НХТ в остаточной резидуальной опухоли больных без гематогенных метастазов частота гиперэкспрессированных генов не меняется. У больных с метастазами после НХТ в остаточной резидуальной опухоли гиперэкспрессированы 14 из 16 изученных генов – кроме KLF1 и SMAD2. При этом было показано, что при гиперэкспрессии в остаточной резидуальной опухоли трех генов OCT3, LAT и LMNB2 у 69 % больных (11/16) зарегистрировано возникновение гематогенных метастазов. При гипоекспрессии хотя бы одного из этих генов 5-летняя безметастатическая выживаемость составляет 94 % (34/36).

Заключение. Получена модель прогнозирования возникновения гематогенного метастазирования на основе анализа экспрессии 16 генов сомато-стволового перехода. Чувствительность прогноза метастазирования составляет 69 %, специфичность – 94 %, диагностическая точность – 82 %.

Работа поддержана РНФ, грант 17-15-01203

ЛИТЕРАТУРА

1. Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Litviakov N.V. Natural and chemotherapy-induced clonal evolution of tumors. Biochemistry (Moscow). 2017; 82 (4): 413425. doi: 10.1134/S0006297917040022.

2. Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Казанцева П.В. Метастатические клоны опухоли молочной железы возникают в процессе клональной эволюции при проведении предоперационной химиотерапии. Материалы XII Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В. Васильева «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической онкологии». 2017; 5658.

ПРЕДСКАЗАТЕЛЬНАЯ И ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МЕТАСТАТИЧЕСКИХ КЛОНОВ У БОЛЬНЫХ ЛЮМИНАЛЬНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**П.В. Казанцева, Е.М. Слонимская, Н.В. Литвяков, М.К. Ибрагимова,
М.М. Цыганов**

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия

Аннотация

Была оценена предсказательная и прогностическая значимость метастатических клонов (amp. 5p, 6p, 7q, 8q, 13q, 9p, 9q, 10p, 10q21.1, 16p, 18chr, 19p) опухолей молочной железы. Для этого с помощью микроматриц определено состояние указанных хромосомных регионов в опухолевой ткани 102 пациенток с люминальным В РМЖ. 0-1 клон был идентифицирован у 42 пациенток – 1-я группа, 2 и более клонов у 60 пациенток – 2-я группа. Непосредственная эффективность НАХТ в 1-й группе составила 61,9 %, во 2-й группе – 70 % ($p=0,074$), частота развития ПМР – 4,8 % и 11,7 % ($p=0,226$), безметастатическая выживаемость 61,9 % и 83,3 % ($p=0,04$) соответственно. Таким образом, проведение НАХТ при наличии в опухоли 2 и более метастатических клонов сопряжено как с более высокими показателями непосредственной эффективности, так и с достоверно лучшими показателями безметастатической выживаемости.

Ключевые слова: рак молочной железы, предсказательные и прогностические критерии, метастатические клоны.

PREDICTIVE AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF METASTATIC CLONES IN PATIENTS WITH LUMINAL BREAST CANCER

**P.V. Kazantseva, E.M. Slonimskaya, N.V. Litvykov, M.K. Ibragimova,
M.M. Tsyganov**

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

We estimated the predictive and prognostic significance of metastatic clones (amp. 5p, 6p, 7q, 8q, 13q, 9p, 9q, 10p, 10q21.1, 16p, 18chr, 19p) of mammary tumors. Using microarrays, we determined the state of these chromosomal regions in the tumor tissue of 102 patients with luminal B breast cancer. 0-1 clone was identified in 42 patients (1-group), 2 or more clones in 60 patients (2-group). The CR+PR in 1-group was 61.9 %, in 2-group, 70 % ($p=0.074$), the PCR 4.8 % and 11.7 % ($p=0.226$), non-metastatic survival 61.9 % and 83.3 % ($p=0.04$) respectively. The implementation of NACHT in the presence of 2 or more metastatic clones in a tumor is associated, both with higher PCR and PR indices, and with significantly better indicators of non-metastatic survival.

Keywords: breast cancer, predictive and prognostic criteria, metastatic clones.

Актуальность. Рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующие позиции по показателям заболеваемости и смертности среди женского населения как в мире, так и в России. Выделяют 5 молекулярных подтипов РМЖ: люминальный А, люминальный В (HER2-), люминальный В (HER2+), HER2-положительный, тройной негативный [1]. Данное деление на подтипы является основополагающим при планировании лечения и прогнозировании исхода заболевания. Для пациентов с люминальным В типом опухоли прогностическую ценность имеют еще и различные мультипараметрические генные сигнатуры (Oncotype DX, PAMF 50, Mammaprint) [2]. Давно известно о положительном прогностическом значении полной морфологической регрессии (ПМР) на фоне НАХТ у пациентов с РМЖ. Однако среди больных с люминальным В типом РМЖ достижение такой эффективности составляет всего 7–9 %. При этом к влиянию НАХТ на прогноз заболевания следует отнести не только показатели непосредственной эффективности, но и возможное изменение генетического ландшафта опухоли под действием цитостатических препаратов. Было показано значимое увеличение показателей безметастатической выживаемости при элиминации соматических мутаций генов TP53 и PIK3CA в ткани опухоли под действием НАХТ [3]. Наряду с описанием положительного эффекта НАХТ в литературе имеются данные о ее негативном влиянии, в частности химиоиндуцированном возникновении метастазов [4]. Это может быть связано с появлением на фоне НАХТ в ткани опухоли новых амплификационных клонов. Кроме этого, обсуждается роль амплификаций локусов генов сомато-стволового перехода в развитии отдаленных метастазов на фоне НАХТ [5,6].

Очевидно, что необходим поиск новых информативных предсказательных и прогностических критериев у больных РМЖ. **Целью исследования** явилась оценка предиктивной и прогностической значимости амплификаций локусов генов сомато-стволового перехода в ткани опухоли больных люминальным В РМЖ.

Материал и методы. В исследование включено 102 пациентки с морфологически подтвержденным люминальным В (Her2отр) РМЖ (T2–3N0–3M0) в возрасте от 29 до 61 года, получавших лечение в НИИ онкологии с 2010 по 2016 год. До начала лечения выполнялось выделение ДНК опухоли с последующим ее исследованием с помощью микрочипов CytoScanTM HD Array (Affymetrix, USA). Оценивалось состояние регионов ДНК, в которых локализованы гены сомато-стволового перехода: 5p, 6p, 7q, 8q, 13q, 9p, 9q, 10p, 10q21.1, 16p, 18chr, 19p. Амплификация любого из указанных хромосомных регионов обозначалась как метастатический клон. Все пациенты первым этапом получили 4–6 курсов НАХТ (по схемам FAC, CAX, CP, AT, таксаны в монорежиме), с последующим хирургическим лечением и назначением адъювантной гормонотерапии на срок 5 лет. Эффект НАХТ оценивается по шкале ВОЗ на основании данных УЗИ и маммографии. Выживаемость оценивалась методом Каплан – Майер.

Результаты. Из 102 пациенток полное отсутствие в опухолевой ткани метастатических клонов или наличие только одного из них было выявлено у 41 % ($n=42$) больных. Они вошли в 1-ю группу. Наличие двух и более метастатических клонов было идентифицировано у 59 % ($n=60$) женщин, которые составили 2-ю группу.

Непосредственная эффективность по сумме частичных и полных регрессий составила 66,7 % ($n=68$). При этом в 1-й группе показатель равен 61,9 % ($n=26$), а во 2-й – 70 % ($n=42$) ($p=0,074$). ПМР опухоли наблюдалась у 8,8 % ($n=9$) пациентов: в 1-й группе она была зарегистрирована у 4,8 % ($n=2$) больных, а во 2-й у 11,7 % ($n=7$) больных. Несмотря на разницу более чем в два раза, данные не прошли проверку на статистическую значимость ($p=0,226$). Возможно, это связано с небольшим количеством пациентов. При оценке пятилетней безметастатической выживаемости, было показано, что в 1-й группе она составила 61,9 % ($n=25$),

а во второй – 83,3 % (n=50). Различия статистически значимы ($p=0,04$). Следует отметить, что в течение первых двух лет наблюдения различия между выживаемостью в группах не было. Тогда как, начиная с третьего года, показатели выживаемости у пациентов 1-й группы заметно снизились (рис. 1).

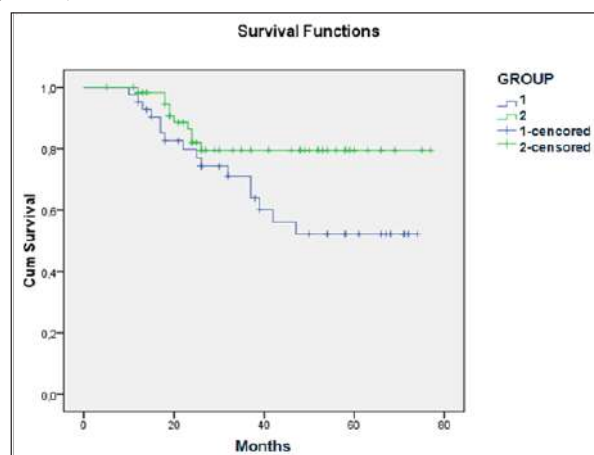


Рис. 1. Безметастатическая выживаемость в группах исследования

Таким образом, проведение НАХТ при наличии в опухоли 2 и более метастатических клонов сопряжено как с более высокими показателями непосредственной эффективности, так и с достоверно лучшими показателями безметастатической выживаемости.

Выводы. 1. Определение амплификаций в хромосомных регионах: 5p, 6p, 7q, 8q, 13q, 9p, 9q, 10p, 10q21.1, 16p, 18chr, 19p может рассматриваться в качестве дополнительного, информативного, прогностического критерия. 2. Наличие в опухолевой ткани 2 и более метастатических клонов является показанием к назначению НАХТ пациентам с люминальным В РМЖ. 3. При отсутствии в опухолевой ткани метастатических клонов или идентификации только одного из них назначение НАХТ нецелесообразно. У такой когорты больных лечение следует начинать с хирургического вмешательства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Liu Z.F., Chen C., Yao X.L., Sun S.R. Clinicopathological characteristics and prognosis of different molecular types of breast cancer. *Zhonghua yi xue za zhi*. 2016; 96(22). 1733-1737.
2. Györfy B., Hatzis C., Sanft T., Hofstätter E., Aktas B., Pusztai L. Long-term follow-up of early stage breast cancer patients with results of MammaPrint®, Oncotype DX® and MammoStrat® risk classification assays. *Cancer Research*. 2017; 77(4). doi:10.1158/1538-7445.
3. Jiang Y.Z., Yu K.D., Bao J., Peng W.T., Shao Z.M. Favorable prognostic impact in loss of TP53 and PIK3CA mutations after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Cancer Res*. 2014; 74: 3399–3407.
4. Findlay J.M., CastroGiner F., Makino S., Rayner E., Kartsonaki C., Cross W. Differential clonal evolution in oesophageal cancers in response to neoadjuvant chemotherapy. *Nat. Commun*. 2016; 7: 1–13.
5. Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Литвяков Н.В. Естественная и химиоиндуцированная клonalная эволюция опухоли. 2016; 82(4): 572-576.
6. Litviakov N., Cherdynseva N., Ibragimova M., Tsyganov M., Doroshenko A. The clonal evolution of a breast tumor during neoadjuvant chemotherapy and metastasis. *Annals of oncology*. 2016; 27(6): 94.

ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ 5-ФТОРУРАЦИЛА И ПРЕПАРАТА ПЛАТИНЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВНУТРИТКАНЕВОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Д.О. Каймакчи, А.Г. Милакин

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ РФ,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

В данной работе экспериментальным путем установлена эффективность внутритканевого введения препаратов 5-фторурацила и цисплатина на аутоплазме при воздействии на опухолевые ткани.

Ключевые слова: 5-фторурацил, препараты платины, фармакинетика, внутритканевая химиотерапия.

CHARACTERISTICS OF PHARMACOKINETICS OF 5-FLUOROURACIL AND CISPLATIN IN EXPERIMENTAL INTRATISSUAL CHEMOTHERAPY

D.O. Kaymakchi, A.G. Milakin

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

The study showed that at intratissual injections of 5-fluorouracil, in due time, the amount of the drug in the liver parenchyma after its injection with autoplasm was 5 times higher than after the injection with the standard solvent.

Keywords: chemotherapy, intratissual, 5-fluorouracil, cisplatin, autoplasm, oncology, pharmacodynamics, pharmacokinetics.

Актуальность. Актуальным для современной онкологии является повышение эффективности противоопухолевого лечения, в связи с чем применяются комбинации различных методов терапии, разрабатываются новые препараты и усовершенствуются оперативные вмешательства. Одной из важнейших составляющих противоопухолевого лечения является лекарственная терапия. При этом внутритканевое введение лекарственных препаратов позволяет доставлять цитостатики непосредственно в место полезного действия (ткань или ложе опухоли).

Материал и методы. Для исследования выбраны два объекта – ткань, в которую препарат вводили, и сыворотка крови, как основная транспортная система организма. Для опытов были использованы 40 самцов белых беспородных крыс в возрасте 8–10 мес массой 280–320 гр. При экспериментальном моделировании интраоперационно вводили в паренхиму печени животным химиопрепараты, предварительно инкубированные с аутоплазмой периферической крови. Использованы следующие химиопрепараты: 5-фторурацил («Лэнс», Россия), цисплатин («Pharmacia&Upjohn», Италия).

Результаты и обсуждение. Нами было установлено, что через 30 мин от момента внутритканевой инъекции 5-фторурацила количество препарата в паренхиме печени после введения его на аутоплазме практически в 5 раз превосходило таковое после введения его на традиционном растворителе.

Выводы. Проведенный эксперимент, позволяет рекомендовать метод введения препарата на аутоплазме для широкого внедрения в клиническую практику.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лакин К.М., Крылов Ю.Ф. Биотрансформация лекарственных веществ. М.: Медицина, 1981. 472.
2. Филлов В.А., Кулик Г.И. Общие проблемы фармакокинетики противоопухолевых препаратов. Вопросы онкологии. 1983. т. XXIX №7.
3. Орловская Л.А., Солдаткина Н.В., Емельянова Л.Э., Касьяненко В.Н., Малейко М.Л., Петров Д.С., Дашиков А.В., Анапаян В.Х., Донцов В.А., Харагезов Д.А., Гончаров И.В., Гулева М.Н. Интраоперационная химиотерапия на аутосредах организма в улучшении результатов комплексного лечения больных раком молочной железы и толстой кишки. Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. 2005; S10: 63–67
4. Сидоренко Ю.С., Бордюшков Ю.Н., Франциянц Е.М., Орловская Л.А., Солдаткина Н.В., Непомнящая Е.М., Сорокин А.А., Гуськова Н.К. Некоторые механизмы действия аутогемохимиотерапии в эксперименте на животных. Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. 2005; 2: 111–115

ТЕРМОХИМИОЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ В НЕОАДЪЮВАНТНОМ ЛЕЧЕНИИ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ

А.А. Карпов, Д.В. Ерыгин

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России.) г. Обнинск, Россия

Аннотация

У больных раком прямой кишки необходимо проведение на дооперационном этапе комбинированного лечения, включающего в себя пролонгированную химиолучевую терапию, а в некоторых случаях курс гипертермии с хирургическим вмешательством. В настоящей работе термохимиолучевая терапия проведена у 40 пациентов, местные реакции наблюдались у 15 больных. Летальности в послеоперационном периоде не отмечено.

Ключевые слова: рак прямой кишки, термохимиолучевая терапия.

THERMOCHEMI-RADIOTHERAPY IN NEOADJUVANT TREATMENT OF LOCALLY EXPANDED RECTAL CANCER

A.A. Karpov, D.V. Yerygin

A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of the Federal State Budget Institution «National Medical Research Center of Radiology» of the Health Ministry of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Abstract

It is necessary to carry out a combined neoadjuvant treatment in patients with rectal cancer, including prolonged chemoradiotherapy and in some cases a course of hyperthermia with surgical intervention. In this work thermochemi-radiotherapy was performed in 40 patients. Local reactions were observed in 15 patients. Mortality in the postoperative period was not noted.

Keywords: rectal cancer, thermochemi-radiotherapy.

В мире ежегодно диагностируют более 600 000 новых случаев рака прямой кишки [1]. В структуре смертности от онкологических заболеваний рак прямой кишки занимает 3-е место. По данным статистики, прирост превышает 15 % за 10 лет. В мире рак прямой кишки, включая рак анальной зоны, составляет примерно 2/3 (75 %) всех опухолей толстой кишки [2].

Среди больных раком прямой кишки особое место занимают местно-распространенный и прогностически неблагоприятный варианты течения заболевания. К прогностически неблагоприятным факторам, которые оказывают негативное влияние на течение заболевания и результаты лечения, относятся: сосудистая инвазия опухоли по данным МРТ; множественное поражение регионарных лимфатических узлов; выраженная (T3c,d-T4) инвазия опухоли в мезоректальную клетчатку, положительный латеральный край резекции (по данным МРТ); локализация опухоли в нижеампулярном отделе прямой кишки [3]. Данная категория пациентов требует проведения на дооперационном этапе комбинированного лечения, включающего в себя пролонгированную химиолучевую терапию, а в ряде случаев целесообразно применение локальной электромагнитной гипертермии, с хирургическим лечением в объеме тотальной мезоректумэктомии и адьювантой химиотерапии. В тех случаях, когда после неоадьювантного лечения достигается полная регрессия опухоли, возможно применение тактики динамического наблюдения.

Материал и методы. Пациенты с локализацией опухоли до 10 см от анального края, получавшие в качестве неоадьювантного лечения термохимиолучевую терапию: конвенциональную лучевую терапию методикой классического фракционирования дозы в РОД 2 Гр, до СОД 50 Гр, в течение 5 нед на фоне химиотерапии: оксалиплатин 50 мг/м² в/в в 1, 8, 22, 29 дни и капецитабин в дозе 825 мг/м² 2 раза в день с 1 по 14-й и с 22 по 33-й дни лучевой терапии в сочетании с локальной гипертермией (ГТ). Внутриполостная электромагнитная гипертермия будет выполняться на установке «Яхта-4», начиная с первого дня курса лечения, с интервалом 48 ч, непосредственно перед процедурой лучевой терапии. Продолжительность сеанса гипертермии 60 мин, их количество – 4–6, в зависимости от переносимости. По окончании курса неоадьювантного лечения – перерыв длительностью 8–10 нед, после чего вновь выполняется комплексное обследование с целью оценки ответа первичной опухоли на лечение.

Сравнительная оценка ответа опухоли на степень распространённости опухолевого процесса до и после лечения проводилась по данным МРТ органов малого таза в соответствии с

критериями TRG (Braun G.) Для изучения токсических реакций будут использоваться средства объективного контроля, такие как показатели периферической крови, биохимические показатели, местные реакции со стороны слизистой прямой кишки, оценка влияния лечения на другие органы и системы (шкалы RTOG или CTC AE).

Хирургическое лечение больных выполнялось через 8–10 нед после окончания курса термохимиолучевой или химиолучевой терапии, в соответствии с современными требованиями, включающими:

- тотальную мезоректумэктомию;
- высокую перевязку нижней брыжеечной артерии и вены;
- нервосохраняющую методику мобилизации прямой кишки;
- использование методики экстрафасциального выделения прямой кишки (по показаниям).

выполнение мультивисцеральных резекций единым блоком – при распространении опухоли прямой кишки на соседние органы.

использование как открытого, так и лапароскопического доступа.

После оперативного вмешательства в обязательном порядке выполнялась гистологическая оценка патоморфоза опухоли.

Результаты. Полный объем термохимиолучевой терапии реализован у всех 40 больных. В ходе лечения у пациентов оценивался профиль токсичности лечения. Местные реакции представлены ректитом 1–2 степени тяжести и наблюдались у 15 больных (37,5 %). Гематологическая токсичность была представлена лейкопенией 1–2 степени тяжести и отмечена у 14 пациентов (35 %). Следует отметить, что токсические реакции не стали причиной отмены проводимого лечения, и курс термохимиолучевой терапии реализован в полном объеме у всех 40 пациентов.

При контрольном обследовании через 8–10 нед по данным МРТ полная клиническая регрессия отмечена у 9 больных. Хирургическому лечению подвергнуты 29 больных. 11 человек не оперированы в связи с полной клинической регрессией опухоли, а также самотетическим состоянием. Органосохраняющие операции выполнены у 20 больных. У 9 выполнена брюшнопромежностная экстирпация прямой кишки. Летальности в послеоперационном периоде не отмечено. Послеоперационные осложнения наблюдались у 10 больных. Из них несостоятельность колоректального анастомоза у 5 больных, что составило 12 %

Выводы. Термохимиолучевая терапия позволяет реализовать план органосохраняющего лечения. Метод демонстрирует приемлемый уровень токсичности, при относительно высоком уровне полных клинических регрессий. Метод сочетается со всеми видами радикальных хирургических вмешательств при раке прямой кишки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Status of cancer care the population of Russia in 2016. М.: MCRIО them. PA Herzen branch FSI «NMRCR» Russian Ministry of Health, 2017. 236.
2. Siegel R., Miller K., Jemal A. Cancer statistics, 2016. CA CANCER J. CLIN. 2016; 66: 730.
3. Erygin D.V., Berdov B.A., Nevolskih A.A., Titova L.N., Smirnova S.G. Neoadjuvantchemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. Oncology. Journal of them. PA Herzen in 2015; 1: Volume 4; 1320.

ИЗУЧЕНИЕ АТИПИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТОК РАКА ШЕЙКИ МАТКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Е.В. Каюкова¹, Т.Е. Белокринцкая¹, Л.Ф. Шолохов², П.П. Терешков¹

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Чита, Россия¹

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск, Россия²

Аннотация

Метаболическое перепрограммирование опухолевых клеток является одним из звеньев карциногенеза. Одним из возможных путей этого процесса может являться наличие пропионатного пути синтеза жирных кислот. В работе проведена оценка влияния пропионата на спектр кислот на примере рака шейки матки. Показано, что изменение биохимических показателей даже в пределах одной патологии разнонаправлено, что может служить подтверждением фенотипического разнообразия опухолевых клеток.

Ключевые слова: пропионат, рак шейки матки, высшие жирные кислоты.

THE RESEARCH OF ATYPICAL METABOLISM OF CERVICAL CANCER CELLS IN EXPERIMENT

E.V. Kayukova¹, T.E. Belokrinitskaya¹, L.F. Sholokhov², P.P. Tereshkov¹

Chita state medical academy, Chita, Russia¹

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia²

Abstract

Metabolic reprogramming of tumor cells is one of the links in carcinogenesis. One of the possible ways of this process may be a propionate pathway for the synthesis of fatty acids. The work evaluates the effect of propionate on the spectrum of acids on the model of cervical cancer. It is shown that the change in biochemical parameters, even within the same pathology, is multidirectional, which can serve as confirmation of the phenotypic diversity of tumor cells.

Keywords: propionate, cervical cancer, higher fatty acids.

Известно, что метаболическое перепрограммирование опухолевых клеток является одним из ведущих звеньев канцерогенеза. В настоящей работе мы попытались подтвердить гипотезу пропионатного пути синтеза высших жирных кислот с нечетным числом атомов углерода при цервикальном раке.

Проблема рака шейки матки в современной онкологии является одной из самых актуальных, учитывая широкую распространенность заболевания (I место в структуре онкогинекологической заболеваемости), поражение женщин преимущественно трудоспособного и детородного возраста.

Цель исследования – оценить влияние пропионата *in vitro* на спектр высших жирных кислот тканевых липидов шейки матки при предопухолевых заболеваниях и неоплазиях экзоцервикса.

Материал и методы. В исследование были включены 58 женщин, проходивших обследование и лечение в Забайкальском краевом онкологическом диспансере. Средний возраст пациенток составил 38±8,26 года. Все обследуемые были информированы о проводимой работе и дали свое письменное согласие на участие в ней. Исследование проведено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki, 1964, 2013 ред.) с согласия Локального этического комитета Читинской государственной медицинской академии.

В качестве образцов для исследования служили фрагменты ткани шейки матки, полученные путем прицельной биопсии или интраоперационно в ходе проведения оперативного пособия. В соответствии с данными гистологического исследования каждый фрагмент ткани был разделен на 2 локуса: А – опухолевый очаг, Б – ткань без признаков злокачественного роста. Было выделено 3 изучаемых группы больных: I – пациентки с диагнозом РШМ (20 – гистологически плоскоклеточный рак 0-Ib стадии), II – с предраковыми заболеваниями шейки матки (20 – цервикальная интраэпителиальная неоплазия III степени), III – здоровые женщины (18) – контрольная группа.

Для получения клеточной суспензии кусочки биоптата измельчали и гомогенизировали с использованием набора реагентов Tumor Dissociation Kit (Miltenyi Biotec GmbH, Германия), согласно инструкции. Полученную суспензию клеток фильтровали через капроновый фильтр с размером ячеек 30 мкм (Miltenyi Biotec GmbH, Германия). Затем клетки отмывали промывающим буфером autoMACS Rinsing Solution (Miltenyi Biotec GmbH, Германия). Количество клеток определяли с помощью проточного цитофлуориметра FC500 (BeckmanCoulter, США) с использованием счетных флуоросфер FLOW-COUNT (BeckmanCoulter, США). Для изучения спектра ВЖК липиды экстрагировали методом J. Folch (1957).

Результаты исследования оценивали до и после 24-часовой инкубации без («чистая» или «изолированная» инкубация) и с 50 мкмоль/л пропионовой кислоты.

Результаты. При злокачественной трансформации экзоцервикса в пределах одного органа метаболизм высших жирных кислот разнонаправлен.

В локусе цервикального рака, вероятнее всего, имеет место пропионатный путь синтеза ВЖК с использованием пальмитата, что подтверждает факт детекции C_{19:0} на фоне снижения

пула $C_{16:0}$. Дефицит пальмитиновой и стеариновой кислот на фоне высоких концентраций $C_{20:0}$, $C_{14:1}$, $C_{15:1}$, $C_{16:1}$, $C_{17:1}$ может указывать на интенсификацию реакций элонгации и деса-турации в раковых клетках.

Известно, что метаболит пропионата – метилмалонил КоА – является ингибитором β -окисления ЖК, вероятно, поэтому в относительное накопление полиеновых аналогов во всех патологических группах.

При тяжелой цервикальной дисплазии метаболизм жирных кислот иной. Пальмитиновая кислота использовалась на образование стеариноата, который метаболизируется в олеиноат.

Резюмируя, можно отметить специфичность выявленных биохимических изменений в пределах одного органа и одной патологии, что, с одной стороны, отражает этапность развития онкологического процесса, а с другой – служит отражением «мозаичного» фенотипа опухолевых клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аганова Ю.Р. Закономерности изменения тканевого фосфолипидного и жирнокислотного статуса при раке легкого [дис. ... канд. мед. наук]. [Чита]; 2000. 148.
2. Караваева Т.М., Фалько Е.В., Медведев К.К. Взаимоотношения между уровнем высших жирных кислот в крови и эпидермисе при псориазе. Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины : материалы Верос. науч.-практ. конф., посвящ. 55-летию ЧГМА. Чита, 2008. 181182.
3. Куликов В.А., Беляева Л.Е. Метаболическое перепрограммирование раковых клеток. В.А. Куликов. Вестник ВГМУ. 2013; 12(2): 618.
4. Мартынов В.А. Об изменениях структуры и биохимических параметров в клетках под влиянием раковой трансформации и их восстановления под влиянием средств, не обладающих противоопухолевой активностью. Вестник ТГУ. 2003; 8(2): 315322.
5. Фалько Е.В., Хыицктуев Б.С., Караваева Т.М., Терешков П.П., Гомбоева А.Ц. Патогенетические аспекты обмена жирных кислот с короткой цепью и продукции цитокинов в пораженных участках кожи при псориазе. Клиническая лабораторная диагностика. 2012; 1.
5. Сияк У.М., Оргель М.Л., Крук В.И. Метод приготовления липидов крови для хроматографического исследования. Лабораторное дело. 1973; 1: 3741.
6. Хыицктуев Б.С. Липиды биологических объектов: их роль в патогенезе и диагностике заболеваний системы органов дыхания : [дис. ... д-ра мед. наук]. [Иркутск]; 1995. 222.
7. Хыицктуев Б.С., Каюкова Е.В. Патогенетические аспекты участия жирных кислот в опухолевом процессе [Электронный ресурс]. URL: <http://medacadem.chita.ru/zmv> (дата обращения: 10.01.2011)
8. Byberg L., Kilander L., Warensjö Lemming E., Michaëlsson K., Vessby B. Cancer death is related to high palmitoleic acid in serum and to polymorphisms in the SCD-1 gene in healthy Swedish men1–3. Am. J. Clin Nutr. 2014; 99: 551–558.
9. Folch M., Less A.G.H. Sloane-Stanley A symple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 1957; 226(1): 497509.

СТРУКТУРНЫЕ ВАРИАНТЫ МС У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ

А.Ю. Кишкина

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Целью исследования явилась оценка встречаемости структурных вариантов метаболического синдрома (МС) у больных раком эндометрия. **Материал и методы.** В исследование включены результаты ретро и проспективного анализа клинических данных 238 больных раком эндометрия, получивших хирургическое лечение в клинике НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2013 по 2017 г. **Результаты.** Согласно критериям IDF, из 238 больных раком эндометрия у 135 (56,7 %) диагностирован МС. У 127 (94 %) пациенток наблюдалась I стадия. Наиболее распространенной формой МС была 4-компонентная (51 %). Средний возраст больных с 5-компонентным МС составил 53,2 года. Отмечалось увеличение ИМТ при 5-компонентном МС. Таким образом, удельный вес больных раком эндометрия с метаболическим синдромом составил 56,7 %, при этом наиболее распространенным вариантом была 4-компонентная форма МС (51 %). На фоне МС рак эндометрия I стадии наблюдался у 94 %, при этом у всех пациенток морфологически верифицирована эндометриоидная аденокарцинома.

Ключевые слова: структурные варианты метаболического синдрома, рак эндометрия.

STRUCTURAL VARIANTS OF MS IN PATIENTS WITH ENDOMETRIAL CANCER

A.Yu. Kishkina

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, Tomsk, Russia

Abstract

The aim of the study was to assess the incidence of variants of MS in patients with endometrial cancer. Materials and methods. The study includes results of a retrospective and prospective analysis of clinical data of 238 patients with endometrial cancer who received surgical treatment at the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center from 2013 to 2017. Results. According to IDF criteria, out of 238 patients with endometrial carcinoma, 135 (56.7 %) patients with endometrial cancer were diagnosed in combination with MS. In 127 (94 %) patients, stage I was observed. The most common form of MS was 4-component syndrome (51 %). The average age of patients with 5-component MS was 53.2±years. There was an increase in body mass index in patients with 5-component MS. Thus, the proportion of endometrial cancer patients with metabolic syndrome was 56.7 %, with the most common variant being the 4-component form of MS (51 %). In combination with MS, endometrial cancer of stage I was observed in 94 %, while in all patients endometrioid adenocarcinoma was morphologically verified.

Keywords: variants of metabolic syndrome, endometrial cancer.

Актуальность. На протяжении последних десятилетий заболеваемость раком эндометрия (РЭ) весьма заметно увеличивается, что нередко связывается с прогрессирующей эпидемией ожирения [1]. Ожирение не всегда является однозначным в его проявлениях и последствиях, оправдывая, в первую очередь, различие между его фенотипами и подчеркивая необходимость их сравнительного изучения у больных раком, включая пациенток с РЭ [2].

В соответствии с международными рекомендациями [3] клинически выделяют трех-, четырех- и пятикомпонентный МС. Доля больных с трехкомпонентным вариантом МС значительно выше, чем с четырьмя и пятью компонентами. [4]. Так, например, в Санкт-Петербурге встречаемость всех пяти компонентов МС (то есть его полной формы) у лиц с абдоминальным ожирением, 30–55-летнего возраста была небольшой и составила 12,3 % (IDF, 2005) и 11,2 % (ESH-ESC, 2007). А у жителей Горной Шории – 0,15 % [5], что еще раз подчеркивает различия встречаемости МС в разных регионах России.

Практически не изучена частота встречаемости структурных вариантов МС у больных раком эндометрия. Учитывая высокую частоту встречаемости МС и РЭ (61,7 %) [6], **целью исследования** явилась оценка встречаемости структурных вариантов МС у больных раком эндометрия.

Материал и методы. В исследование включены результаты ретро и проспективного анализа клинических данных 238 больных раком эндометрия, получивших хирургическое лечение в клинике НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2013 по 2017 г. Стадия рака тела матки определялась в соответствии с международной классификацией FIGO(2009г) и TNM (UICC, 7-й пересмотр, 2010 г.). Для выявления МС были использованы критерии Международной федерации диабета (IDF 2005 г.). У 135 (56,7 %) больных раком эндометрия диагностирован МС.

Результаты. Согласно критериям Международной федерации диабета (IDF 2005 г.), из 238 больных раком эндометрия у 135 (56,7 %) выявлен метаболический синдром. При этом первая стадия РЭ наблюдается у 127 (94 %) пациенток, вторая стадия – у 4 (2,9 %) пациенток и третья стадия – у 4 пациенток (2,9 %). У больных первой стадии был проведен анализ особенностей течения рака эндометрия на фоне МС. У всех больных была диагностирована эндометриоидная аденокарцинома. При оценке глубины инвазии было отмечено, что опухоль в пределах слизистой наблюдалась у 18 (14,1 %) больных, глубиной инвазии до ½ миометрия – у 83(65,3 %) пациенток, глубиной инвазии более ½ миометрия – у 26(20,4 %) больных. При оценке степени дифференцировки выявлено, что высокая степень наблюдалась у 21(16,5 %) пациентки, умеренная – у 84(66,1 %) пациентки и низкая – у 22(17,3 %) больных. При оценке репродуктивной функции было отмечено, что 108 (85 %) пациенток находились в менопаузе и 19 (14,9 %) пациенток были репродуктивного возраста. Средний возраст больных составил

54,3 года. Оценка частоты встречаемости 3-, 4- и 5-компонентного МС показала, что наиболее распространенной формой была 4-компонентная, частота встречаемости ее составила 51 %, удельный вес 3-компонентного МС составил 19,3 %, 5-компонентного – 25,8 %. Чаще всего встречались следующие сочетания компонентов – АО, повышенный уровень АД, снижение ХС ЛПВП и повышенный уровень глюкозы (31,2 %), а также АО, повышенный уровень АД, снижение ХС ЛПВП и повышенный уровень триглицеридов (31,2 %).

Анализ клинического проявления 3-компонентного МС показал, что в 51 % отмечено сочетание АО, повышенного уровня АД с нарушением углеводного и липидного обмена.

Средний возраст больных с 5-компонентным МС составил 53,2 года, что на 10 лет меньше, чем средний возраст больных РЭ при 3- и 4-компонентном МС (63,4 года).

Оценка ИМТ у больных РЭ с различными структурными вариантами МС показала его увеличение при многокомпонентном МС. Так, при 3-компонентном МС больные РЭ с III степенью ожирения составили 16,6 % и со II степенью ожирения 33,3 %, а при 4-компонент – 12,5 %, 18,7 %, при 5-компонентном – 50 %, 12,5 % соответственно.

Таким образом, удельный вес больных раком эндометрия с метаболическим синдромом составил 56,7 %, при этом наиболее распространенным вариантом была 4-компонентная форма МС (51 %). На фоне МС рак эндометрия I стадии наблюдался у 94 %, при этом у всех пациентов морфологически верифицирована эндометриодная аденокарцинома, более чем в половине случаев наблюдалась умеренная степень дифференцировки и глубина инвазии до ½ миометрия. Выявлено, что с увеличением компонентов МС отмечалось снижение возраста больных РЭ. При 5-компонентном МС средний возраст больных составил 53,2 года. Кроме того, при увеличении компонентов МС отмечалось увеличение степени ожирения. Ожирение III степени наблюдалось у 50 % больных раком эндометрия с 5-компонентным МС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nevadunsky N.S., Van Arsdale A., Strickler H.D., Moadel A., Kaur G., Levitt J., Girda E., Goldfinger M., Goldberg G.L., Einstein M.H. Obesity and age at diagnosis of endometrial cancer. *Obstet Gynecol.* 2014 Aug; 124(2Pt1): 3006. doi: 10.1097/AOG.0000000000000381.
2. Коломиец Л.А., Бочкарева Н.В., Чернышова А.Л. Рак эндометрия и метаболический синдром. Томск: Изд-во «Иван Федоров», 2010. 228.
3. International Diabetes Federation [Интернет]. URL: <https://www.idf.org/> (дата обращения: 01.05.2018)
4. Konradi A.O., Rotar O.P., Korostovtseva L.S., Ivanenko V.V., Solntsev V.N., Anokhin S.B., Bart V.A., Shlyakhto E.V. Prevalence of metabolic syndrome components in a population of bank employees from St. Petersburg, Russia. *Metab Syndr Relat Disord.* 2011 Oct; 9(5): 33743.
5. Огарков М.Ю., Барбараиш О.Л., Казачек Я.В., Квиткова Л.В., Поликутина О.М., Барбараиш Л.С. Распространенность компонентов метаболического синдрома у коренного и некоренного населения Горной Шории. *Бюлл. СО РАМН.* 2004; 1: 108111.
6. Yunusova N.V., Kondakova I.V., Kolomiets L.A., Afanas'ev S.G., Chernyshova A.L., Kudryavtsev I.V., Tsydenova A.A. Molecular targets for the therapy of cancer associated with metabolic syndrome (transcription and growth factors). *Asia-Pac J Clin Oncol.* 2017; 8 November; 1–7.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОФИЛЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МИКРОРНК У ПАЦИЕНТОВ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ СВЕТЛОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ПОЧКИ

Е.А. Климентова, И.Р. Гилязова

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа, Россия

Аннотация

Введение. МикроРНК играют важную роль в различных физиологических и патологических процессах, включая метастазирование опухоли. **Материал и методы.** Исследование профиля экспрессии микроРНК, характеризующего метастатический светлоклеточный рак почки (СРП), было проведено в 18 образцах первичной опухоли, 6 образцах метастатической опухоли и 6 образцах нормальной ткани почек пациентов СРП с использованием технологии OpenArray в QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System. **Результаты.** В настоящем исследовании мы обнаружили, что экспрессия микроРНК-199b (FDR p-value = 0,0001) и микроРНК-582 (FDR p-value = 0,0001) была значительно снижена при метастатическом СРП, чем таковая в прилежащей ткани и первичной опухоли. Эти микроРНК ранее не были описаны при раке почки, но есть сообщения об изменениях их экспрессии в других типах рака. **Выводы.** Хотя невозможно однозначно определить, какие функции выполняют эти микроРНК,

супрессорные или онкогенные, их участие в процессе канцерогенеза остается бесспорным. Учитывая описанные в литературе гены-мишени данных микроРНК и процессы, в которых они участвуют, можно предположить участие микроРНК-199b и микроРНК-582 в инвазии и миграции опухолевых клеток и, следовательно, в процессах метастазирования.

Ключевые слова: метастатический рак почки, микроРНК, экспрессия генов.

STUDY OF PROFILES OF MICRORNA GENES EXPRESSION IN METASTATIC CLEAR CELL RENAL CELL CARCINOMA PATIENTS

E.A. Klimentova, I.R. Gilyazova

Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

Abstract

Introduction: MicroRNAs (miRNAs) play essential roles in several physiological and pathological processes, including tumor metastasis. **Materials and Methods:** A global miRNA profiling study to identify a specific miRNA signature characterizing metastatic clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) was performed at 18 samples of primary tumor, 6 samples of metastatic tumor and 6 samples of normal renal tissue of ccRCC patients using OpenArray technology at QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System. **Results:** In the present study, we found that miR-199b (FDR p-value=0.0001) and miR-582 (FDR p-value=0.0001) expression was significantly downregulated in metastatic clear cell renal carcinoma compared with adjacent and primary carcinoma tissues. These microRNAs were not previously described in renal cancer, but there are reports of their expression altered in other cancer types. **Conclusions:** While it is impossible to uniquely determine the functions of these microRNAs, suppressor or oncogenic, however, their participation in the process of carcinogenesis remains unquestionable. Considering reported target genes of the microRNA data and the processes they are involved in, it is possible to assume the participation of miRNA-199b and microRNA-582 in the invasion and migration of tumor cells, and hence in the metastasis processes.

Keywords: metastatic renal cell carcinoma, microRNA, gene expression.

Актуальность. Рак почки (РП) – это гетерогенная группа злокачественных опухолей, подавляющее большинство которых представляют собой почечно-клеточные карциномы (ПКК) различных морфологических типов. На сегодняшний день РП выявляется в основном с помощью различных методов визуализации: УЗИ, компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ) и др. Рак почки характеризуется бессимптомным течением, поэтому, когда пациент обращается с дискомфортом и жалобами, – это, как правило, уже местнораспространенный рак, не ограниченный почкой, выходящий в окружающую ткань за пределы почечной капсулы, в почечную или нижнюю полую вену. Метастазирование опухоли является одной из основных причин смертности от рака почки, в связи с чем особый интерес приобретает изучение молекулярных механизмов эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) [1]. Поскольку в метастазировании задействованы биохимические механизмы общего значения, в регуляции соответствующих генов важную роль играют микроРНК, которые участвуют в системных механизмах регуляции. [2]. Учитывая то, что в настоящее время не существует генетических маркеров прогноза метастазирования опухоли почки, актуальным является создание системы прогностических маркеров для формирования групп лиц, имеющих повышенный риск инвазивного роста опухоли с целью планирования необходимых профилактических мероприятий и выбора тактики лечения.

Материал и методы. Выделение тотальной РНК и микроРНК проводилось с помощью набора Quick-RNA™ MiniPrep (Zymo Research). Обратная транскрипция проводилась с помощью специфичных к микроРНК праймеров Megaplex Primer Pools (Life Technologies) и набора Human TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit (Life Technologies). Анализ экспрессии микроРНК проводился с помощью технологии OpenArray использованием QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System. Модель QuantStudio 12K Flex – прибор нового поколения для решения широкого спектра задач как для качественного, так и

для количественного анализа: SNP, экспрессии генов и микроРНК. Анализ экспрессии микроРНК проводили на 6 образцах нормальной почечной паренхимы и 6 образцах опухолевой ткани почки пациентов с метастатическим раком почки с гистологической верификацией морфологии ткани и диагнозом «светлоклеточный рак почки» с использованием слайдов TaqMan OpenArray MicroRNA Panel, содержащих уникальные TaqMan пробы на 758 микроРНК. Биоптаты почки были получены в ходе операций нефрэктомии, выполненных в клинике БГМУ и Республиканской клинической больницы. Для анализа данных использовали ExpressionSuite Software. Для нормализации данных использовали глобальную нормализацию.

Результаты. Проведенный анализ выявил два дифференциально экспрессирующихся гена между нормальной почечной паренхимой и опухолевой тканью. Кластер микроРНК с пониженным уровнем экспрессии включал микроРНК, не описанные ранее при раке почки (микроРНК-199b, микроРНК-582), однако достаточно хорошо охарактеризованные при других типах рака. Так, изменение экспрессии микроРНК-199b описано при многих типах рака и имеет достаточно противоречивый характер. Например, в исследовании K. Y. Won et al. было выявлено повышение экспрессии микроРНК-199b у пациентов с остеосаркомой в опухоли по сравнению с нормальной тканью, а также было показано, что miR-199b-5p влияет на путь Notch. Передача сигналов Notch играет ключевую роль в нормальном развитии многих тканей и типов клеток за счет разнообразных эффектов на клеточную судьбу, обновление стволовых клеток, дифференцировку, выживание и пролиферацию [3]. Также в результате исследования клеточных линий было установлено, что miR-199b может эффективно подавлять экспрессию HIF-1 α как при нормоксии, так и при гипоксии [4]. МикроРНК-582 также была описана при различных типах рака. Так, было выявлено, что уровень экспрессии микроРНК-582 снижен при раке мочевого пузыря и коррелирует со степенью злокачественности опухоли. Эксперименты на клеточных линиях показали, что восстановление уровня экспрессии микроРНК-582 ингибировало пролиферацию и инвазию клеток. Кроме того, эксперименты на мышинных моделях установили, что введение синтетического комплекса, содержащего микроРНК-582, вызывало ингибирование метастазирования и роста опухоли [5]. Напротив, при изучении немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) было показано повышение экспрессии микроРНК-582 в опухолевой ткани, а также положительные корреляции как с плохим прогнозом, так и с ранним рецидивом у пациентов с НМРЛ [6].

Выводы. Таким образом, существующая на сегодняшний день информация о функциональных особенностях микроРНК-199b и микроРНК-582 достаточно противоречива. Пока невозможно однозначно определить, какую функцию, супрессорную или онкогенную, несут данные микроРНК, однако несомненным остается их участие в процессе канцерогенеза. Учитывая обнаруженные гены-мишени данных микроРНК и процессы, в которых они задействованы, можно предположить участие микроРНК-199b и микроРНК-582 в процессах инвазии и миграции опухолевых клеток, а, следовательно, и в процессах метастазирования.

Работа частично финансировалась РФФИ, гранты №1744020050 и №17-44-020498

ЛИТЕРАТУРА

1. Крахмаль Н.В., Завьялова М.В., Денисов Е.В., Вторушин С. В., Перельмутер В.М. Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления. Acta Naturae (русскоязычная версия). 2015; 2(5).
2. Chan S-H., Wang L-H. Regulation of cancer metastasis by microRNAs. Journal of Biomedical Science. 2015; 22(1): 9. doi:10.1186/s12929-015-0113-7.
3. Won K.Y., Kim Y.W., Kim H.S., Lee S.K., Jung W.W., Park Y.K. MicroRNA-199b-5p is involved in the Notch signaling pathway in osteosarcoma. Hum Pathol. 2013 Aug; 44(8): 1648–55. doi: 10.1016/j.humpath.2013.01.016.
4. Wang C., Song B., Song W., Liu J., Sun A., Wu D., Yu H., Lian J., Chen L., Han J. Underexpressed microRNA-199b-5p targets hypoxia-inducible factor-1 α in hepatocellular carcinoma and predicts prognosis of hepatocellular carcinoma patients. J Gastroenterol Hepatol. 2011 Nov; 26(11): 1630–7. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06758.x.
5. Uchino K., Takeshita F., Takahashi R.U., Kosaka N., Fujiwara K., Naruoka H., Sonoke S., Yano J., Sasaki H., Nozawa S., Yoshiike M., Kitajima K., Chikaraishi T., Ochiya T. Therapeutic Effects of MicroRNA-582-5p and -3p on the Inhibition of Bladder Cancer Progression. Molecular Therapy. 2013; 21(3): 610–619. doi:10.1038/mt.2012.269.
6. Fang L., Cai J., Chen B., Wu S., Li R., Xu X., Yang Y., Guan H., Zhu X., Zhang L., Yuan J., Wu J., Li M. Aberrantly expressed miR-582-3p maintains lung cancer stem cell-like traits by activating Wnt/ β -catenin signalling. Nature Communications. 2015; 6: 8640. doi:10.1038/ncomms9640.

КАРДИОТОКСИЧНОСТЬ ХИМИОТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

О.В. Козюк, И.Б. Лысенко, Т.Ф. Пушкарева, Е.А. Капуза, Н.В. Николаева,
О.Н. Шатохина, Е.А. Сычева, Е.Е. Пак, В.В. Дмитриева, К.А. Новоселова

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Патология сердечно-сосудистой системы является одной из актуальных проблем современной медицины, привлекает внимание специалистов различных отраслей медицинской науки. Кардиальная патология проявляется наиболее часто в виде ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, миокардиодистрофии. Оценка кардиальной патологии до лечения позволит снизить осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы у больных злокачественными лимфомами, получающих многокурсовую химиотерапию, и отслеживать как ранние, так поздние осложнения.

Ключевые слова: кардиальная патология, лимфома Ходжкина, неходжкинская лимфома, цитостатики, токсичность.

CARDIOTOXICITY CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH MALIGNANT LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASE

O.V. Kozyuk, I.B. Lysenko, T.F. Pushkareva, E.A. Kapuza, N.V. Nikolaeva,
H.E. Shatokhina, E.A. Sychev, E.E. Pak, V.V. Dmitrieva, K.A. Novoselova

«Rostov-on-Don research-scientific oncological Institute», Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Cardiovascular system pathology is one of the urgent problems of current medicine. It attracts attention of specialists from different medical branches. Cardiac pathology declares themost often by ischemic cardiac disease, arterial hypertension, and myocardiodystry. The assessment of cardiac pathology before treatment will let to reduce complications from the cardiovascular system by the patients with malignant lymphomas, who gets more than one course of chemotherapy during the treatment. It will also let to follow both early and late complications.

Keywords: Cardiac pathology, Hodgkin's lymphomas, unhdgkin lymphoma, cytostatic agents, toxicity.

Актуальность. Заболевания сердечно-сосудистой системы наравне с онкологическими заболеваниями и сахарным диабетом прочно удерживают первенство среди самых распространенных и опасных болезней XXI века. В основе достижения современной онкогематологии лежит применение эффективных комбинаций химиотерапевтических препаратов, позволяющих улучшить прогноз заболевания и увеличить безрецидивную выживаемость больных. Тем не менее клиническая польза не всегда сопоставима с профилем безопасности применяемых препаратов. Актуальным вопросом остается влияние цитостатических препаратов на сердечно-сосудистую систему. Кардиотоксичность современных противоопухолевых препаратов является одним из многих, но, по-видимому, наиболее значимым побочным эффектом терапии, зачастую определяющим как качество жизни пациентов, находящихся в ремиссии, так и прогноз заболевания.

Целью исследования является изучение частоты и характера проявлений кардиальной патологии у больных со злокачественными лимфомами и возможности проведения химиотерапевтического лечения с выявленной кардиомиопатией.

Материал и методы. В наше исследование были включены 46 больных с лимфомами в возрасте от 40 до 75 лет.

Результаты: у 89 % больных артериальная гипертензия (АГ) была установлена ранее, у 11 % (5) больных АГ была выявлена при обнаружении опухоли. В 72 % случаев присутствовала

АГ 2-й стадии, в 76 % – 2-й степени. Стенокардия ранее установлена у 7 человек (15,2 %), у 5 (10,8 %) была обнаружена в процессе обследования. С постинфарктным кардиосклерозом, установленным ранее, было выявлено 3 человека (6,5 %). При оценке ЭКГ выявлено: нарушение восстановительных процессов у 38 (82,6 %); нарушение ритма, в частности экстрасистолии, у 1 больного (2,1 %); мерцание предсердий (фибрилляция предсердий) – у 8 человек (18,2 %). Изменения на ЭхоКГ: с признаками гипертрофии левых отделов сердца 31 пациент (67,4 %), правых отделов – 8 человек (17,4 %). У 34 (74 %) пациентов выявлены атеросклеротические изменения различной степени выраженности. При обследовании у 23,9 % больных выявлена синусовая тахикардия. Дилатация левого желудочка наблюдалась у 3 пациентов (6,5 %). Изменения со стороны клапанного аппарата сердца были следующие: регургитация на аортальном клапане 1-й степени отмечалась у 3 больных (6,5 %), 2-й степени – у 1 больной (2,2 %), митрального клапана 2-й степени – у 3 человек (6,5 %). Снижение фракции выброса были отмечены у 2 пациентов, и у 2 больных повышение. Диастолическая дисфункция 1-го типа отмечалась у 24 пациентов (52,2 %). Также нами была выявлена систоло-диастолическая асинхрония межжелудочковой перегородки у 4 больных (8,7 %), сегментарный гипокинез левого желудочка выявлен у 10 (21,7 %) больных, сегментарный гиперкинез наблюдался у 2 пациентов (4,3 %), нарушения глобальной сократительной функции были выявлены у 2 (4,3 %).

Всем пациентам проводилась терапия по схемам CHOP, CHOE, BEACOPP в стандартных дозировках.

В основной группе дополнительно все пациенты получали Триметазидин в дозе 35 мг 2 раза в сутки внутрь, на протяжении всего химиотерапевтического лечения.

После завершения лечения опухолевого процесса всем пациентам проводилось повторное обследование сердечно-сосудистой системы. При оценке ЭКГ синусовая тахикардия в основной группе отмечалась у 7 человек (33 %), а в контрольной у 10 пациентов (40 %), аритмия отмечалась у 3 (12 %) человек в контрольной группе и у 2 (9,5 %) больных в основной группе; экстрасистолии отмечались у 1 (4,7 %) пациента в основной и у 2 (8 %) больных в контрольной группе, удлинение QT было зафиксировано у 4 (19 %) наблюдаемых в основной группе и у 7 (28 %) в контрольной группе. Изменения на ЭхоКГ: с признаками гипертрофии левых отделов сердца у 17 (80,9 %) пациентов в основной группе, в контрольной группе у 18 (72 %) больных, правых отделов по 4 пациента в каждой группе. Снижение фракции выброса было отмечено у 2 (8 %) пациентов в контрольной группе и у 1 (4,7 %) наблюдаемого в основной группе. Выявленная ранее систоло-диастолическая асинхрония межжелудочковой перегородки сохранялась у 4 больных – по 2 пациента в каждой группе.

Таким образом, всем пациентам необходим учет и коррекция кумулятивных доз антрациклинов с учетом индивидуальных факторов риска развития кардиотоксичности и коморбидности, непрерывный динамический контроль сердечно-сосудистой системы на этапах химиотерапевтического лечения, применение профилактической кардиопротекторной лекарственной терапии на этапах полихимиотерапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Олейникова Г.Л. Ишемическая болезнь сердца: место статиков. Российский медицинский журнал. Кардиология. М., 2010; 3: 912.
2. Емелина Е.И., Шуйкова К.В., Гендлин Г.Е., Сторожаков Г.И., Лепков С.В., Демина, Е.А. Поражения сердца при лечении современными противоопухолевыми препаратами и лучевые повреждения сердца у больных с лимфомами. Клиническая онкогематология. М., 2010; 2: 152160.
3. Моисеев В.М. Практические рекомендации по лечению злокачественных опухолей RUSSCO. М.: Версия 2013. 344352.
4. Королева И.А. Кардиотоксичность при проведении химиотерапии онкологических заболеваний. Медицина критических состояний. М., 2010; 1: 6270.
5. Даниленко А.А. Кардиальная патология у больных лимфомами Ходжкина после лечения. Вопросы онкологии. СПб., 2011; 57(1): 119125.
6. Вершинина С.Ф. Токсическое действие противоопухолевой терапии на сердечно-сосудистую систему. Вопросы онкологии. СПб., 2010; 56(2): 234239.
7. Артамонова Е.В., Переводчикова Н.И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. М., 2011.
8. Семенова А.И. Кардио- и нейротоксичность противоопухолевых препаратов. Практическая онкология. СПб., 2009; 10(3): 168176.

РОЛЬ БЕЛКОВ КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ И ПОДВИЖНОСТИ В ПРОГРЕССИРОВАНИИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Е.С. Колегова¹, Д.Н. Костромицкий²

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия¹
Областное государственное автономное учреждение здравоохранения «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия²

Аннотация

В работе оценивали содержание белков клеточной адгезии (фракции бета-катенина) и подвижности (CAP1 и кофилина) у больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). Показана связь уровня данных белков с прогрессированием НМРЛ. Результаты работы позволят сформировать фундаментальную базу для разработки новых способов прогноза заболевания.

Ключевые слова: CAP1, кофилин, бета-катенин, метастазирование, немелкоклеточный рак легкого.

ROLE OF CELLULAR ADHESION AND MOVEMENT PROTEINS IN THE PROGRESSION OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER

E.S. Kolegova¹, D.N. Kostromitsky²

Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Tomsk Regional Oncology Center, Tomsk, Russia²

Abstract

In the paper level of cell adhesion proteins (beta-catenin fractions) and movement (CAP1 and cofilin) was evaluated in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). There was shown the correlation of these proteins level with the progression of NSCLC. The results of the work will form a fundamental basis for the predicting of the disease development.

Keywords: CAP1, cofilin, beta-catenin, metastasis, non-small cell lung cancer.

Актуальность. Приоритетным направлением онкологии является изучение механизмов возникновения и развития НМРЛ в связи с высокой агрессивностью и смертностью [1]. Высокая агрессивность НМРЛ связана в том числе и с быстрым метастазированием. В этой связи актуальным является изучение актинсвязывающих белков (CAP1 и кофилина), а также белка адгезии – бета-катенина [2, 3]. Белки клеточной адгезии и подвижности играют важную роль в развитии злокачественных опухолей [2, 4]. Показана возможность использования CAP1 как маркера возникновения и течения рака [5].

Материал и методы. Исследовалась неизмененная и опухолевая ткань от 60 больных НМРЛ (T2–3N0–2M0). Содержание кофилина и фракций бета-катенина оценивалось с помощью метода вестерн-блоттинг, содержание CAP1 – ИФА анализом.

Результаты и обсуждение. В работе проводилось изучение белков клеточной адгезии и подвижности: CAP1, кофилина и фракций бета-катенина при НМРЛ. На ткани больных, которым не проводилась предоперационная терапия, оценивали связь изучаемых белков с прогрессированием НМРЛ. Показано увеличение содержания CAP1 и кофилина в ткани первичной опухоли и лимфогенных метастазов по сравнению с неизмененной тканью легкого. Общий и фосфорилированный бета-катенин был выше в тканях первичного очага по сравнению с неизмененной тканью, в то время как содержание фракций бета-катенина в метастазах было ниже, чем в неизмененной ткани (табл. 1).

При оценке содержания изучаемых белков в зависимости от распространенности первичной опухоли (со стадии T2N0–2M0 на стадию T3N0–2M0) было отмечено увеличение CAP1 при снижении кофилина (табл. 2). Также отмечен резкий скачок содержания CAP1 в тканях

первичной опухоли на начальных этапах метастазирования опухоли (T2–3N1M0) и снижение содержания кофилина на более поздних этапах (T2–3N2M0) (табл. 3). Что касается фракций бета-катенина, то и в тканях первичной опухоли, и в ткани метастазов наблюдается снижение содержания общего бета-катенина при двукратном увеличении фосфорилированной фракции при увеличении распространенности первичной опухоли (табл. 2). При вовлечении в опухолевый процесс регионарных лимфоузлов наблюдались обратные изменения: увеличение общего пула бета-катенина, при снижении фосфорилированной фракции (табл. 3).

Таблица 1

Содержание САР1, кофилина и фракций бета-катенина в опухолевой и неизменной ткани

Показатель	Неизменная ткань	Первичная опухоль	Лимфогенные метастазы
САР1	671,00	834,00*	775,00*
(пг/мл)	(587,00; 711,00)	(714,00; 859,00)	(725,00; 844,00)
Кофилин	100	174*	171*
(% к неизменной ткани)	(100; 100)	(176; 139)	(142; 188)
Общий бета-катенин	100	175*	78
(% к неизменной ткани)	(100; 100)	(134; 182)	(36; 118)
Фосфорилированный бета-катенин	100	133*	57*
(% к неизменной ткани)	(100; 100)	(132; 164)	(27; 86)

Примечание: * – значимость различий достоверна по сравнению с группой неизменной ткани, $p < 0,05$.

Таблица 2

Содержание САР1, кофилина и фракций бета-катенина в опухолевой ткани в зависимости от распространенности первичной опухоли.

Показатель	Первичная опухоль	
	T ₂ N ₀₋₂ M ₀	T ₃ N ₀₋₂ M ₀
САР1	312,50	642,00*
(пг/мл)	(206,00; 334,00)	(367,00; 859,50)
Кофилин (% к неизменной ткани)	191	65*
	(148; 161)	(23; 105)
Общий бета-катенин (% к неизменной ткани)	110	61*
	(87; 143)	(51; 71)
Фосфорилированный бета-катенин (% к неизменной ткани)	65	143*
	(33; 89)	(95; 201)
Ткань лимфогенных метастазов		
Показатель	T ₂ N ₀₋₂ M ₀	T ₃ N ₀₋₂ M ₀
САР1	559,50	688,50
(пг/мл)	(282,00; 793,00)	(384,50; 1064,00)
Кофилин (% к неизменной ткани)	69	48
	(60; 81)	(16; 107)
Общий бета-катенин (% к неизменной ткани)	110	53*
	(85; 242)	(30; 86)
Фосфорилированный бета-катенин (% к неизменной ткани)	68	142*
	(35; 92)	(89; 223)

Примечание: * – значимость различий достоверна по сравнению с группой T₂N₀₋₂M₀.

Таблица 3

Содержание САР1, кофилина и фракций бета-катенина в опухолевой ткани в зависимости от распространенности процесса на регионарные лимфоузлы.

Показатель	Первичная опухоль		
	T ₂₋₃ N ₀ M ₀	T ₂₋₃ N ₁ M ₀	T ₂₋₃ N ₂ M ₀
САР1	299,00	756,00*	621,00*
(пг/мл)	(240,50; 330,00)	(367,00; 858,00)	(532,00; 672,00)
Кофилин (% к неизменной ткани)	68	111	21**
	(23; 109)	(57; 249)	(18; 39)
Общий бета-катенин (% к неизменной ткани)	33	113*	49**
	(20; 41)	(67; 138)	(34; 60)

Фосфорилированный бета-катенин (% к неизменной ткани)	42 (30; 54)	130* (59; 193)	51** (26; 66)
Показатель	Ткань лимфогенных метастазов		
	$T_{2-3}N_0M_0$	$T_{2-3}N_1M_0$	$T_{2-3}N_2M_0$
CAP1 (пг/мл)	753,00 (244,50; 834,00)	722,00 (335,00; 840,00)	618,00 (316,00; 757,00)
Кофилин (% к неизменной ткани)	80 (70; 82)	102 (57; 178)	28** (25; 50)
Общий бета-катенин (% к неизменной ткани)	45 (27; 60)	96* (64; 147)	75 (65; 98)
Фосфорилированный бета-катенин (% к неизменной ткани)	44 (23; 72)	70 (42; 130)	28** (13; 41)

Примечание: * – значимость различий достоверна по сравнению с группой $T_{2-3}N_0M_0$; ** – значимость различий достоверна по сравнению с группой $T_{2-3}N_1M_0$.

Выводы. При развитии НМРЛ происходит увеличение количества изучаемых актинсвязывающих белков (CAP1 и кофилина), что связано с инвазией и метастазированием опухолевых клеток. Изменения во фракциях бета-катенина отражают современные представления об эпителиально-мезенхимальном переходе (ЭМП) и обратном ему процессе – мезенхимально-эпителиальном переходе (МЭП): фосфорилированная фракция бета-катенина, как свидетель изменения адгезивности клеток, увеличивается при ЭМП и снижается при МЭП [6].

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранта № 18-415-703003 (p_мол_a))

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиссов В.И., Давыдов М.И. Онкология. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2013. 576.
2. Бочкарева Н.В., Кондакова И.В., Коломиец Л.А. Роль актинсвязывающих белков в клеточном движении в норме и при опухолевом росте. Молекулярная медицина. 2011; 6: 1418.
3. Zhou G.L., Zhang H., Wu H., Ghai P., Field J. Phosphorylation of the cytoskeletal protein CAP1 controls its association with cofilin and actin. J Cell Sci. 2014; 127(Pt 23): 505265. doi: 10.1242/jcs.156059.
4. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Черемисина О.В., Шишкин Д.А., Чойнзонов Е.Л. Аденилилизационно-ассоциированный протеин 1 в развитии плоскоклеточных карцином головы и шеи. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015; 160(11): 648651.
5. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. Характеристика протеома биологических жидкостей при плоскоклеточных карциномах головы и шеи. Молекулярная медицина. 2013; 2: 3337.
6. Крахмаль Н.В., Завьялова М.В., Денисов Е.В., Вторушин С.В., Перельмутер В.М. Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления. ACTA NATURAE. 2015; 2(25): 1831.

АКТИВНОСТЬ ПРОТЕАСОМ И КАЛЬПАИНОВ ПРИ ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ГОРТАНИ

Д.А. Коршунов¹, Е.А. Сиденко²

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия²

Аннотация

Важную роль в развитии плоскоклеточного рака области головы и шеи играют внутриклеточные протеазы. **Цель исследования** заключалась в изучении активности протеасом и кальпаинов при предопухолевых и опухолевых заболеваниях гортани. В результате проведенного исследования было обнаружено повышение активности протеасом и кальпаинов в ткани опухоли гортани по сравнению с показателями, полученными в ткани слизистой оболочки гортани при дисплазии.

Ключевые слова: протеасомы, кальпаины, дисплазия, рак гортани.

THE ACTIVITY OF PROTEASOMES AND CALPAINES IN PRE-MALIGNANT AND NEOPLASTIC DISEASES OF THE LARYNX

D.A. Korshunov¹, E.A. Sidenko²

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

Abstract

The intracellular proteases play an important role in the development of squamous cell carcinoma of the head and neck. The aim of the research was to study the activities of proteasomes and calpains in premalignant and neoplastic diseases of the larynx. As a result of the study, an increase in the activity of proteasomes and calpains in the tumor tissue of the larynx was found in comparison with the dysplasia tissue of the laryngeal mucosa.

Keywords: proteasomes, calpains, dysplasia, laryngeal cancer.

Развитие и прогрессирование плоскоклеточного рака головы и шеи тесно связаны с изменением состояния протеолитических систем [1, 2]. Протеасомы являются основным внутриклеточным компонентом деградации белков и опосредуют процессы клеточного деления, дифференцировки, иммунного ответа и др. Однако роль протеасом и кальпаинов при злокачественной трансформации слизистой оболочки гортани изучена недостаточно [3, 4]. Изучение активности протеасом и кальпаинов в связи с развитием рака гортани является актуальным и имеет основополагающее значение для развития альтернативных способов ранней диагностики и борьбы со злокачественными новообразованиями.

Материалом исследования являлись 23 образца опухолевой и 10 образцов диспластически изменённой ткани гортани, полученные при выполнении диагностической видеоларингоскопии, которые после забора замораживались и хранились при температуре –80 °С. Химотрипсинподобную активность протеасом и кальпаинов определяли по гидролизу флуорогенного олигопептида Suc-LLVY-AMC. При определении активности протеасом реакционная смесь содержала специфический ингибитор протеасом – MG132 для оценки активности примесных протеаз. При определении активности кальпаинов использовали ингибитор кальпаинов ALLN (N-ацетил-лейцин-лейцин-норлейцинал) (Sigma). Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета статистических программ Statistica 6.0. Значимость различий исследовали с помощью критерия Манна-Уитни.

При изучении активности протеасом и кальпаинов выявлена зависимость между диспластическими изменениями слизистой и опухолевыми заболеваниями гортани. Показано, что группа больных с плоскоклеточными опухолями гортани имеет активность протеасом в 1,4 раза больше по сравнению с диспластической тканью. Также в опухолевой ткани при раке гортани наблюдалось увеличение активности кальпаинов в 4,4 раза в сравнении с диспластической тканью. Полученные результаты свидетельствуют о том, что активация внутриклеточного протеолиза в ткани рака гортани осуществляется как за счёт протеасом, так и за счёт кальпаинов. Увеличение активности протеасом в ткани рака гортани по сравнению с диспластическими процессами, вероятно, связано со значительным повышением интенсивности клеточных процессов, многие участники которых являются субстратами протеасом [5, 6]. Вероятно, кальпаины принимают преимущественное участие в процессах, свойственных только злокачественным тканям.

Выявлены особенности функционирования протеасом и кальпаинов в диспластических процессах эпителия и рака гортани, что в дальнейшем позволит выделить дополнительные объективные критерии, которые позволят объективизировать онкологический риск и прогнозировать развитие злокачественных новообразований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кондакова И.В., Клишо Е.В., Савенкова О.В., Какурина Г.В., Чойнзенов Е.Л., Шишкин Д.А., Мухамедов М.Р. Матриксные металлопротеиназы 2 и 9 и их тканевые ингибиторы как факторы метастазирования злокачественных новообразований головы и шеи. Биомедицинская химия. 2008; 54(5): 555-560.
2. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Клишо Е.В., Какурина Г.В., Шишкин Д.А. Металлопротеиназы как регуляторы неопластического роста в злокачественных новообразованиях. Сибирский онкологический журнал. 2007; 1: 677-1.
3. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Чойнзенов Е.Л., Шарова Н.П., Чижевская С.Ю., Шишкин Д.А. Активность и субъединичный состав протеасом в плоскоклеточных карциномах головы и шеи. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010; 149(1): 89-92.

4. Чойнзонов Е.Л., Спирина Л.В., Кондакова И.В., Чижевская С.Ю., Шишкин Д.А., Кульбакин Д.Е. Прогностическая значимость определения активности протеасом в тканях плоскоклеточных карцином головы и шеи. Сибирский научный медицинский журнал. 2014; 34(4): 103108.

5. Heldin J., O'Callaghan P., Hernandez V.R., Fuchs P.F., Gerwins P., Kreuger J. FGD5 sustains vascular endothelial growth factor A (VEGFA) signaling through inhibition of proteasome-mediated VEGF receptor 2 degradation. Cell Signal. 2017; 40: 125132.

6. Lokau J., Flynn C.M., Garbers C. Cleavage of the Interleukin-11 receptor induces processing of its C-terminal fragments by the gamma-secretase and the proteasome. Biochem Biophys Res Commun. 2017; 491(2): 296302.

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИОННОГО ПРОФИЛЯ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Н.В. Крахмаль¹, Д.В. Васильченко²

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия¹

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия²

Аннотация

Исследование посвящено изучению экспрессионных особенностей факторов транскрипции при инвазивной карциноме неспецифического типа молочной железы. Исследование показало, что экспрессия транскрипционных факторов Snail и Twist в опухолевых структурах является неоднородной и ассоциирована со степенью злокачественности ткани новообразования.

Ключевые слова: рак молочной железы, факторы транскрипции Snail и Twist, степень злокачественности опухоли.

STUDY OF THE EXPRESSION PROFILE OF TRANSCRIPTION FACTORS IN BREAST CANCER

N.V. Krakhmal¹, D.V. Vasilchenko²

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

Abstract

The research is devoted to the study of expression features of transcription factors in invasive carcinoma of the nonspecific type of the breast. The study showed that the expression of the transcription factors Snail and Twist in tumor structures is heterogeneity and associated with the degree of malignancy of the neoplasm tissue.

Keywords: breast cancer, Snail and Twist transcription factors, the degree of malignancy of the tumor.

Актуальность. Данные литературы, а также результаты исследований указывают на тот факт, что процесс эпителиально-мезенхимального перехода в злокачественных опухолях запускается при индукции механизмов, обусловленных активацией различных транскрипционных факторов, в частности, таких факторов, как Twist и Snail. Изучение особенностей экспрессии данных маркеров в ткани новообразований различных локализаций, в том числе при раке молочной железы, представляется актуальным. Исследователи отмечают, что повышенная экспрессия маркеров является предиктором плохого прогноза, сочетается с изменениями морфологии самих клеток, уровнем пролиферативной активности, более поздней стадией заболевания, повышением миграционно-инвазивных свойств злокачественно трансформированных опухолевых клеток и ассоциирована с высоким риском опухолевой прогрессии как при раке молочной железы, так и при карциномах других локализаций [15].

Материал и методы. Проводилось морфологическое исследование операционного материала от 107 пациенток, больных раком молочной железы стадии T1–3N0–3M0. В

исследование были включены случаи с инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы (Женева, 2012). Предоперационную терапию пациентки не получали. Проводилась морфологическая оценка ткани первичной опухоли. Фиксация, проводка материала и изготовление гистологических препаратов осуществлялись по стандартной методике. В инфильтративном компоненте опухоли выделяли 5 типов структур: альвеолярные, трабекулярные, тубулярные, солидные и дискретные группы опухолевых клеток. Иммуногистохимическое исследование осуществлялось по стандартной методике с применением антител фирмы Abcam Anti-Snail antibody (кроличьи поликлональные 1:1600) и Anti-Twist antibody [Twist2C1a] (мышинные моноклональные 1:50). В каждом типе структур инфильтративного компонента опухолевой ткани оценивалось наличие либо отсутствие экспрессии исследуемых маркеров. Степень злокачественности опухоли определяли по схеме P. Scarff, H. Bloom, W. Richardson, при этом учитывалось количество тубулярных структур, число митозов и клеточный полиморфизм. Обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета программ «Statistica 10.0».

Результаты и обсуждения. Исследование частоты экспрессии маркеров Snail и Twist в различных структурах опухоли показало, что экспрессия фактора Snail значимо реже регистрировалась в дискретных группах опухолевых клеток (77 %) по сравнению с альвеолярными (90 %; $p=0,02$), тубулярными (100 %; $p=0,005$), трабекулярными (96 %; $p=0,002$) и солидными структурами (95 %; $p=0,0005$). В свою очередь, частота экспрессии фактора транскрипции Twist была минимальной как в трабекулярных структурах, так и в дискретных группах клеток. В альвеолярных структурах инфильтративного компонента опухоли экспрессия Twist регистрировалась чаще в альвеолярных структурах (18 %) по сравнению с трабекулярными структурами и дискретными группами опухолевых клеток (5 % и 5 %; $p=0,009$ и $p=0,003$ соответственно). Наибольшей частота экспрессии маркера Twist была в солидных структурах (29 %) по сравнению с альвеолярными (18 %; $p=0,05$), тубулярными (8 %; $p=0,005$), трабекулярными структурами (5 %; $p=0,0001$) и группами опухолевых клеток (5 %; $p=0,000$). Среди всех исследуемых случаев в 11 была определена I степень злокачественности опухоли (10 %), в 79 (74 %) случаях – II степень злокачественности и в 17 (16 %) случаях – III степень злокачественности новообразования. Сопоставление частоты экспрессии изучаемых маркеров в различных структурах инфильтративного компонента опухоли со степенью злокачественности карциномы молочной железы позволило определить уменьшение частоты экспрессии Snail в дискретных группах опухолевых клеток в случаях с более высокой степенью злокачественности и аналогичную связь между частотой экспрессии маркера Twist в альвеолярных структурах. Так, частота позитивной экспрессии фактора Snail в группах клеток была минимальной при III степени (50 %) по сравнению со случаями с I и II степенью злокачественности ткани новообразования (83 % и 82 %; $p=0,07$ и $p=0,007$ соответственно). Частота позитивной экспрессии фактора транскрипции Twist в альвеолярных структурах также была минимальной при III степени (0 %) по сравнению со случаями со II степенью злокачественности (21 %; $p=0,05$). При I степени злокачественности частота экспрессии Twist в альвеолярных структурах соответствовала 20 %. Относительно других структур инфильтративного компонента опухоли подобного рода закономерностей обнаружено не было.

Выводы. Результаты исследования вновь показывают, что инвазивная карцинома неспецифического типа молочной железы обладает неоднородностью строения и характеризуется наличием существенных различий экспрессионных показателей. Определена связь между частотой экспрессии факторов транскрипции Snail, Twist и степенью злокачественности ткани новообразования. Снижение частоты экспрессии маркера Snail в дискретных группах опухолевых клеток при III степени злокачественности, так же как и низкая частота случаев с позитивной экспрессией фактора Twist в альвеолярных структурах опухоли при высокой степени злокачественности, может быть обусловлено более глубокой степенью выраженности признаков эпителиально-мезенхимального перехода в клетках карциномы молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Huang J., Ang L., Liu M.Q., Hu H.G., Wang J., Zou Q., Zhao Y., Zheng L., Zhao M., Wu Z.S. Serum and tissue expression of gelatinase and Twist in breast cancer. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2014; 18(8): 2662–9.
2. Zhang P., Hu P., Shen H., Yu J., Liu Q., Du J. Prognostic role of Twist or Snail in various carcinomas: a systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Clin. Invest.* 2014; 44(11): 1072–94.
3. Zhou Y., Zhang H., Zhuo X., Liu Y., Zhang G., Tan Y. Over-expression of TWIST, an epithelial-mesenchymal transition inducer, predicts poor survival in patients with oral carcinoma. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015; 8(6): 9239–47.
4. Zhang Y.Q., Wei X.L., Liang Y.K., Chen W.L., Zhang F., Bai J.W., Qiu S.Q., Du C.W., Huang W.H., Zhang G.J. Over-expressed

Twist associates with markers of epithelial mesenchymal transition and predicts poor prognosis in breast cancers via ERK and Akt activation. Plos One. 2015; 10(8): e0135851.

5. Mezenzev R., Matyunina L.V., Jabbari N., McDonald J.F. Snail-induced epithelial-to-mesenchymal transition of MCF-7 breast cancer cells: systems analysis of molecular changes and their effect on radiation and drug sensitivity. BMC Cancer. 2016; 16 (1): 236.

НЕОАДЪЮВАНТНАЯ ХИМИОЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ЖЕЛУДКА: НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ II ФАЗЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Д.Д. Кудрявцев, Е.Н. Аникина

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Научный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России), г. Обнинск, Россия

Аннотация

В работе представлены непосредственные результаты лечения больных местно-распространенным раком желудка при проведении пролонгированной неоадъювантной химиолучевой терапии с последующей радикальной операцией с лимфодиссекцией в объеме D2. Лучевая терапия проводилась в СОД 45 Гр по методике дневного дробления дозы (1+1,5 Гр) на фоне модифицированной схемы Сарох. Показано, что химиолучевая терапия удовлетворительно переносится пациентами и может быть успешно завершена у абсолютного большинства больных. Полный либо выраженный лечебный патоморфоз (3–4 ст. по Г.А. Лавниковой, grade 1A-B по K. Becker) зарегистрирован у 50 % больных. Хирургическое лечение выполнено в запланированном объеме в 100 % случаев, неоадъювантная химиолучевая терапия не приводит к увеличению частоты послеоперационных осложнений и летальности.

Ключевые слова: местнораспространенный рак желудка, неоадъювантная химиолучевая терапия, гастрэктомия D2, лечебный патоморфоз, результаты лечения.

NEOADJUVANT CHEMORADIO THERAPY IN THE TREATMENT OF LOCALLY ADVANCED GASTRIC CANCER: IMMEDIATE RESULTS OF 2D PHASE OF THE STUDY

D.D. Kudryavtsev, E. N. Anikina

A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Abstract

The paper presents the immediate results of the treatment of locally advanced gastric cancer with prolonged chemoradiotherapy followed radical surgery with lymphodissection in D2. The total dose of radiation therapy was 45 Gy with chemotherapy of the modified Capox scheme. It is shown that chemoradiotherapy is satisfactorily tolerated by most patients and the surgical treatment can be performed in the planned volume in 100 % of the cases without the increasing the frequency of postoperative complications. Full or pronounced the therapeutic pathomorphosis (34 stage according G. A. Lavnikova, grade 1A-B according K. Becker) was reached in 50 % of the patients. Surgical treatment was performed as a planned volume in 100 % of cases, neoadjuvant chemoradiotherapy does not increase the frequency of postoperative complications and mortality.

Keywords: locally advanced gastric cancer, neoadjuvant chemoradiotherapy, gastrectomy D2, treatment results.

Рак желудка является пятым по распространенности злокачественным новообразованием и второй ведущей причиной смерти от рака в мире [1]. В структуре онкологической

заболеваемости населения Российской Федерации рак желудка также занимает одно из ведущих мест (6,8 %), а летальность достигает 50 % в течение первого года после установления диагноза [2]. Несмотря на прогресс в диагностике и лечении данной патологии (расширение объема лимфодиссекции, применение адъювантной химиотерапии), общая пятилетняя выживаемость не превышает 25 %, а отдаленные метастазы и локо-регионарные рецидивы развиваются более чем у 50 % больных [3, 4]. По данным зарубежных авторов, предоперационная химиолучевая терапия позволяет увеличить количество радикальных операций, добиться выраженной регрессии опухоли и улучшить результаты лечения [3]. В МРНЦ им А.Ф. Цыба разработана и внедрена оригинальная методика неоадъювантной химиолучевой терапии [5].

В исследование включены пациенты с морфологически верифицированным раком желудка 2–3 стадий. Лучевая терапия проводилась в СОД 45 Гр с дневным дроблением дозы 1+1,5 Гр с интервалом 4–5 ч (соответствует 50 Гр). Продолжительность курса лучевой терапии составила 18 дней. Одновременно проводилась химиотерапия по модифицированной схеме Сарох: капецетабин в дозе 1850 мг/м² в течение всего курса лучевой терапии и оксалиплатин в дозе 85 мг/м² один раз в три недели. Хирургическое лечение в объеме гастрэктомии/субтотальной резекции желудка с лимфодиссекцией D2 планировали через 4–6 нед после завершения неоадъювантной терапии.

В исследование включено 30 больных; 18 мужчин, 12 женщин. Возраст пациентов варьировал от 40 до 77 лет (медиана – 62 года). Наиболее часто опухоль локализовалась в верхней и средней третях желудка (80 %), преобладающим морфологическим строением была низкодифференцированная аденокарцинома и перстневидно-клеточный рак (63 %). Преобладали язвенно-инфильтративные и диффузно-инфильтративные формы (77 %). В полном объеме химиолучевое лечение завершили 26 больных. Токсические проявления наблюдались у 28 больных; преобладала гематологическая токсичность (1 ст. – 15, 2 ст. – 2, 3 ст. – 1 больной), гастроинтестинальная токсичность (1 ст. – 8, 2 ст. – 10, 3 ст. – 3 больных), печеночная токсичность (1 ст. – 15 больных), другие виды токсичности (3 ст. – 1 больной). Четвертая степень токсичности в наших наблюдениях не наблюдалась.

При контрольном обследовании перед операцией регрессия опухоли в полном объеме была зафиксирована у 1 пациента, частичная – у 13, стабилизация – у 16. Хирургическое лечение выполнено у всех больных, в том числе радикальная операция – у 29 больных, паллиативная – в одном случае (интраоперационно был выявлен канцероматоз брюшины). Длительность операции составила 140–270 мин, медиана – 185 мин. Длительность послеоперационного пребывания больного в стационаре составила в среднем 12 дней. Послеоперационной летальности не было. Осложнения после операции наблюдались у 8 больных, из них III степени по шкале Clavien – Dindo – 4 случая. По данным морфологического исследования, лечебный патоморфоз grade 1A-B по K. Becker имел место в 50 % случаев.

Непосредственные результаты 2 фазы клинического исследования показывают, что комбинированное лечение местнораспространенного рака желудка удовлетворительно переносится и может быть реализовано в полном объеме у абсолютного большинства больных; не приводит к увеличению числа и тяжести послеоперационных осложнений; способствует достижению выраженного лечебного патоморфоза у 50 % больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*. 2015; Mar 1; 136(5): E359–E386. doi: 10.1002/ijc.29210.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 г. (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. 30.
3. Cunningham D., Allum W.H., Stenning S.P., Thompson J.N., Van de Velde C.J., Nicolson M., Scarffe J.H., Loftis F.J., Falk S.J., Iveson T.J., Smith D.B., Langley R.E., Verma M., Weeden S., Chua Y.J., MAGIC Trial Participants. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *The New England journal of medicine*. 2006; 355: 11–20.
4. Marrelli D., De Stefano A., de Manzoni G., Morgagni P., Di Leo A., Roviello F. Prediction of recurrence after radical surgery for gastric cancer: a scoring system obtained from a prospective multicenter study. *Ann Surg*. 2005 Feb; 241(2): 247–55.
5. Бердов Б.А., Скоропад В.Ю., Титова Л.Н., Евдокимов Л.В. Способ комбинированного лечения местно-распространенного рака желудка. Патент № 2478407 РФ. МПК8 № 2011136818/14; Заявл. 05.09.2011; Оpubл. 10.04.2013 Бюл. № 10.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ОЦЕНКИ ДИНАМИКИ ЭКСТРАНОДАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЛЕГКИХ ПРИ ЛИМФОМАХ

А.А. Кузовкова, А.В. Сударкина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Лимфомы составляют большую группу злокачественных новообразований. Среди экстранодальных поражений при лимфомах наиболее часто выявляются изменения в легких. **Целью** исследования было изучение семиотики изменений в легких при лимфомах и оценка динамики процесса по данным компьютерной томографии (КТ). Проанализированы результаты КТ 30 пациентов с лимфомой. Метод КТ дает возможность выявлять и оценивать динамику изменений в легких при лимфомах, что оказывает существенное влияние на выбор адекватной тактики лечения.

Ключевые слова: лимфома, компьютерная томография, пульмонология, экстранодальная локализация, легкие.

COMPUTED TOMOGRAPHY IN DIAGNOSIS AND FOLLOW-UP OF LUNG INVOLVEMENT IN LYMPHOMA

A.A. Kuzovkova, A.V. Sudarkina

Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health, Novosibirsk, Russia

Abstract

Lymphoma is a widespread malignant disease. The most common site of extranodal lesions in lymphomas is the lungs. The aim of our study was studying of CT-patterns of lung involvement in lymphoma and evaluation of contribution of CT to follow-up. The results of CT in 30 patients with lymphoma were analyzed. CT is a valuable diagnostic method in detection of extranodal involvement of lungs in lymphomas providing important clues for disease staging and treatment follow-up.

Keywords: lymphoma, computed tomography, pulmonology, extranodal localization, lungs.

Лимфомы представляют собой неоднородную группу злокачественных новообразований иммунной системы, среди которых выделяют болезнь Ходжкина и группу злокачественных неходжкинских лимфом [1]. Несмотря на развитие современной медицины и биологии, проблема заболеваемости злокачественными новообразованиями является одной из самых актуальных. За 2016 год было диагностировано 15813 случаев заболеваемости лимфомами, при этом летальность на первом году с момента установления диагноза составляла 21,4 % [2]. Заболеваемость лимфомой Ходжкина в России составляет 2,1 случая на 100 тыс. населения в год, а смертность достигает 0,77 случая на 100 тыс. населения в год [3]. Известно, что для лимфом характерны как нодальные, так и экстранодальные поражения. В настоящее время отмечается увеличение частоты возникновения экстранодальных поражений, причем первое место среди них занимают изменения в легких как при лимфоме Ходжкина, так и при неходжкинских лимфомах [4]. Изменения, возникающие в легких у пациентов с лимфомами, могут быть обусловлены как непосредственным поражением опухолью в результате генерализации процесса, так и развитием различных осложнений на фоне ослабленного иммунитета, а также последствиями лучевой терапии. Раннее диагностирование экстралимфатических поражений легких при лимфомах, а также динамическое наблюдение за выявленными изменениями имеют большое значение, так как оказывают существенное влияние на стадирование лимфом, а следовательно, на выбор адекватной тактики лечения и дальнейший прогноз заболевания.

Был проведен ретроспективный анализ компьютерных томограмм органов грудной клетки 30 пациентов в возрасте от 22 до 76 лет с верифицированным диагнозом лимфомы и наличием изменений в легких. КТ выполнялась на 64-срезовом мультиспиральном компьютерном томографе.

Из 30 пациентов с вовлечением в патологический процесс легочной ткани, у 20 (66,7 %) были выявлены инфильтративные изменения в легких. Перибронховаскулярная инфильтрация отмечалась в 12 случаях из 20 (60 %), а альвеолярная инфильтрация – в 8 случаях (40 %). У 14 (46,7 %) пациентов были выявлены очаговые поражения легких. Размер очагов составлял от 2 до 20 мм, они имели неровные контуры, были как одиночными, так и множественными. При этом положительная динамика (уменьшение размеров очагов и их количества) отмечалось в 6 случаях, в 4 случаях динамики не отмечалось и у 4 пациентов была отрицательная динамика (увеличение количества, размера узлов и тенденция их к слиянию).

В 10 случаях очаговые поражения сочетались с инфильтративными изменениями в легочной ткани. У 2 пациентов (6,7 %) был выявлен симптом мелкоочаговой диссеминации с отрицательной динамикой. Симптом «матового стекла» определялся у 7 пациентов (23,3 %). При этом в 6 случаях он сочетался с зонами консолидации легочной ткани и симптомом «воздушной бронхографии». Только у 1 пациента был выявлен изолированный симптом «матового стекла». Во всех случаях данный симптом имел положительную динамику развития. Симптом консолидации легочной ткани имел место у 6 пациентов (20 %). В 3 случаях на фоне консолидации был выявлен симптом «воздушной бронхографии». Положительная динамика отмечалась в 4 случаях. У 1 пациента (3,3 %) было обнаружено образование мягкотканной плотности с отрицательной динамикой. Кроме того, у всех пациентов изменения легочной ткани сочетались с лимфаденопатией внутригрудных лимфоузлов. Наиболее часто были увеличены парааортальные, паратрахеальные и бифуркационные группы медиастинальных лимфоузлов. Таким образом, в результате проведенного нами исследования наиболее часто встречающимися изменениями в легочной ткани по данным КТ при лимфомах были очаговые образования с неровными контурами, как единичные, так и множественные, которые сочетались с инфильтративными поражениями легочной паренхимы, симптомом «матового стекла», консолидации легочной ткани и «воздушной бронхографии». Во всех случаях метод КТ позволил выявить динамику развития экстранодальных поражений, возникающих в легких при лимфомах.

КТ позволяет с высокой точностью выявлять изменения в легких при лимфомах. Метод КТ дает возможность оценить динамику выявленных изменений, в некоторых случаях возможно отличить специфические и неспецифические поражения легких при лимфомах, наблюдая за динамикой их развития. Наблюдение за динамикой развития экстранодальных поражений в легких имеет большое значение, так как влияет на тактику ведения больных со злокачественными лимфомами и позволяет добиться значительных успехов в лечении, тем более что лимфомы в настоящее время являются потенциально излечимыми злокачественными новообразованиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тюрин И.Е. Компьютерная томография органов грудной полости. Санкт-Петербург 2003. 371.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. 236.
3. Поддубная И.В., Савченко В.Г. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. М.: Медиа Медика, 2013. 104.
4. Субботин А.С., Афанасьева Н.Г., Важенкин А.В. Частота встречаемости экстранодальных поражений при лимфомах, выявляемых с помощью ПЭТ-КТ с 18-фтордезоксиглюкозой. Вестник Челябинского государственного университета, 2015; 21 (3).

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АНТИБИОТИКОВ АНТРАЦИКЛИНОВОГО РЯДА НА ТРАНСКРИПЦИЮ РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНЫХ АНТИГЕНОВ В МОДЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ HELA

Д.С. Кутилин, Д.И. Водолажский, Х. А. Могушкова, О.И. Кит

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Раково-тестикулярные антигены (РТА) могут использоваться в качестве мишени при иммунотерапии злокачественных опухолей различных локализаций, в том числе рака шейки матки. Однако иммунотерапия часто применяется в комплексе с химиотерапией антрациклиновыми антибиотиками, в частности доксорубицином, эффекты которого на экспрессию генов РТА не изучены. Поэтому проведено исследование влияния разных концентраций доксорубина и времени экспозиции на транскрипционный профиль 17 раково-тестикулярных (РТ) генов клеток HeLa CCL-2. Установлено, что существенное влияние на экспрессию генов MAGEA1, MAGEA3, MAGEA4, MAGEB1, MAGEB2, GAGE1, GAGE3, BAGE, CTAG1B, XAGE3, NY-ESO1, PRAME1 и SYCP1 оказывает время культивирования и концентрация доксорубина. На экспрессию РТ-генов SSX2, MAGEA2, GAGE4 и MAGEC1 клеточной линии HeLa CCL-2 эти факторы существенного влияния не оказывали, что позволяет рекомендовать данные РТА в качестве мишени для иммунотерапии.

Ключевые слова: раково-тестикулярные антигены, экспрессия генов, доксорубин, HeLa.

THE EFFECT OF ANTHRACYCLINE ANTITUMOR ANTIBIOTICS ON THE TRANSCRIPTION OF CANCER-TESTIS ANTIGENS IN THE MODEL EXPERIMENT ON HELA CELL LINE

D.S. Kutilin, D.I. Vodolazhsky, K.A. Mogushkova, O.I. Kit

Rostov Research Institute of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation,
Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Cancer-testis antigens (CTA) can be used as a target for immunotherapy of various malignant tumors, including cervical cancer. However, immunotherapy is often used in combination with anthracycline antibiotics chemotherapy, in particular doxorubicin, whose effects on the expression of CTA genes have not been studied. Therefore, the effect of different concentrations of doxorubicin and exposure time on the transcriptional profile of 17 cancer-testicular (CT) genes of HeLa CCL-2 cells was studied. It was found that the time of cultivation and the concentration of doxorubicin exert a significant influence on the expression of MAGEA1, MAGEA3, MAGEA4, MAGEB1, MAGEB2, GAGE1, GAGE3, BAGE, CTAG1B, XAGE3, NY-ESO1, PRAME1 and SYCP1 genes. These factors did not significantly influence on the expression of CT-genes SSX2, MAGEA2, GAGE4 and MAGEC1 of HeLa CCL-2 cell line, which makes it possible to recommend these CTAs as a target for cervical cancer immunotherapy.

Keywords: cancer-testicular antigens, gene expression, doxorubicin, HeLa.

Раково-тестикулярные антигены (РТА) являются одной из групп опухоль-ассоциированных антигенов. В зрелых соматических клетках экспрессия РТА практически отсутствуют, а их появление может служить молекулярным маркером малигнизации ткани. Иммунный ответ на РТА может быть активизирован с помощью генно-клеточных противоопухолевых вакцин [1]. Однако иммунотерапия наиболее часто применяется в качестве дополнения к основным методам лечения опухолей – хирургическому лечению, радио- и химиотерапии [2]. К числу наиболее часто используемых химиотерапевтических средств для лечения различных видов рака относятся антрациклиновые антибиотики, которые ингибируют синтез нуклеиновых кислот за счёт интеркаляции между парами азотистых оснований, что приводит к нарушению вторичной спирализации ДНК. Доксорубин кроме интеркалирующего действия вызывает нарушение метаболизма железа [3, 4]. Доксорубин (DXR) в настоящее время продолжает использоваться в составе химиотерапии при раке шейки матки [5], при этом его эффекты на экспрессию генов РТА и результаты последующей иммунотерапии остаются неизученными. Поэтому целью нашего исследования стала оценка влияния разных концентраций доксорубина и времени экспозиции (культивирования клеток) на транскрипционный профиль РТА клеток HeLa CCL-2.

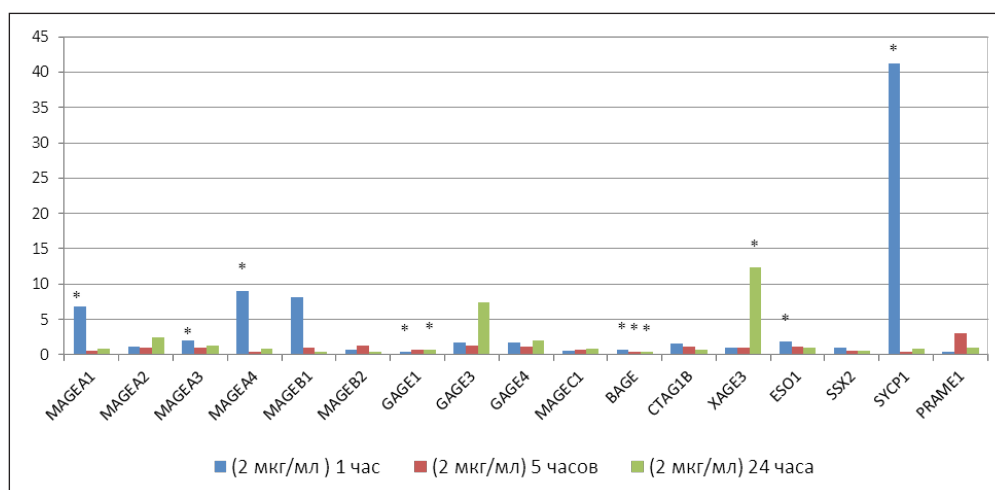
Материал и методы. В работе использована культура клеток человека – рак шейки матки линии HeLa CCL-2. Культивирование клеток HeLa CCL-2 проводилось в 9 стерильных плоскодонных культуральных флаконах площадью 25 см² с адгезионной поверхностью и

вентилируемыми крышками (Sarstedt, Германия). Инкубирование шло в условиях контролируемого 5 % CO₂ и 95 % влажности при 37 градусах по Цельсию в мультигазовом инкубаторе CB 150 (Binder, Германия). Культивирование клеток проводилось в среде RPMI-1640 (Биолот, Россия) с 10 % фетальной телячьей сывороткой (Thermo Scientific hyclone, США) при концентрации гентамицина 50 мкг/мл и различными концентрациями доксорубина: 0 мкг/мл (контроль), 2 мкг/мл и 4 мкг/мл (по 3 флакона). Через 1, 5 и 24 ч культивирования клеточные линии снимались с подложки флакона и анализировались: подсчёт количества живых и мёртвых клеток, определение относительной экспрессии генетических локусов.

Суммарную РНК из образцов выделяли по методу P. Chomczynski и N. Sacchi [6]. Для синтеза библиотеки кДНК использовали набор реагентов «РЕБЕРТА-L» (Россия, «Интерлабсервис»). Праймеры разработали с использованием базы данных NCBI GenBank. Определение относительной экспрессии 17 генетических локусов (*MAGE-A1*, *MAGE-A2*, *MAGE-A3*, *MAGE-A4*, *MAGE-B1*, *MAGE-B2*, *GAGE1*, *GAGE3*, *GAGE4*, *MAGE-C1*, *BAGE*, *CTAG1B*, *XAGE3*, *NY-ESO1*, *SSX2*, *SYCP1*, *PRAME1*) проводили методом Real-Time qPCR (референсный ген - *GAPDH*) на термоциклере Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, USA). Статистический анализ проводили с использованием двухфакторного дисперсионного анализа с повторениями (оценивалось влияние факторов А-время культивирования и Б - концентрация доксорубина), а также Post Hoc теста (тест Newman-Keuls) в программе Statistica 8.0 (StatSoft Inc).

Результаты. В ходе исследования установлено, что факторы времени инкубации клеток и концентрации DXR вместе взятые статистически достоверно ($p < 0.005$) влияют на экспрессию 13 из 17 (77 %) исследованных генов: *MAGEA1*, *MAGEA3*, *MAGEA4*, *MAGEB1*, *MAGEB2*, *GAGE1*, *GAGE3*, *BAGE*, *CTAG1B*, *XAGE3*, *NY-ESO1*, *PRAME1* и *SYCP1*. При этом факторы времени инкубации клеток и концентрация DXR статистически достоверно не влияли на экспрессию генов *SSX2*, *MAGEA2*, *GAGE4* и *MAGEC1*, концентрация DXR отдельно взятая статистически достоверно не влияет на экспрессию генетических локусов *MAGEB1* и *MAGEB2* (влияет фактор времени инкубации, $p < 0.05$), а фактор времени инкубации не влияет на экспрессию гена *PRAME1* (влияет фактор концентрации DXR, $p < 0.05$).

Выполненное с использованием теста Newman – Keuls попарное сравнение 9 групп по 2 факторам для каждого РТ-гена выявило следующие статистически значимые отличия для $p < 0.002$: 1. Относительно контроля (среда без доксорубина) через 1 ч культивирования обнаружено повышение экспрессии *MAGEA1*, *MAGEA4*, *MAGEA3* и *SYCP1* (2 мкг/мл), *NY-ESO1* (2 и 4 мкг/мл доксорубина), а также подавление экспрессии генов *GAGE1* и *BAGE* (2 мкг/мл доксорубина). 2. Относительно контроля через 5 ч культивирования обнаружена пониженная экспрессия *BAGE* (2 и 4 мкг/мл доксорубина), относительно контроля через 24 ч культивирования обнаружена сниженная экспрессия *GAGE1* (2 и 4 мкг/мл), *BAGE* (2 мкг/мл) и повышенная экспрессия гена *XAGE3* (2 и 4 мкг/мл). 3. Относительно точки 1 ч культивирования с доксорубином разной концентрации обнаружено снижение экспрессии *MAGEA1*, *MAGEA4*, *MAGEA3*, *MAGEB1* (2 мкг/мл), *MAGEB2* (4 мкг/мл), *BAGE* и *SYCP1* (2 мкг/мл) через 5 ч культивирования, *MAGEA1*, *MAGEA4*, *MAGEA3*, *MAGEB1* (2 мкг/мл), *MAGEB2* (4 мкг/мл), *BAGE* и *SYCP1* (2 мкг/мл) через 24 ч культивирования. 4. Относительно точки 1 ч культивирования с доксорубином разной концентрации обнаружено, *XAGE3* (2 и 4 мкг/мл) через 24 ч культивирования (рис. 1). Он на стр.203 возьми оттуда



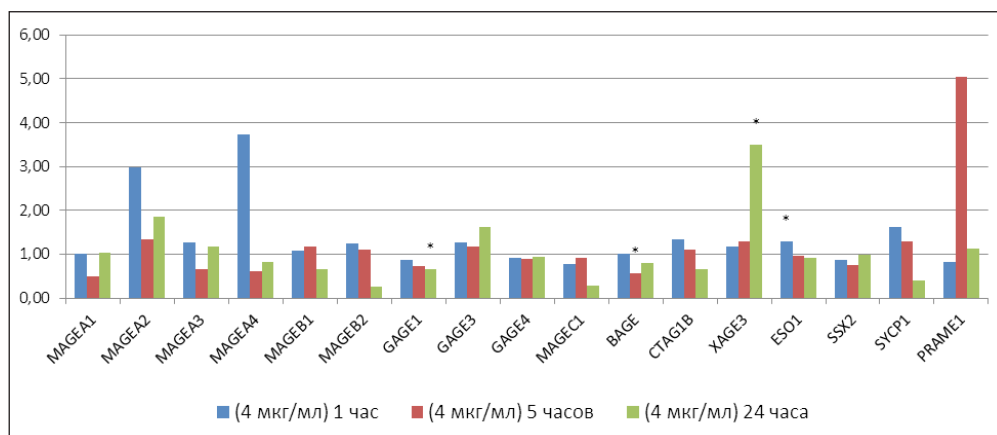


Рис. 1. Экспрессия РТ-генов в клетках HeLa CCL-2 через 1–24 ч при воздействии доксорубина разной концентрации (2–4 мкг/мл) относительно контроля (среда без доксорубина)

Закключение. Существенное влияние на экспрессию генов клеточной линии HeLa CCL-2 *MAGEA1*, *MAGEA3*, *MAGEA4*, *MAGEB1*, *MAGEB2*, *GAGE1*, *GAGE3*, *BAGE*, *CTAG1B*, *XAGE3*, *NY-ESO1*, *PRAME1* и *SYCP1* оказывают время культивирования и концентрация доксорубина. На экспрессию РТ-генов *SSX2*, *MAGEA2*, *GAGE4* и *MAGEC1* клеточной линии HeLa CCL-2 эти факторы существенного влияния не оказывали, что может позволить рекомендовать данные РТА в качестве мишени для иммунотерапии. Полученные данные также позволили сформировать следующие группы РТА: 1) повышающие экспрессию под воздействием доксорубина (*MAGEA1*, *MAGEA4*, *NY-ESO1*, *MAGEA3*, *SYCP1*, *XAGE3*); 2) снижающие экспрессию под воздействием доксорубина (*GAGE1* и *BAGE*). Эти результаты имеют важное значение для проведения иммунотерапии, в частности, для создания и применения дендритно-клеточных вакцин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Водлажский Д.И., Кутилин Д.С., Могушкова Х.А., Ващенко Л.Н., Никитина В.П., Кит О.И. Транскрипционная активность раково-тестикулярных антигенов у больных раком молочной железы люминальных подтипов А и В. Современные проблемы науки и образования. 2017; 4. [Интернет]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26492> (дата обращения: 29.01.2018).
2. Давыдов М.И., Ганцев Ш.Х. Онкология: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 920.
3. Hanada M. Amrubicin, Chapter 6 in Case Studies in Modern Drug Discovery and Development. Eds. Huang X and Aslanian RG. John Wiley & Sons. 2012. 104.
4. Takimoto C.H., Calvo E. Principles of Oncologic Pharmacotherapy in Pazdur R, Wagman LD, Camphausen KA, Hoskins WJ (Eds) Cancer Management: A Multidisciplinary Approach. 11 ed. 2008.
5. Soper J.T., Reisinger S.A., Ashbury R., Jones E., Clarke-Pearson D.L. Feasibility study of concurrent weekly cisplatin and whole abdominopelvic irradiation followed by doxorubicin/cisplatin chemotherapy for advanced stage endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group trial. Gynecol Oncol. 2004; 95(1): 95100. doi: 10.1016/j.ygyno.2004.06.041.
6. Chomczynski P., Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. Nat Protoc. 2006; 1(2): 5815. doi: 10.1038/nprot.2006.83.

МАММОГРАФИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ И РИСК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

П.Г. Лабазанова

Московский научно-исследовательский институт им. П.А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Целью настоящего исследования является изучение особенностей рентгенологических проявлений и молекулярно-генетической характеристики рака и других заболеваний молочной железы в зависимости от маммографической плотности у женщин пострепродуктивного возраста

Ключевые слова: маммографическая плотность, рак молочной железы, эпителиально-мезенхимальный переход (EMT).

MAMMOGRAPHIC DENSITY AND RISK OF BREAST CANCER

P.G. Labazanova

Moscow Scientific Research Institute named after P.A. Herzen – a branch of the Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center of Radiology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

The purpose of this study is to examine the features of the radiographic display and the molecular genetic characteristics of cancer and other breast diseases, depending on the mammographic density in women of post-productive age.

Keywords: mammographic density, breast cancer, epithelial-mesenchymal transition (EMT).

Актуальность. Маммографическая плотность (МГП) является важным независимым фактором риска развития рака молочных желёз (РМЖ) [1, 2]. МП – основной параметр, оцениваемый при рентгенологической маммографии, который определяется соотношением эпителиального и стромального (фиброзного) компонента, с одной стороны, и жира – с другой [2, 3, 4]. С возрастом величина МГП снижается. У женщин в постменопаузе МГП не превышает 30 %, а в идеале должна быть нулевой, т.е. полная фиброзно-жировая инволюция МЖ [3, 4]. Согласно скрининговым исследованиям с повышением МГП возрастает риск развития маммарных карцином [1, 2, 3]: высокая МГП уступает по степени повышения риска лишь возрасту, носительству мутантных генов BRCA и наличию предраковых изменений в ткани МЖ. Повышенная МГП ассоциируется также с увеличением риска пролиферативной мастопатии и предраковых изменений в ткани МЖ, а именно с эпителиально-мезенхимальным переходом (EMT). EMT – процесс, который играет важную роль в опухолевой прогрессии и метастазировании. Трансформируясь в мезенхимальный фенотип, опухолевые клетки становятся низкодифференцированными, утрачивают клеточную полярность (приобретают эллиптическую форму), а также способность прочно контактировать между собой (клеточную адгезию). Одновременно с этим они приобретают подвижность и миграционную активность (способность проникать в окружающие ткани), а также преодолевать барьер эндотелия, поступая в кровеносные или лимфатические сосуды. Запуск данной программы, способствующей эффективной инвазии и метастазированию в удаленные органы и ткани, дает опухолевым клеткам явные преимущества для выживания и распространения в организме. Длительное патогенетическое лечение снижает МГП [6].

Материал и методы. Клиническое обследование: опрос, осмотр пациента; рентгенологический, сонографический, интервенционные технологии, морфологический, иммуногистохимический

Выводы. Исследования по данному вопросу немногочисленны, вопрос о взаимосвязи маммографической плотности с риском развития рака молочной железы окончательно не доказан. Необходимы исследования по изучению особенностей рентгенологических проявлений и молекулярно-генетической характеристики РМЖ в зависимости от МГП у женщин пострепродуктивного возраста.

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ЦИСПЛАТИНА НА ЭКСПРЕССИОННЫЙ И СЕКРЕЦИОННЫЙ ПРОФИЛЬ МОДЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЬ АССОЦИИРОВАННЫХ МАКРОФАГОВ

И.В. Ларионова

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центра Российской академии наук, г. Томск, Россия
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия

Аннотация

В настоящее время остро назрела необходимость комплексного подхода к терапии опухолевых заболеваний, заключающегося в прямом уничтожении опухолевых клеток и активизации противоопухолевого иммунитета, основными клетками которого являются опухольассоциированные макрофаги. В этой связи актуально проведение исследований в модельных системах по оценке механизмов воздействия химиопрепаратов на макрофаги. В качестве модельной системы для опухольассоциированных макрофагов нами была использована система стимуляции первичных макрофагов человека цитокинами и супернатантами опухолевых клеток. Было установлено действие цисплатина на экспрессионный и секреторный макрофаги путем изучения продукции и экспрессии основных медиаторов, секретируемых макрофагами и определяющих уровень хронического воспаления, деградацию внеклеточного матрикса и создание условий для метастазирования и стимуляции опухолевого ангиогенеза.

Ключевые слова: опухольассоциированные макрофаги, цисплатин, экспрессия.

ANALYSIS OF THE EFFECT OF CISPLATIN ON THE EXPRESSION AND SECRETION PROFILE IN MODEL TUMOR-ASSOCIATED MACROPHAGES

I.V. Larionova

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, Tomsk State University, Tomsk, Russia

Abstract

Nowadays, there is an urgently need of comprehensive approach to the treatment of tumor, targeting both on direct destruction of tumor cells and activation of antitumor immunity, the main cells of which are tumor-associated macrophages. In this regard, necessary step for enhancing the effectiveness of chemotherapeutic drugs is to study the mechanisms of chemotherapeutic agents influence on macrophages in experimental model systems. We used a model system of tumor-associated macrophages, stimulated by cytokines and supernatants of tumor cells. The effect of cisplatin on the expression and secretion of macrophages was established by studying the production and expression of major mediators secreted by macrophages and determining the level of chronic inflammation, degradation of the extracellular matrix, and providing conditions for metastasis and stimulation of tumor angiogenesis.

Keywords: tumor-associated macrophages, cisplatin, expression.

Актуальность. Химиотерапия рассматривается в качестве одного из основных методов противоопухолевого лечения и обеспечивает условия для вовлечения иммунной системы в реализацию эффекта цитотоксической терапии [1]. Основными клетками иммунной системы, определяющими взаимоотношения опухоли с микроокружением, являются опухольассоциированные макрофаги (ОАМ) [2]. Необходимым этапом для усиления эффективности действия химиотерапевтических препаратов, выявления механизмов отсутствия ответа на лечение является изучение фенотипических и функциональных особенностей ОАМ в условиях терапии [3, 4]. Принимая во внимание тот факт, что макрофаги практически не пролиферируют, можно ожидать не только токсические эффекты на их функции со стороны цитостатиков, однако этот вопрос остается не исследованным.

Материал и методы. В качестве модельной системы для ОАМ была использована система стимуляции первичных макрофагов человека цитокинами (IL4 и TGFβ) и супернатантами опухолевых клеток MCF-7 (аденокарцинома молочной железы) и Colo206F (карцинома кишечника человека). Моноциты выделяли из лейкостромбосля здоровых доноров при помощи магнитной сортировки (MACS) с использованием CD14-позитивной селекции (Miltenyi Biotec). Затем их стимулировали в оптимально подобранных концентрациях M-CSF (10 нг/мл) и дексаметазона 10⁻⁸ М, а также IL-4 (10 нг/мл) и комбинацией цитокинов IL4 (10 нг/мл) + TGFβ (10 нг/мл). Супернатанты от опухолевых клеточных линий MCF-7 и Colo206F добавляли к свежевыделенным моноцитам в количестве 20 %. Моноциты культивировали в концентрации 1х10⁶ клеток/мл в бессывороточной среде X-Vivo (Cambrex) при 37°C в течение 6 дней. Через 6 дней в культуру модельных ОАМ был добавлен химио-

терапевтический препарат цисплатин в концентрации 20 μ M на 72 ч. Влияние цисплатина на продукцию про-воспалительных и проангиогенных цитокинов (TNF α , IL1 β , IL6, IL8); анти-воспалительного цитокина IL10, матриксных металлопротеиназ (MMP7, MMP9; MMP12), секрецию факторов роста и проангиогенных факторов (TGF β , VEGF) было проанализировано на уровне экспрессии генов при помощи RT-PCR. Секреция факторов была проанализирована иммуноферментным методом (ELISA).

Результаты. При помощи ПЦР в режиме реального времени нами были обнаружены следующие изменения в экспрессионном профиле макрофагов после добавления цисплатина. Основным стимулирующий эффект цисплатина наблюдался для экспрессии следующих генов: провоспалительных цитокинов IL1 β , IL6, IL8, TNF α , противовоспалительного цитокина IL10, проангиогенных факторов TGF β и VEGF-A (рис. 1). Цисплатин не оказывал существенного влияния на экспрессию матриксных металлопротеиназ MMP2, MMP7, MMP9 и MMP12. При помощи иммуноферментного анализа было установлено влияние цисплатина на секреторный профиль макрофагов. Секреция проангиогенного фактора VEGF детектировалась только в образцах с MCF-7, и было продемонстрировано увеличение концентрации данного фактора роста в ответ на цисплатин (рис. 2). Секреция провоспалительного цитокина TNF α снижалась незначительно в макрофагах, стимулированных супернатантами опухолевых клеток MCF-7. Для провоспалительного цитокина IL8 было обнаружено повышение экспрессии в образцах с супернатантами от Colo206F, но не супернатантами от MCF-7. Для цитокинов IL1 β и IL6 не было обнаружено разницы в образцах с MCF-7 при добавлении цисплатина. В образцах с супернатантами Colo206F не детектировалась секреция IL1 β и IL6.

Выводы. Было установлено стимулирующее и подавляющее действие цисплатина на продукцию и экспрессию основных медиаторов, секретируемых ОАМ и определяющих уровень хронического воспаления, деградацию внеклеточного матрикса и создание условий для метастазирования и стимуляцию опухолевого ангиогенеза. Было выдвинуто предположение, что ответ макрофагов на цисплатин может вызывать активацию воспалительной программы противоопухолевой направленности.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №14-15-00350

ЛИТЕРАТУРА

1. Galluzzi L., Buqué A., Kepp O., Zitvogel L., Kroemer G. Immunological Effects of Conventional Chemotherapy and Targeted Anticancer Agents. *Cancer Cell*. 2015 Dec 14; 28(6): 690-714. doi: 10.1016/j.ccell.2015.10.012.
2. Qian B.Z., Pollard J.W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*. 2010; 141: 39–51. doi: 10.1016/j.cell.2010.03.014.
3. Bracci L., Schiavoni G., Sistigu A., Belardelli F. Immune-based mechanisms of cytotoxic chemotherapy: implications for the design of novel and rationale-based combined treatments against cancer. *Cell. Death. and Differentiation*. 2014. 21: 15–25. doi:10.1038/cdd.2013.67.
4. Чердынцева Н.В., Митрофанова И.В., Булдаков М.А., Стахеева М.Н., Патышева М.Р., Завьялова М.В., Кжышкова Ю.Г. Макрофаги и опухолевая прогрессия: на пути к макрофаг-специфичной терапии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (4): 60–73.

ЭКСПРЕССИЯ ММП-2 В КАРДИОМИОЦИТАХ КРЫС В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ АНТРАЦИКЛИНОВОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

Н.А. Листвягова

Институт молекулярной патологии и патоморфологии, г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Экспериментально исследована локализация матриксной металлопротеиназы-2 (ММП-2) в миокарде крыс-самцов Вистар после введения сублётальной (7 мг/кг) дозы доксорубина гидрохлорида методом иммуногистохимии. Экспрессия ММП-2 регистрировалась преимущественно в ядрах кардиомиоцитов. Индекс ММП-2-положительных ядер увеличился в 2.6 раза с развитием антрациклиновой кардиомиопатии. К 14-му дню эксперимента ММП-2 обнаруживалась и в саркоплазме кардиомиоцитов.

Ключевые слова: антрациклиновая кардиомиопатия, матриксная металлопротеиназа-2, кардиомиоциты, иммуногистохимия.

THE EXPRESSION OF MMP-2 IN RAT CARDIOMYOCYTES DURING THE DEVELOPMENT OF ANTHRACICLINE CARDIOMYOPATHY

N.A. Listvyagova

Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Novosibirsk, Russia

Abstract

Localization of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in the myocardium of male Vistar rats after sublethal (7 mg/kg) injection of doxorubicin hydrochloride was experimentally studied by immunohistochemistry. MMP-2 expression was registered predominantly in the cardiomyocyte nuclei. A 2.6-fold increase of MMP-2 positive nuclei index was observed during the progression of anthracycline cardiomyopathy. By the 14th day of the experiment, MMP-2 had been exhibited in cardiomyocyte sarcoplasm as well.

Keywords: anthracycline cardiomyopathy, matrix metalloproteinase-2, cardiomyocytes, immunohistochemistry.

Негативные побочные эффекты противоопухолевой терапии являются не менее серьезной проблемой, чем сам неопластический процесс. Одним из наиболее эффективных и широко используемых в химиотерапевтических схемах препаратов является антрациклиновый антибиотик доксорубин [1], обладающий дозозависимым кумулятивным кардиотоксическим действием. Молекулярные механизмы антрациклин-зависимого ремоделирования миокарда до конца не выяснены, что ограничивает разработку и применение терапевтических средств. В частности, важное значение имеет исследование механизмов протеолиза структурных белков кардиомиоцитов, обуславливающих развитие сердечной недостаточности. Например, развивающиеся дисфункции миокарда часто ассоциируются с изменениями активности некоторых матриксных металлопротеиназ (ММП-2 и ММП-9), обнаруживаемых как во внеклеточном матриксе миокарда, так и в кардиомиоцитах [2–4]. Показано, что ММП-2 экспрессируется в кардиомиоцитах в процессе их пролиферации; в саркомерах миофибриллярных пучков и в ядрах кардиомиоцитов при развитии окислительного стресса [5, 6]. Таким образом, обнаружение внутриклеточных локализаций ММП-2 и установление интенсивности ее экспрессии в миокарде при различных патологических и физиологических состояниях могут быть использованы в изучении молекулярно-клеточных основ развития сердечной дисфункции.

Цель работы – изучить локализацию и характер экспрессии ММП-2 в миокарде крыс при использовании сублетальной дозы доксорубина в эксперименте.

Материал и методы. Антрациклиновую кардиомиопатию моделировали у крыс-самцов Вистар (n=28) однократным внутрибрюшинным введением доксорубина гидрохлорида (ДОК) (Фармахеми Б.В., Нидерланды) в дозе 7 мг/кг в растворе 0,9 % NaCl. Контрольным животным одновременно с опытными внутрибрюшинно вводили физиологический раствор в объеме, соответствующем их массе тела. Животных выводили из эксперимента декапитацией через 3 и 14 сут после введения ДОК. Образцы миокарда фиксировали в 10 % растворе нейтрального забуференного формалина, заливали в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Экспрессию ММП-2 в миокарде оценивали иммуногистохимически с помощью поликлональных кроличьих антител к ММП-2 в разведении 1:100 (E18012, SpringBioscience, США).

Подсчет ММП-2-позитивных ядер кардиомиоцитов проводили в универсальном микроскопе «Leica DM 4000B», с использованием компьютерной программы «Leica QWinV3» при увеличении в 1000 раз в 20 непересекающихся полях зрения с последующим вычислением индекса ММП-2-позитивных ядер (ММП-2⁺).

Гистологический анализ срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, показал, что миокард контрольных животных преимущественно был представлен плотно упакованными мышечными волокнами; в тонких соединительнотканых прослойках различались кровеносные капилляры. В миокарде присутствовали отдельные кардиомиоциты с контрактурными повреждениями I и II степени, а также единичные клетки с литически поврежденной саркоплазмой. Экспрессия ММП-2 в кардиомиоцитах контрольных крыс наблюдалась преимущественно в ядрах и характеризовалась умеренной интенсивностью.

Через 3 сут после введения ДОК в миокарде появлялась мозаичность в окрашивании саркоплазмы кардиомиоцитов эозином. Регистрировались небольшие группы кардиомиоцитов с контрактурными повреждениями миофибрилл и отдельные кардиомиоциты с признаками лизиса саркоплазмы. Отмечался выраженный анизокариоз с изменением формы ядер кардиомиоцитов, нередко их смещение в подсарколеммальную зону. Умеренный отек стромы миокарда сопровождался венозным и капиллярным полнокровием, лимфостазом.

В этот срок наблюдения количество ММР-2⁺ кардиомиоцитов возрастало, усиливалась интенсивность их иммуногистохимического окрашивания. Индекс ММР-2⁺ достоверно ($p < 0,001$) увеличивался в 2,1 раза по сравнению с контролем (рис. 1). В единичных случаях позитивное окрашивание выявлялось в виде незначительной зернистости участков саркоплазмы между полосами сокращения. В саркоплазме и ядрах кардиомиоцитов с контрактурными повреждениями экспрессия ММР-2 не выявлялась.

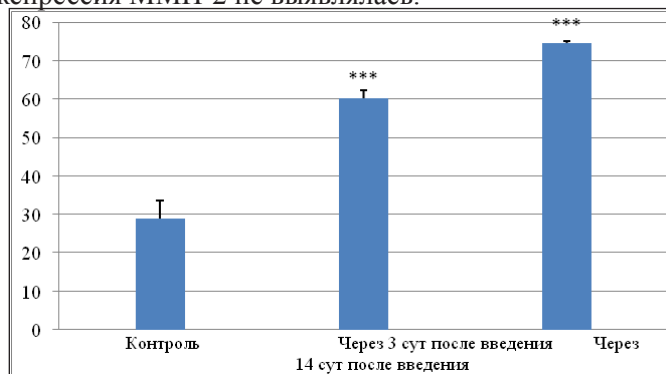


Рис. 1. Количественная оценка ММР-2-позитивных ядер кардиомиоцитов после введения доксорубина, *** – $p < 0,001$ по сравнению с контролем

Через 14 сут после введения сублетальной дозы доксорубина деструктивные изменения в миокарде крыс усиливались. Нередко регистрировались более крупные, по сравнению с предыдущим сроком, очаги некробиоза кардиомиоцитов, инфильтрированные мононуклеарными клетками. Развивался диффузный кардиосклероз. Гемодинамические нарушения сохранялись. В этот срок при проведении иммуногистохимического исследования возрастала интенсивность окрашивания саркоплазмы кардиомиоцитов, но локализация ММР-2 существенно не менялась. Достоверно ($p < 0,001$) в 2,6 раза по сравнению с контролем возрастал индекс ММР-2⁺ кардиомиоцитов (рис. 1); в кардиомиоцитах с контрактурными повреждениями иммуногистохимического окрашивания не наблюдалось.

Таким образом, иммуногистохимическое исследование выявило преимущественно ядерную экспрессию ММР-2 в миокарде как контрольных, так и подвергнутых действию сублетальной дозы доксорубина крыс. По мере развития антрациклиновой кардиомиопатии и усиления литических повреждений кардиомиоцитов достоверно увеличивался индекс ММР-2⁺ кардиомиоцитов, что сопровождалось появлением продуктов иммуногистохимической реакции в саркоплазме кардиомиоцитов. В контрактурно измененных кардиомиоцитах ММР-2 не регистрировалась. Можно предположить, что ММР-2 вносит вклад в развитие литических изменений кардиомиоцитов. Оценка характера и выраженности экспрессии ММР-2 в миокарде при введении антрациклиновых антибиотиков может способствовать разработке критериев повреждения миокарда при цитотоксических воздействиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mitry M.A., Edwards J.G. Doxorubicin induced heart failure: Phenotype and molecular mechanisms. *Int. J. Cardiol. Heart Vasc.* 2016 Mar; 10: 1724. doi: 10.1016/j.ijcha.2015.11.004.
2. Baghirova S., Hughes B.G., Poirier M., Kondo M.Y., Schulz R. Nuclear matrix metalloproteinase-2 in the cardiomyocyte and the ischemic-reperfused heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2016 May; 94: 15361. doi: 10.1016/j.jmcc.2016.04.004
3. Ali M.A., Fan X., Schulz R. Cardiac sarcomeric proteins: Novel intracellular targets of matrix metalloproteinase-2 in heart disease. *Trends Cardiovasc. Med.* 2011; 21(4): 1128. doi: 10.1016/j.tcm.2012.03.008.
4. Fan X., Hughes B.G., Ali M.A., Chan B.Y., Launier K., Schulz R. Matrix metalloproteinase-2 in oncostatin M-induced sarcomere degeneration in cardiomyocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2016 Jul; 311(1): H1839. doi: 10.1152/ajpheart.00229.2016.
5. Chow A.K., Cena J., Schulz R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature. *British J. Pharmacology.* 2007 Sep; 152(2): 189205. doi: 10.1038/sj.bjp.0707344.
6. Басаргина Е.Н., Гасанов А.Г., Бершова Т.В., Баканов М.И., Иванов А.П., Куприянова О.О. Состояние матриксных металлопротеиназ и их роль в формировании хронической сердечной недостаточности у детей с дилатационной кардиомиопатией. *Педиатрическая фармакология.* 2009; 6(3): 8488.

ВОЗМОЖНОСТИ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ КОСТНЫХ МЕТАСТАЗОВ РАКА ПОЧКИ

Н.А. Лушникова

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия
Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В работе представлен анализ результатов комбинированного лечения больных с костными метастазами почечно-клеточного рака (мПКР). Исследование проведено на базе НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2014 по 2017. В исследование включено 34 пациента со светлоклеточным мПКР, которые получали предоперационную таргетную терапию (ПТТ) либо пазопанибом, либо эверолимусом в течение 8 нед. Всем пациентам выполнялось паллиативное хирургическое лечение как первичной опухоли, так и костных метастазов. В результате исследования было показано, что проведение ПТТ характеризуется высокой частотой клинического ответа при удовлетворительной переносимости, в ряде случаев улучшает условия для выполнения хирургического этапа на костных метастатических очагах, уменьшает объем и продолжительность выполнения оперативного пособия, что в свою очередь позволяет сохранить больший объем движений в пораженном костном сегменте, а также, улучшить показатели качества жизни.

Ключевые слова: почечно-клеточный рак, костные метастазы, таргетная терапия, пазопаниб, эверолимус, качество жизни, хирургическое лечение.

CAPABILITIES OF PREOPERATIVE TARGET THERAPY IN TREATMENT BONE METASTASES OF RENAL CELL CARCINOMA

N.A. Lushnikova

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

This article provides analysis of combined treatment among patients with bone metastases of renal cell carcinoma (RCC). A research was organized on a basis of Tomsk Research Institute of Oncology at the Ministry of Healthcare of Russia in the period from 2014 to 2017. The research includes 34 patients with clear cell renal cell carcinoma, who also received preoperative target therapy (PTT). PTT was provided to patients for 8 weeks and included whether Pazopanib or Everolimus. All patients received palliative surgery of both main tumor and bone metastases. Target therapy was prolonged according to indications during postoperative period. Data analysis has shown a list of different results. First, realization of PTT is marked by high frequency of clinical response with working acceptability. Second, in some cases PTT improve conditions for performing surgical treatment on bone metastases. Third, PTT reduce type and duration of operation. All three listed benefits of PTT can save range of motions in affected bone segments and improve patient's quality of life.

Keywords: renal cell carcinoma, bone metastases, target therapy, pazopanib, everolimus, quality of life, surgical treatment.

Актуальность. Ежегодно в мире регистрируется около 250 тыс. новых случаев почечно-клеточного рака [1]. В России в 2016 г. зарегистрировано 22945 первичных больных ПКР, а абсолютное количество умерших составило 8430 человек [2]. У половины заболевших процесс уже исходно имеет или в ранние сроки приобретает генерализованный характер. У 30–35 % больных выявляются костные метастазы [3]. Характерной особенностью ПКР является резистентность к лучевому и химиотерапевтическому лечению. Золотым стандартом лечения пациентов с мПКР является таргетная терапия. Особенностью костных метастазов ПКР является усиленное кровоснабжение, за счет этого, хирургическое лечение, как пра-

вило, сопровождается массивной кровопотерей. В последние годы активно обсуждается вопрос о целесообразности назначения таргетной терапии в предоперационном режиме, так как основной точкой ее приложения являются рецепторы сосудистого эндотелиального фактора роста. В ряде случаев использование ПТТ позволяет не только уменьшить объем первичной опухоли, но и размеры костных метастазов, что, в свою очередь, облегчает выполнение хирургического вмешательства.

Материал и методы. Исследование проводилось на базе НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2014 по 2017 гг. В исследование были включены 34 больных с костными метастазами светлоклеточного ПКР ($T_{1-4}N_{0-2}M_1$). Из них мужчин – 21 (63 %), женщин – 13 (37 %). Средний возраст пациентов составил 54,9 (3478) лет. Пациенты были рандомизированы в две сопоставимые группы. Первая группа в течение 8 недель получала тирозинкиназный ингибитор – пазопаниб, вторая – блокатор mTOR – эверолимус. Всем больным с мПКР проводилось комбинированное лечение, включающее в себя 2-х месячный курс предоперационной таргетной терапии с последующим выполнением хирургического этапа на метастатическом костном фрагменте и на первичной опухоли в объеме нефрэктомии или резекции почки. В послеоперационном периоде все пациенты продолжали получать таргетную терапию. В связи с усиленным кровоснабжением и частой необходимостью гемотрансфузии, хирургическое лечение метастатических очагов выполнялось в первую очередь в условиях двух функционирующих почек. Вторым этапом проводилась нефрэктомия, либо резекция пораженной почки. Целью лечения, помимо онкологических результатов, являлось сохранение, а в ряде случаев – улучшение качества жизни за счет снижения паранеопластических проявлений, сохранения максимального объема движения, а также функции пораженного костного сегмента. Замещение костных дефектов выполнялось с помощью биodeградируемых поликомпозитных материалов и мультимодальных металлоконструкций и, как правило, носило органосохраняющий характер. Эффективность ПТТ оценивалась по критериям RECIST 1.1. Исследование качества жизни (КЖ) проводилось методом анкетирования до и после проведения ПТТ. Использовались опросники «Functional Assessment of Cancer Therapy Kidney Symptom Index» (FKSI-15) и «Functional Assessment of Cancer Therapy General» (FACT-G).

Результаты. Проведение ПТТ пазопанибом и эверолимусом у больных ПКР с костными метастазами характеризуется высокой эффективностью: клинический ответ по сумме частичных регрессий опухоли и стабилизаций процесса составил 86,7 % и 80 % соответственно. Большинство нежелательных явлений, связанных с приемом препаратов (91,7 %), относились к 12 степени тяжести и легко поддавались коррекции. Высокая эффективность ПТТ у больных мПКР позволила у 73,6 % пациентов выполнить органосохраняющие операции на пораженном костном сегменте. Следует отметить, что у 4 (13,6 %) больных после проведения ПТТ, в связи со значительным уменьшением распространенности метастатического поражения, объем хирургического пособия был изменен в пользу сегментарной резекции кости, вместо исходно планировавшейся ампутации. При оценке динамики КЖ отмечено значимое изменение данного показателя в лучшую сторону как по шкале FKSI-15 (до ПТТ $42,5 \pm 2,32$, после ПТТ $46,7 \pm 2,17$, $p \leq 0,05$), так и по опроснику FACT-G (до ПТТ $82,5 \pm 3,85$, после ПТТ $86,3 \pm 3,74$, $p \leq 0,05$).

Выводы. Проведение ПТТ у больных с костными метастазами ПКР характеризуется высокой частотой достижения клинического ответа при удовлетворительной переносимости и стабильных показателях качества жизни, а ее использование создает более благоприятные условия для выполнения хирургического этапа лечения и способствует увеличению количества органосохраняющих операций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Heng D.Y. External validation and comparison with other models of the International Metastatic Renal-Cell Carcinoma Database Consortium prognostic model: a populationbased study. *Lancet Oncology*. 2013; 14(2):141148.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. МФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России. 2017: 208209.
3. Klaassen Z. Metastatic renal cell carcinoma: Patterns and predictors of metastases A contemporary population-based series. *Urologic Oncology*. 2017: 3
4. Алексеев Б.Я. Неoadьювантная таргетная терапия у больных почечно-клеточным раком. *Онкоурология*. 2015; 2: 2433.

РОЛЬ ФАКТОРОВ НЕОАНГИОГЕНЕЗА В ТЕРАПИИ EGFR-БЛОКАТОРАМИ У БОЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЯЗЫКА И СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

А.А. Льянова, Л.Ю. Владимирова

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Цетуксимаб представляет собой моноклональное антитело IgG1, которое обладает высоким сродством к эпидермальному фактору роста и блокирует процесс фосфорилирования EGFR. Цетуксимаб увеличивает эффективность лечения больных плоскоклеточным раком головы и шеи. Однако далеко не у всех больных удается достичь желаемых результатов. В данном исследовании изучались факторы роста в крови и ткани опухоли, такие как EGF, EGFR, VEGFA, VEGFR1, VEGFD, TGF. Получены данные о нарушении передачи сигнала на уровне тканей, окружающих опухоль.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак головы и шеи, цетуксимаб, факторы неоангиогенеза.

ROLE OF NEOANGIOGENESIS FACTORS IN ANTI-EGFR THERAPY IN PATIENTS WITH SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF ORAL MUCOSA

A.A. Lyanova, L.Yu. Vladimirova

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Cetuximab is a monoclonal IgG1 antibody with high affinity to the epidermal growth factor that blocks EGFR phosphorylation. Cetuximab improves the effectiveness of treatment for head and neck squamous cell carcinoma. However, not all patients achieve the desired outcomes. We studied blood and tumor levels of EGF, EGFR, VEGFA, VEGFR1, VEGFD and TGF. The results demonstrated interruption of the EGFR signaling in tissues surrounding the tumor.

Keywords: head and neck squamous cell carcinoma, cetuximab, neoangiogenesis factors.

Актуальность. Известно, что моноклональное антитело Цетуксимаб специфически связывается с рецепторами эпидермального фактора роста, блокирует процессы фосфорилирования и активирует механизмы рецептор-ассоциированных киназ, что приводит к ингибированию пролиферации и стимулирует апоптоз опухолевых клеток [1]. Возникновение резистентности к цетуксимабу у онкологических больных связывают с мутациями в генах ERBB-рецепторов или в генах – эффекторов нижележащих сигнальных путей [2]. В ряде работ на клеточных линиях ПРГШ исследовали взаимосвязь между экспрессией некоторых лигандов EGF и ингибированием активности цетуксимаба, результаты которых показали, что изучение экспрессии TGF-а может иметь прогностический потенциал [3]. Цетуксимаб увеличивает эффективность лечения плоскоклеточным раком головы и шеи. Однако далеко не у всех больных удается достичь желаемых результатов [4].

Материал и методы. В исследование были включены 30 пациентов с верифицированным плоскоклеточным раком языка и слизистой оболочки полости рта. Из них 26 мужчин (86,6 %) и 4 женщины (13,4 %). Средний возраст составлял $57,5 \pm 1,7$ года. Цетуксимаб вводили в дозировке 400 мг/м² в 1 день и 250 мг/м² еженедельно в сочетании с химиотерапией: Цисплатин 100 мг/м² на фоне гипергидратации в 1-й день и Фторурацил 1000 мг/м² в 1–4-й дни 21-дневного цикла. Методом иммуноферментного анализа в крови, ткани опухоли и ее перифокальной зоне 30 пациентов изучали показатели EGF, EGFR, VEGFA, VEGFR1, VEGFD, TGF. В качестве контроля изучены кровь и ткань больных без лечения цетуксимабом.

Результаты и обсуждение. В случае достижения клинической эффективности в виде частичной регрессии опухоли (степень RECIST >30 %) в ткани опухоли уровень EGFR снижался относительно показателей контроля на 40,8 %, EGF – на 22,6 %, VEGFR1 – на 41,6 %, TGF – на 28 %, VEGFA – в 4,6 раза. Изменения уровня EGF, EGFR, VEGFA, VEGFR1, TGF в тканях, окружающих опухоль, были однонаправлены с показателями опухоли и еще более выражены. В крови этих больных после лечения уровень EGFR увеличивался в 1,7 раза, TGF, напротив, снижался в 1,4 раза при неизменном уровне остальных показателей. При возникновении стабилизации процесса (степень RECIST < 30 %) или прогрессировании заболевания в ткани опухоли уровень EGFR не имел достоверных изменений относительно показателей контроля, EGF увеличивался на 26,6 %, VEGF снижался в 1,8 раза, VEGFR1 увеличивался на 26,6 %, VEGFA снижался в 4,5 раза при неизменном уровне TGF.

Выводы. Нарушение сигнальной передачи на уровне тканей, окружающих опухоль, вероятно, является причиной неэффективности терапии цетуксимабом, что имеет системное отражение при исследовании показателей факторов роста в крови больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белоцерковский И.В., Жуковец А.Г., Тризна Н.М. Комплексный подход в лечении злокачественных опухолей головы и шеи. Перспективы использования таргетных препаратов. Онкологический журнал. 2011; 5(20): 9699
2. Kondo N., Tsukuda M., Taguchi T. Gene status of head and neck squamous cell carcinoma cell lines and cetuximab-mediated biological activities. Cancer Sci. 2011 September 1; 102(9): 17171723.
3. Ekblad L., Welinder C., Kjellen E., Brun E., Wennerberg J. Anti- or pro-proliferation- Conditional options for TGF and cetuximab in head and neck squamous cell carcinoma. Oral Oncology. 2015; 51: 4652.
4. Браунштейн Т., Левандовски А., Сметс Д., Болотин М. Плоскоклеточный рак головы и шеи: новые перспективы лечения? Опухоли головы и шеи. 2013; 3: 410.

ХАРАКТЕР РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИМФОЦИТОВ В МИКРООКРУЖЕНИИ ИНВАЗИВНОЙ КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С УЧЕТОМ ЕЕ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ

Л.С. Ляпунова, В.В. Алифанов

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В настоящее время прогностическая значимость лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, показана для тройного негативного и HER2-позитивного подтипа рака молочной железы (РМЖ), но не люминальных форм РМЖ. Причиной подобного феномена может являться внутриопухолевая морфологическая гетерогенность инвазивной карциномы неспецифического типа (ИКНТ) молочной железы. В данном исследовании на основании оценки выраженности воспалительной инфильтрации нами была показана гетерогенность распределения лимфоцитов вблизи различных морфологических структур ИКНТ молочной железы. Показано, что наименее выражена воспалительная инфильтрация вблизи тубулярных структур.

Ключевые слова: рак молочной железы, морфологическая гетерогенность, опухоль инфильтрирующие лимфоциты.

THE NATURE OF THE DISTRIBUTION OF LYMPHOCYTES IN THE MICROENVIRONMENT OF INVASIVE BREAST CARCINOMA, TAKING INTO ACCOUNT ITS MORPHOLOGICAL HETEROGENEITY

L.S. Lyapunova, V.V. Alifanov

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Currently, the prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes is shown for the triple negative and HER2-positive subtype of breast cancer, but not for the luminal forms of breast cancer. Suggested cause of this phenomenon may be the intratumoral morphological heterogeneity of the invasive breast cancer of not specific type. In this study, by evaluated the severity of inflammatory infiltration we showed heterogeneity of the distribution of lymphocytes near various morphological structures of the invasive breast cancer of not specific type. It was shown that inflammatory infiltration near of tubular structures is less pronounced.

Keywords: breast cancer, morphological heterogeneity, tumor infiltrating lymphocyte.

Актуальность. Рак молочной железы (РМЖ) представляет собой не только скопление злокачественно трансформированных эпителиальных клеток, но и нормальные клетки микроокружения, в частности иммунные клетки. При этом последние могут как способствовать, так и препятствовать опухолевому росту, инвазии и метастазированию. В составе иммунного инфильтрата преобладают различные популяции Т-лимфоцитов (tumor infiltrating lymphocyte – TIL), например CD8+ цитотоксические Т-лимфоциты и CD4+ Т-лимфоциты, представленные большим разнообразием субпопуляций (Th1-, Th2, Tfh-, Treg-лимфоциты и другие). В строме опухоли иммунные клетки мигрируют из кровеносного русла, привлекаемые хемокинами, которые продуцируют опухолевые клетки, фибробласты или клетки воспаления [1].

В настоящий момент показана прогностическая значимость TIL для тройного негативного и HER2-позитивного подтипа РМЖ, однако не было обнаружено никакой прогностической значимости TIL при люминальных формах РМЖ [2]. Мы предполагаем, что причиной подобного феномена может являться внутриопухолевая морфологическая гетерогенность инвазивной карциномы неспецифического типа (ИКНТ) молочной железы [3]. Морфологическая гетерогенность одна из основных характеристик злокачественности опухоли, что находит отражение в гистологической, экспрессионной и генотипической гетерогенности [4], а также является одним из первых параметров для классификации РМЖ на гистологические группы. В настоящее время для определения степени злокачественности РМЖ используют оценку наличия тубулярных структур, ядерный полиморфизм и митотический индекс. При этом отмечается, что пациенты с преобладанием в опухолевом узле тубулярных структур имеют более высокую выживаемость. Кроме того, опухоли молочной железы, относящиеся по классификации к одному гистологическому варианту, могут иметь различные клинические и патологические особенности [5]. Одной из возможных причин подобной клинической неоднородности внутри одной гистологической группы РМЖ может быть неравномерное распределение в строме опухоли клеток иммунного инфильтрата [6]. Таким образом, целью нашего исследования являлась оценка выраженности воспалительной лимфоидной инфильтрации вблизи различных морфологических структур инвазивной карциномы молочной железы люминального типа.

Материал и методы. В исследовании был использован послеоперационный материал 50 пациенток с люминальным (А и В) подтипом РМЖ T1–4N0–3M0 проходивших лечение в отделении общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, которым в соответствии с рекомендациями врача проводилась радикальная мастэктомия или секторальная резекция молочной железы с интраоперационной лучевой терапией в дозе 10 Гр. По показаниям больные получали адъювантную химио-, лучевую и/или гормонотерапию, терапию в неoadъювантном режиме ни одна из пациенток не получала.

Из фиксированных в формалине и заключенных в парафин фрагментов опухолевой ткани молочной железы были приготовлены гистологические срезы, а затем окрашены гематоксилином и эозином по стандартной методике. Исследование выполнялось с применением светового микроскопа Axio Lab.A1 (Zeiss, Германия).

Результаты и обсуждение. В своем исследовании мы проводили оценку выраженности воспалительной инфильтрации по рекомендациям международной рабочей группы [1] вблизи пяти морфологических структур инвазивной карциномы не специфического типа молочной железы. Результаты представлены в таблице. Мы обнаружили, что плотность воспалительной инфильтрации в строме ИКНТ молочной железы неравномерна. Наименьшая выраженность воспалительной инфильтрации наблюдалась в ближайшем микроокружении тубулярных структур опухоли, которые являются наиболее дифференцированными. Выраженность воспалительной инфильтрации в микроокружении структур увеличивалась при

их дедифференцировке (в ряду тубулярные-альвеолярные-солидные-трабукулярные).

Выводы. В результате исследования показана гетерогенность распределения лимфоцитов вблизи различных морфологически обособленных структур инвазивной карциномы не специфического типа молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Salgado R., Denkert C., Demaria S., Sirtaine N., Klauschen F., Pruneri G., Perez E.A. Harmonization of the evaluation of tumor infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs- Working Group 2014. *Ann Oncol.* 2015. Feb; 26(2): 259–71. doi: 10.1093/annonc/mdl450.
2. Bedognetti D., Hendrickx W., Marincola F.M., Miller L.D. Prognostic and predictive immune gene signatures in breast cancer. *Curr Opin Oncol.* 2015 Nov; 27(6): 433–44. doi: 10.1097/CCO.0000000000000234.
3. Zavyalova M.V., Denisov E.V., Tashireva L.A., Gerashchenko T.S., Litviakov N.V., Skryabin N.A., Vtorushin S.V., Telegina N.S., Slonimskaya E.M., Cherdyntseva N.V., Perelmutter V.M. Phenotypic drift as a cause for intratumoral morphological heterogeneity of invasive ductal breast carcinoma not otherwise specified. *Biores Open Access.* 2013 Apr; 2(2): 148–154. doi: 10.1089/biores.2012.0278.
4. Gerashchenko T.S., Zavyalova M.V., Denisov E.V., Krakhmal N.V., Pautova D.N., Litviakov N.V., Vtorushin S.V., Cherdyntseva N.V., Perelmutter V.M. Intratumoral Morphological Heterogeneity of Breast Cancer As an Indicator of the Metastatic Potential and Tumor Chemosensitivity. *Acta Naturae.* 2017 Jan-Mar; 9(1): 56–67.
5. Weigelt B., Geyer F.C., Reis-Filho J.S. Histological types of breast cancer: How special are they? *Mol Oncol.* 2010 Jun; 4(3): 192–208. doi: 10.1016/j.molonc.2010.04.004.
6. Таширева Л.А., Савельева О.Е., Вторушин С.В., Кайгородова Е.В., Денисов Е.В., Слонимская Е.М., Завьялова М.В. Гетерогенность распределения цитотоксических Т-лимфоцитов в строме инвазивной карциномы молочной железы: прогностическое значение. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2015; 7(1): 73–75.

КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ ДИССЕМИНИРОВАННОГО РАКА ЖЕЛУДКА

В.А. Маркович, С.А. Тузиков

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Исследование посвящено изучению механизмов развития канцероматоза брюшины и современных подходов в лечении диссеминированного рака желудка, в частности рака желудка с канцероматозом брюшины.

Ключевые слова: рак желудка, диссеминированный рак желудка, рак желудка с канцероматозом брюшины, перитонеальный канцероматоз.

COMBINED TREATMENT OF METASTATIC GASTRIC CANCER

V. A. Markovich, S. A. Tuzikov

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The study is devoted to the study of mechanisms of development of peritoneal carcinomatosis and modern approaches in the treatment of disseminated gastric cancer, in particular gastric cancer with peritoneal carcinomatosis.

Keywords: stomach cancer, disseminated gastric cancer, gastric cancer with peritoneal carcinomatosis, peritoneal carcinomatosis.

Актуальность. Рак желудка с канцероматозом брюшины остается неприступной крепостью для современной лекарственной терапии. Несмотря на применение самых лучших комбинаций в первой линии химиотерапии, большинство больных умирает в течение первого года после постановки диагноза [1]. За последнее десятилетие в Российской Федерации отмечают снижение заболеваемости раком желудка. В общей структуре онкологической заболеваемости рак желудка занимает шестое место (6,2 %) и второе место (10,0 %) в структуре смертности. [2]. При этом в большинстве случаев рак желудка диагностируется на поздних стадиях, когда опухоль является нерезектабельной [3,4].

Данные литературы, а также результаты исследований указывают на тот факт, что канцероматоз брюшины является ключевым фактором, определяющим прогноз заболевания, качество жизни пациента и эффективность проводимой терапии. Изучение анатомических особенностей строения брюшины, функции серозно-лимфатического люка и особенностей развития канцероматоза брюшины представляется актуальным. Перитонеальный канцероматоз представляет собой имплантационное метастазирование злокачественных опухолей из желудочно-кишечного, овариального или мезенхимального источников. Это вторичный процесс и объективно он проявляется канцероматозными узлами различного диаметра на поверхности брюшины. Данный патологический процесс рассматривается как локальный, лечение которого в своем большинстве проводится на основе прямого воздействия на брюшинные патологические очаги (перитонэктомия, внутрибрюшинная гипертермическая химиоперфузия) [5, 6].

Материал и методы. Проводится морфологическое исследование операционного материала от 27 пациентов больных раком желудка с канцероматозом брюшины и асцитом Gr IV, T3–4N0–3M1. На данный момент проводится набор группы пациентов и материала для исследования. Обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета программ «Statistica 10.0».

Результаты и обсуждение. Исследование гистотипа опухоли показало, что в большинстве случаев среди больных раком желудка с канцероматозом брюшины и асцитом встречается низкодифференцированная аденокарцинома (44,4 %; $p=0,02$), перстневидноклеточный рак (37,03 %; $p=0,005$). На момент обращения за помощью у 70 % пациентов опухоль тотально поражает желудок и выходит на абдоминальный отдел пищевода. Остальные 30 % имеют субтотальное поражение. Преимущественно опухоль поражает проксимальные отделы желудка (80 %). В связи с этим у пациентов развивается дисфагия различной степени тяжести, нутритивная недостаточность, часто кахексия. На момент обращения ECOG-статус у большинства пациентов 1–3, что несколько затрудняет проведение какого-либо специализированного лечения (химиотерапия, паллиативное оперативное). Индекс канцероматоза у большинства пациентов варьирует от 15–19 до 39 (максимальное значение данного показателя). Не все пациенты могут получать химиотерапию в необходимом объеме. Все вышеперечисленное свидетельствует о том, что данная категория пациентов является прогностически неблагоприятной и требует особого внимания и подхода в лечении.

Выводы. Результаты исследования вновь показывают, что рак желудка с канцероматозом брюшины является серьезной проблемой для онкологов. Несмотря на тенденцию к снижению заболеваемости, рак желудка остается одной из ведущих причин смертности населения от онкологических заболеваний. Отсутствие успехов в терапии диссеминированного рака желудка обусловлено преобладанием низкодифференцированной аденокарциномы и перстневидноклеточного рака, которые плохо поддаются химиотерапии и являются прогностически неблагоприятными факторами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тюлядин С.А. «Новая старая» комбинация для проведения первой линии химиотерапии больным метастатическим раком желудка. Российское общество клинической онкологии. RosOncoWeb. [Интернет]. URL: <https://rosoncoweb.ru>. (дата обращения: 01.05.2018).
2. Zhang P., Hu P., Shen H., Yu J., Liu Q., Du J. Prognostic role of Twist or Snail in various carcinomas: a systematic review and meta-analysis. Eur. J. Clin. Invest. 2014; 44(11): 1072–94.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2018. 250.
4. Гарин А.М., Базин И.С., Нариманов М.Н. Обзор возможностей химиотерапии рака желудка. Русский мед. журнал. 2001; 9(22): 2001. 989–991.
5. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2006 г. Вестник Российского онкологического научного центра имени Н. Н. Блохина РАМН. 2008; 2(19).
6. Ганцев Ш.Х. Перитонеальный канцероматоз – новый взгляд на проблему Креативная онкология и хирургия. 2013; 1 [Электронный ресурс]. URL: <http://eoncolog.com/prezentatsiiperiton> (дата обращения: 26.11.2013).

КОРРИГИРУЮЩИЙ ЛИПОФИЛИНГ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОГО И КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ. ОПЫТ МНИОИ ИМ. П.А. ГЕРЦЕНА

А.А. Масри, А.С. Сухотько, И.С. Дуадзе, Н.В. Евтягина

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия

Аннотация

Злокачественные опухоли молочных желез являются причиной инвалидности, обусловленной отсутствием молочной железы или наличием операционных дефектов. В большинстве случаев от качества выполненной операции зависит дальнейшая социально активная позиция пациенток. В арсенале отделения онкологии и реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи МНИОИ им. П.А. Герцена имеется опыт выполнения различных вариантов одномоментных и отсроченных реконструктивно-пластических операций при раке молочной железы (РМЖ). Безупречно выполненная с онкологических позиций операция не является гарантией полного психологического удовлетворения пациентки. Также хорошо выполненная реконструктивно-пластическая операции в результате может иметь косметические дефекты, коррекцию которых невозможно осуществить в один или два этапа (например, небольшая асимметрия молочных желез или дефекты наполнения верхнего или нижнего склонов молочной железы), что может негативно сказываться на качестве жизни пациенток. Качество жизни является не менее важным элементом лечения. Потеря молочной железы – символа женственности – становится сильным эмоциональным потрясением, а дефект после выполненной операции является постоянным напоминанием о страшном диагнозе. Даже небольшой операционный дефект может отражаться на психологическом состоянии пациентки.

Ключевые слова: реконструктивно-пластическая хирургия, реконструкция молочной железы, липофилинг, липографтинг, рак молочной железы, качество жизни.

CORRECTIVE LIPOFILLING IN BREAST CANCER PATIENTS AFTER COMBINED AND COMPLEX TREATMENT. THE EXPERIENCE OF THE MORI

A.A. Masri, A.S. Sukhotko, I.S. Duadze, N.V. Evtyagina

Moscow Research Institute of Oncology P.A. Herzen Branch of FGBU «NMI of radiology» of Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Аннотация

Malignant tumors of the breast are the cause of the disability caused by the absence of glands or presence of breast operating defects. In most cases, the quality of the operation depends on the further social and active patients position. The Department of Oncology and reconstructive plastic surgery of breast and skin P. Herzen MORI has experience in different variants of simultaneous and delayed reconstructive plastic surgery for breast cancer (BC). Perfectly performed operation with cancer position is not a guarantee for complete patient's psychological satisfaction. The result of perfectly performed reconstructive plastic surgery may have a cosmetic defect, which correction cannot be done in one or two stages (for example, a small asymmetry of the breasts or filling defects of the upper or the lower slopes of the breast) that could adversely affect the quality of life of patients. For the period from February 2015 to September 2017, 81 procedures were performed for 60 patients. In 59 cases, corrective lipofilling was performed at stage of replacement of the tissue expander of the silicone endoprosthesis and at the final stage of the reconstruction. Quality of life is important same as the element of. The breast is a symbol of femininity and a loss of the breast can lead to emotional shock and the defect after the operation reminds of terrible diagnosis. Even a small surgical defect may affect the psychological state of the patient.

Keywords: reconstructive and plastic surgery, breast reconstruction, lipofilling, lipografting, breast cancer, quality of life.

Актуальность. История трансплантации жировой ткани (липофилинга) насчитывает более чем 100 лет [1–3]. Однако широкому внедрению метода препятствовало большое количество осложнений, связанных, в первую очередь, с некрозом пересаженной ткани из-за слабой неоваскуляризации трансплантата. Причинами этого считали травмирующую технику извлечения жировой ткани, ее фильтрации и хранения, а также введение в реципиентные зоны [4]. За последние 15–20 лет появились новые усовершенствованные аппараты для липоаспирации, обеспечивающие большую сохранность жировых клеток, – водоструйные, вакуумные, шприцевые липографтеры с закрытой системой для сбора и обработки жира. Накопленный опыт и совершенствование технического сопровождения позволили минимизировать распространенные ранее осложнения при пересадке жировой ткани [5]. Поэтому

многие авторы считают аутожировую ткань, используемую при пересадке, близким к идеальному материалу для увеличения объема мягких тканей [6–8]. Сегодня липофилинг активно применяют для коррекции формы молочных желез как самостоятельно, так и в комбинации с силиконовыми имплантатами при аугментационной маммопластике [9]. Американская ассоциация пластических хирургов считает, что липофилинг как метод увеличения груди достаточно безопасен, хотя имеется вероятность возникновения побочных эффектов. Его единственный недостаток в том, что объем аутожирового трансплантата часто постепенно уменьшается, что приводит к необходимости повторения процедуры липофилинга [10].

Материал и методы. В отделении онкологии и реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи МНИОИ им. П.А. Герцена с февраля 2015 года по июль 2017 года с помощью шприцевого и аппаратного методов была выполнена суммарно 81 процедура липофилинга 60 пациенткам. Липофилинг выполнялся на первом этапе отсроченной реконструкции у 18 пациенток (30 %), на этапе замены тканевого экспандера на силиконовый эндопротез у 18 пациенток (30 %) и как корригирующий метод на заключительном этапе реконструкции у 24 пациенток (40 %) из 60 (100 %).

Процедура корригирующего липофилинга была выполнена у 42 пациенток (70 %), в 5 случаях (11,9 %) липофилинг был выполнен повторно, а однократное проведение понадобилось в 37 случаях (88,0 %). В 25 (55,5 %) случаях липосакция была выполнена аппаратным методом, а в 20 (44,4 %) – шприцевым методом, без учета однократного и повторного введения.

Возраст пациенток колебался от 20 до 61 года, в среднем составив 42,6 года. Все пациентки прошли комбинированное/комплексное лечение по поводу рака молочной железы 0 стадии – 5 пациенток (8,3 %), I стадии – 18 пациенток (30 %), IIА стадии – 14 пациенток (23,3 %), IIВ стадии – 12 пациенток (20 %), IIIА стадии – 5 пациенток (8,3 %), IIIВ стадии – 1 пациентка (1,6 %), IIIС стадии – 2 пациентки (3,3 %), IV стадии – 2 пациентки (3,3 %). Все пациентки на момент исследования находились в состоянии стойкой ремиссии на протяжении от 1 года до 10 лет. Средний срок наблюдения составил 16,94 мес (временной диапазон от 2 мес до 34 мес). Оценка приживаемости аутожирового трансплантата производилась с помощью ультразвукового метода исследования и визуального.

Объем введенного аутожира при корригирующем липофиллинге в среднем составил при однократном введении 135,59 мл, при повторном введении – 163 мл (в диапазоне от 20 мл до 400 мл при однократном введении и от 20 мл до 420 мл при повторном введении).

Результаты и обсуждение. Большинство пациенток удовлетворены полученными результатами. Симметрия молочных желез достигнута у 41 (68,3 %) пациентки при корригирующем липофиллинге из общего числа всех пациенток. От необходимых повторных процедур липофилинга отказались 4 пациентки (6,6 %). Средняя приживаемость аутожирового трансплантата по результатам УЗИ по расчетным данным девяти стандартных точек на передней грудной стенке оценивался на 1-е сут, через 14 дней, 1, 2, 3 мес после выполненного липофилинга. Контрольная оценка выполнялась через 4 мес, и средняя приживаемость аутожирового трансплантата составляет 76,50 %

Выводы. Липофилинг приводит к улучшению косметических результатов после реконструктивно-пластических операций по поводу РМЖ за счет нормализации объемного соотношения тканей, коррекции симметрии молочных желез.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Lexer Erich.* Die Freien Transplantation, 1. Teil Mit 411 Teils Farbigen Textabbildungen. Neue Deutsche Chirurgie 26. Band Hardcover. January 1, 1919
2. *Lyndon A. Peer, M.D.* Transplantation of tissues. 1955. 1.
3. *Haiken E.* Venus envy: A history of cosmetic surgery. The New York Times on the Web, 1997.
4. *Chirappapha P., Rietjens M., De Lorenzi F., Andrea M., Hamza A., Petit J.-Y., Garusi C., Martella S., Barbieri B., Gottardi A.* Evaluation of Lipofilling Safety in Elderly Patients with Breast Cancer. *Plast Reconstr Surg Glob Open* 2015; 3: e441.
5. *Kim T.* Liposuction – Then and Now [Интернет]. URL: <http://www.triblocal.com> (дата обращения 07.05.15).
6. *Кочнева И.С.* Эволюция липофилинга. От восстановления объема мягких тканей к регенеративной медицине [Интернет]. URL: <http://www.abriel.ru>. (дата обращения 07.05.15).
7. *Birrell M., Novack B.H.* Autologous fat transplantation employing liposuction techniques. *Ann Plast Surg* 1987; 18: 3279.
8. *Roger K. Khouri M.D., Gino Rigotti M.D.* Tissue-Engineered Breast Reconstruction with Brava-Assisted Fat Grafting: A 7-Year, 488-Patient, Multicenter Experience. *PRSJournal*. Sept. 9, 2014; 643658.
9. *Зикирходжаев А.Д., Волченко А.А., Ермошеникова М.В., Сухотыко А.С.* Алгоритм выбора реконструктивно-пластических операций у больных раком молочной железы. *Поволжский онкологический вестник*. 2015; 3.
10. *Rigotti G., Marchi A., Galie M., Baroni G., Bnati D., Krampera M., Pasini A., Sbarbati A.* Clinical Treatment of Radiotherapy Tissue Damage by Lipoaspirate Transplant: A Healing Process Mediated by Adipose-Derived Adult Stem Cells. *Plastic and Reconstr Surg*, 2007; 119(issue 5): 1409–1422.

РОЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРА В ИНАКТИВАЦИИ ГЕНА ALDH1L1 ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Н.В. Мельникова, А.А. Дмитриев

ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, г. Москва, Россия

Аннотация

Гиперметилирование промоторных CpG-островков является наиболее известным эпигенетическим фактором, ответственным за подавление экспрессии генов при канцерогенезе. Однако механизм инициации и распространения метилирования в промоторную область гена до сих пор не выявлен. Кроме того, на сегодняшний день нет четкого понимания, как эта эпигенетическая метка запускает процесс регуляции экспрессии гена. В данной работе с использованием базы данных The Cancer Genome Atlas (TCGA) мы проанализировали связь между профилем CpG-метилирования промоторной области гена ALDH1L1 и уровнем его мРНК в образцах рака молочной железы различных клинических стадий. Экспрессия гена ALDH1L1 оказалась подавленной в разной степени в большинстве образцов. CpG-сайты промотора гена ALDH1L1 были ранжированы по изменению уровня метилирования и по степени его корреляции с подавлением экспрессии гена. CpG-сайты с максимальным изменением уровня метилирования при раке молочной железы обнаружены в нетранскрибируемой области промотора и в первом экзоне. В то же время CpG-сайты, гиперметилирование которых коррелировало с инактивацией ALDH1L1, расположены в компактной области, принадлежащей первому интрону гена. Эти данные свидетельствуют о динамической природе метилирования промоторов, что может являться одним из факторов гетерогенности злокачественных опухолей.

Ключевые слова: ALDH1L1, метилирование ДНК, TCGA, рак молочной железы.

THE ROLE OF PROMOTOR METHYLATION IN ACTIVATION OF ALDH1L1 GENE IN BREAST CANCER

N.V. Melnikova, A.A. Dmitriev

Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Abstract

Hypermethylation of promoter CpG islands is the well-known epigenetic factor responsible for suppression of genes in carcinogenesis. However, the mechanism of initiation and evolution of methylation in promoter regions of genes is not discern. In addition, there is no clear understanding of how this epigenetic label triggers the gene regulation process. In this work, we used The Cancer Genome Atlas (TCGA) data to analyze the relationship between the CpG methylation profile of promoter region of ALDH1L1 gene and its mRNA level in breast cancer samples of different clinical stages. The expression of ALDH1L1 gene was suppressed to varying degrees in most of the samples. The CpG sites from promoter of ALDH1L1 gene were ranked by the degree of methylation level alterations and its correlation with suppression of the gene. CpG sites with the highest alterations of methylation level in breast cancer were found in untranscribed region of the promoter and in the first exon. At the same time, CpG sites which hypermethylation correlated with the ALDH1L1 inactivation were located in a compact region belonging to the first intron of the gene. These data indicate the dynamic nature of methylation of promoters that may be one of the factors which cause tumor heterogeneity.

Keywords: ALDH1L1, DNA methylation, TCGA, breast cancer.

Актуальность. Перерождение нормальной клетки в опухолевую сопровождается изменением экспрессии множества генов [1]. Экспрессия конкретного гена может как активироваться, так и подавляться в зависимости от вида рака, гистологического подтипа, стадии развития опухоли. Однако существуют гены, экспрессия которых снижается в большинстве опухолей. Можно предположить, что инактивация или подавление таких генов устраняет отрицательную регуляцию клеточного роста и способствует аномальной пролиферации опухолевых клеток. Подавление экспрессии генов может быть обусловлено несколькими причинами, в том числе отрицательной регуляцией микроРНК, супрессией транскрипцион-

ными факторами, а также эпигенетической регуляцией. ALDH1L1 (альдегиддегидрогеназа 1) является примером гена, экспрессия которого значительно снижается во многих видах рака, включая рак печени, карциному почки, аденокарциному легкого [2–4]. В данной работе мы показываем, что экспрессия ALDH1L1 подавлена и при раке молочной железы, а одним из ключевых механизмов, ответственных за этот процесс, является гиперметилирование промоторной области гена.

Материал и методы. Проведен анализ базы данных The Cancer Genome Atlas (TCGA, <https://cancergenome.nih.gov/>) для идентификации изменений в экспрессии и профилях метилирования гена ALDH1L1 в образцах рака молочной железы. Поиск по базе TCGA выявил данные об уровнях метилирования ДНК (Illumina Infinium HumanMethylation450K BeadChip) и экспрессии генов (Illumina HiSeq 2000/2500) для 786 опухолевых и 84 гистологически нормальных образцов молочной железы. Эти данные и разработанное нами программное приложение CrossHub [5] использованы для оценки профиля метилирования промотора ALDH1L1 и поиска корреляций между экспрессией и уровнем метилирования CpG-сайтов гена.

Результаты. Согласно данным базы TCGA, экспрессия гена ALDH1L1 в среднем значительно снижена в опухолях молочной железы по сравнению с гистологически нормальной тканью. Чтобы определить возможные причины такого повсеместного подавления ALDH1L1 при раке, мы применили недавно разработанное нами программное приложение CrossHub [5]. CrossHub прогнозирует вклад генетических и эпигенетических механизмов в контроль экспрессии генов путем сбора и анализа данных, доступных из баз TCGA, ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements) и ряда других ресурсов. Биоинформатический анализ указал на доминирующую роль метилирования CpG-сайтов в регуляции экспрессии ALDH1L1 при раке молочной железы. Промоторная область гена содержит 14 CpG-сайтов, которые включены в платформу Infinium HumanMethylation450K BeadChip. Будучи практически неметилированными в образцах гистологически нормальных тканей, 14 CpG-сайтов проявляли различную степень метилирования в опухолях. Несколько CpG-сайтов, которые расположены на краях промоторной области, показали частичное метилирование в образцах нормальных тканей и увеличение уровня метилирования в образцах опухолей. Это более интенсивное метилирование на границах области промотора соответствует гипотезе постепенного распространения метилирования из окружающих геномных областей в центр промотора [6]. Согласно анализу с применением CrossHub, 4 CpG-сайта (cg01566526, cg07034362, cg11022432, cg16771578) проявили наиболее высокую частоту и степень гиперметилирования в образцах рака молочной железы. В то же время высокий уровень метилирования CpG-сайта не обязательно приводил к сильной отрицательной корреляции между гиперметилированием этого сайта и относительным уровнем экспрессии гена ALDH1L1. Напротив, статистически значимая корреляция этого типа показана для CpG-сайтов первого интрона гена ALDH1L1 ($p=0.02$).

Выводы. Наши результаты демонстрируют преобладающую роль гиперметилирования CpG-сайтов промотора ALDH1L1 в подавлении экспрессии гена при раке молочной железы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 17-74-20064

ЛИТЕРАТУРА

1. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer. Cell. 2000; 100: 57–70. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.
2. Oleinik N.V., Krupenko N.I., Krupenko S.A. Epigenetic Silencing of ALDH1L1, a Metabolic Regulator of Cellular Proliferation, in Cancers. Genes & Cancer. 2011; 2: 130–9. doi: 10.1177/1947601911405841.
3. Chen X.Q., He J.R., Wang H.Y. Decreased expression of ALDH1L1 is associated with a poor prognosis in hepatocellular carcinoma. Medical Oncology. 2012; 29: 1843–9. doi: 10.1007/s12032-011-0075-x.
4. Dmitriev A.A., Rudenko E.E., Kudryavtseva A.V., Krasnov G.S., Gordiyuk V.V., Melnikova N.V., Stakhovsky E.O., Kononenko O.A., Pavlova L.S., Kondratieva T.T., Alekseev B.Y., Braga E.A., Senchenko V.N., Kashuba V.I. Epigenetic alterations of chromosome 3 revealed by NotI-microarrays in clear cell renal cell carcinoma. BioMed Research International. 2014;2014:735292. doi: 10.1155/2014/735292.
5. Krasnov G.S., Dmitriev A.A., Melnikova N.V., Zaretsky A.R., Nasedkina T.V., Zasedatelev A.S., Senchenko V.N., Kudryavtseva A.V. CrossHub: a tool for multi-way analysis of The Cancer Genome Atlas (TCGA) in the context of gene expression regulation mechanisms. Nucleic Acids Research. 2016; 44: e62. doi: 10.1093/nar/gkv1478.
6. Jones P.A., Baylin S.B. The fundamental role of epigenetic events in cancer. Nature Review Genetics. 2002; 3: 415–28. doi: 10.1038/nrg816.

НЕКОТОРЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННОГО РАКА: КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК В СОЧЕТАНИИ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЙ

А.Г. Милакин, Д.О. Каймакчи

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Проблема колоректального рака по-прежнему остается актуальной, данная патология занимает второе место по заболеваемости и смертности во всем мире. Ежегодно в мире регистрируется более 500 тысяч новых случаев колоректального рака. Наряду с увеличением общей онкологической заболеваемости, наблюдается также и увеличение показателя заболеваемости первично-множественными опухолями толстой и прямой кишки, которые в настоящее время составляют 17 % от всех наблюдений первично-множественных злокачественных новообразований и являются одной из наиболее частых локализаций первично-множественных злокачественных опухолей после первично-множественного рака кожи. По данным западных исследований, 18 % всех случаев диагностированных злокачественных опухолей являются раком второй (или более) локализации и занимают первое место в списке причин смертности и заболеваемости пациентов, ранее излеченных от рака первой локализации. Риск возникновения второй локализации рака среди онкологических больных был выше, чем риск возникновения рака среди населения в целом, по данным уже опубликованных мировых исследований. В исследовании онкологов восточных стран выявлено, что у 5 % пациентов, страдающих колоректальным раком, был диагностирован первично-множественный рак, наиболее частыми предшествующими или последующими локализациями были следующие: рак желудка, рак молочной железы, рак мочевого пузыря и гепатоцеллюлярный рак. Прогнозирование появления еще одной злокачественной опухоли и превентивные меры по предотвращению ее развития остаются актуальной проблемой. Достаточно широко описан в литературе феномен первичной множественности при колоректальном раке и раке молочной железы, однако категория больных, у которых колоректальная опухоль сочеталась с очагами злокачественного роста в других органах, изучена, на наш взгляд, недостаточно. Особенности колоректального рака как второго (или более) очага злокачественного роста у одного и того же пациента, несомненно, представляют научный интерес, некоторые характеристики данного явления в нашей клинике за последние 5 лет были проанализированы в этом исследовании.

Ключевые слова: первично-множественный рак, полинеоплазия, колоректальный рак, синхронный рак, метастатический рак, фиброколоноскопия.

SOME CHARACTERISTICS OF MULTIPLE PRIMARY CANCER: COLORECTAL CANCER COMBINED WITH MALIGNANT TUMORS OF VARIOUS LOCALIZATIONS

A.G. Milakin, D.O. Kaymakchi

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

The problem of colorectal cancer is still topical, as this malignancy ranks second in morbidity and mortality worldwide. Registered in the world annually more than 500 thousand new cases of colorectal cancer. Along with an increase in the overall oncological morbidity, there is also an increase in the incidence rate of multiple primary tumors of the colon and rectum which now account for 17 % of all multiple primary cancers and are among most frequent sites of multiple primary tumors after multiple primary tumors of the skin. According to Western studies, 18 % of all diagnosed malignant tumors are second cancers, and they are the number one cause of morbidity and deaths for patients previously cured of primary cancers. The risk of second cancer among cancer patients was higher than the cancer risk in the General population according to data published by the world research. In a study of oncologists Eastern countries revealed that 5 % of the patients suffering from colorectal cancer were diagnosed with multiple primary cancer, the most common previous or subsequent localizations were as follows: stomach cancer, breast cancer, bladder cancer and hepatocellular cancer. Predicting and preventing the development

of another tumor remains an actual problem. Multiple primary colorectal and breast tumors are well described; however, in our opinion, combined colorectal cancer and tumors of other sites are poorly studied. Without doubt, characteristics of colorectal cancer as a second and subsequent cancer in one patient are of scientific interest; this study analyzed clinical characteristics of the phenomenon in our clinic over the last 5 years.

Keywords: multiple primary cancer, polyneoplasia, colorectal cancer, synchronous cancer, metachronous cancer, fibrocolonoscopy.

Ежегодно в мире регистрируется более 500 тыс. новых случаев колоректального рака. Колоректальный рак занимает второе место по заболеваемости и смертности во всем мире. Наряду с увеличением общей онкологической заболеваемости наблюдается также и увеличение показателя заболеваемости первично-множественными опухолями толстой и прямой кишки, которые в настоящее время составляют 17 % от всех наблюдений первично-множественных злокачественных новообразований и являются одной из наиболее частых локализаций первично-множественных злокачественных опухолей после первично-множественного рака кожи [1, 2]. Достаточно широко изучен и описан в литературе феномен первичной множественности при колоректальном раке [3] и раке молочной железы. В США 18 % всех случаев диагностированных злокачественных опухолей являются раком второй (или более) локализации и занимают первое место в списке причин смертности и заболеваемости пациентов, ранее излеченных от рака первой локализации. [4]. Риск возникновения второй локализации рака среди онкологических больных был выше, чем риск возникновения рака среди населения в целом, по данными уже опубликованных мировых исследований [5–8]. В исследовании тайваньских онкологов выявлено, что у 5,3 % пациентов, страдающих колоректальным раком, был диагностирован первично-множественный рак, наиболее частыми предшествующими или последующими локализациями были следующие: рак желудка, рак молочной железы, рак мочевого пузыря и гепатоцеллюлярный рак [9]. Особенности колоректального рака как второго (или более) очага злокачественного роста у одного и того же пациента, несомненно, представляют научный интерес, клинические особенности данного явления были проанализированы в этом исследовании.

Проведен ретроспективный анализ данных 2497 больных колоректальным раком T1–4N0–2M0–1, подвергшихся оперативному лечению в отделении абдоминальной онкологии клиники ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ (Ростов-на-Дону, Россия) за последние 5 лет, случаи первично-множественного рака составили 6,01 % (150 пациентов), которые и послужили объектом исследования. Средний возраст пациентов был 62,86 года. Преобладали мужчины (62,75 %, 32 больных) среднего возраста 63,19 года. Женщины составили 37,25 % (19 больных), средний возраст их был 62,53 года. Проведен анализ клинических особенностей данных опухолей. Статистическая обработка данных произведена при помощи программ Microsoft Excel 2014 и STATISTICA 8.0. Оценку различий проводили с использованием χ^2 -критерия, для уровня статистической значимости $p < 0,05$.

В структуре проанализированных клинических случаев колоректальная опухоль не являлась единственным очагом злокачественного роста и выявлена либо синхронно с другим очагом, либо в тех случаях, когда пациент уже получил лечение по поводу другого злокачественного новообразования. При этом метастазирование первого очага в толстую и прямую кишку исключено, что подтверждено гистологическим исследованием операционного материала.

Большинство рассмотренных случаев (53,33 %) представлены первично-множественным колоректальным раком с локализацией опухолей только в толстой и прямой кишке (рис. 1).



Рис. 1 Синхронный рак прямой и сигмовидной кишки. Фотография удаленного препарата

В этой группе преобладал синхронный рак (63,75 %) с локализацией опухоли в сигмовидной и прямой кишке (35,3 %), причем наибольшая частота встречаемости синхронного колоректального рака данной локализации описана и в зарубежных публикациях [6]. Изолированное возникновение полинеоплазий одного отдела кишки чаще встречалось в сигмовидной кишке (11,76 %), реже всего синхронные опухоли располагались в нисходящей ободочной кишке (1,96 %) (табл. 1). Часть опухолей второй и более локализации в данной категории больных выявлена интраоперационно в связи с наличием стенозирующей опухоли дистальных отделов препятствующей прохождению эндоскопа и полноценной ревизии всей толстой кишки. Удаление опухолей произведено одновременно, в том числе с применением лапароскопических и мини-инвазивных методик [1].

Таблица 1

Локализация синхронных опухолей в толстой и прямой кишке

Локализация опухоли	Женщины (n=19)	Мужчины (n=32)	Всего (n=51)
Прямая кишка + сигмовидная кишка	8 (42,1 %)*	10 (31,25 %)*	18 (35,3 %)*
Прямая кишка + левая половина ободочной кишки	1 (5,25 %)	3 (9,37 %)	4 (7,84 %)
Сигмовидная кишка	0	6 (18,74 %)	6 (11,76 %)
Прямая кишка + правая половина ободочной кишки	2 (10,53 %)	1 (3,13 %)	3 (5,88 %)
Сигмовидная + правая половина ободочной кишки	1 (5,25 %)	4 (12,5 %)	5 (9,8 %)
Правая половина ободочной кишки	2 (10,53 %)	3 (9,37 %)	5 (9,8 %)
Прямая кишка + поперечно-ободочная кишка	1 (5,25 %)	1 (3,13 %)	2 (3,92 %)
Нисходящая ободочная кишка	0	1 (3,13 %)	1 (1,96 %)
Прямая кишка	0	2 (6,25 %)	2 (3,92 %)
Сигмовидная + нисходящая ободочная кишка	2 (10,53 %)	1 (3,13 %)	3 (5,88 %)
Правая + левая половина ободочной кишки	2 (10,53 %)	0	2 (3,92 %)

Примечание: * различия между подгруппами достоверны ($p < 0,05$).

При метакронном раке интервал между первой и последующей колоректальной опухолью у женщин был в 2 раза больше, чем у мужчин (8,31 и 4,46 года соответственно). Метакронные опухоли у женщин преимущественно локализовались в правой половине ободочной кишки (56,25 %) и прямой кишке (50 %). У мужчин – в прямой и сигмовидной кишке (53,85 %). Если колоректальный рак выявлялся одновременно с опухолями других органов, то средний возраст больных (67,08 лет) был на 4,22 года выше, чем при выявлении синхронного колоректального рака, а женщины при выявлении опухолей на 7 лет моложе мужчин. Синхронные колоректальные опухоли у женщин чаще сочетались с раком молочной железы, у мужчин – с раком почки (табл. 2). Метакронная колоректальная опухоль у мужчин выявлялась в среднем через 4,4 года, чаще после лечения рака желудка (55,0 %). У женщин колоректальный рак выявлялся через 5,67 года, преимущественно после лечения опухолей гениталий (79,17 %) (табл. 3). Относительно гистологических характеристик опухоли, по данным нашего наблюдения, в группе первично-множественного колоректального рака преобладают умеренно-дифференцированные аденокарциномы.

Таблица 2

Локализация синхронных колоректальных и опухолей других органов

Локализация опухоли	Женщины (n=13)	Мужчины (n=13)	Всего (n=26)
Колоректальный рак + опухоли гениталий:	8 (61,5%)*	3 (23,1%)	11 (42,3%)
-матка	1		1
-шейка матки	1		1
-яичники	1		1
-молочной железы	5	3	5
-предстательной железы			3
Колоректальный рак + мочевыделительной системы:	3 (23,1%)	7 (53,8%)*	10 (38,46%)
-почка	3	6	9
-мочевой пузырь	0	1	1
Колоректальный рак + рак желудка	2 (15,4%)	1 (7,7%)	3 (11,54%)*
Колоректальный рак + рак легкого	0	1 (7,7%)	1 (3,85%)*
Колоректальный рак + рак корня языка	0	1 (7,7%)	1 (3,85%)*

Примечание: * различия между подгруппами достоверны ($p < 0,05$).

Таблица 3

Локализация метакронных колоректальных опухолей после опухолей других органов

Локализация опухолей	Женщины (n=24)	Мужчины (n=20)	Всего (n=44)
Колоректальный рак + опухоли гениталий:	19 (79,23%)*	5 (25,0%)	24 (54,54%)*
-матка	6		6
-шейка матки	4		4
-яичники	3		3
-молочной железы	6		6
-предстательной железы		4	4
-яичко		1	1
Колоректальный рак + мочевыделительной системы:	2 (8,3%)	3 (15,0%)	5 (11,36%)
-почка	1	2	3
-мочевой пузырь	1	1	2
Колоректальный рак + рак желудка	2 (8,3%)	11 (55,0%)*	13 (29,54%)*
Колоректальный рак + рак гортани	0	1 (5,0%)	1 (2,27%)
Колоректальный рак + рак Фатерова соска	1 (4,17%)	0	1 (2,27%)

Примечание: * различия между подгруппами достоверны ($p < 0,05$).

Большинство опухолей являлись местнораспространенными, без отдаленных метастазов. Преобладание при первично-множественном колоректальном раке, сочетающемся с опухолями других органов, регионарных метастазов, возможно, свидетельствует о его более агрессивном типе течения по сравнению с другими видами первично-множественных колоректальных опухолей.

Выявленные особенности колоректального рака при первично-множественных злокачественных опухолях могут быть использованы в алгоритмах как первичной диагностики, так и наблюдения пациентов, уже имеющих диагноз злокачественного новообразования.

Важная роль отводится выполнению фиброколоноскопии с тотальным осмотром всей толстой кишки, особенно в тех случаях, когда первая колоректальная опухоль препятствовала полноценной ревизии. Также целесообразно рассмотреть вопрос о выполнении данной процедуры и у пациентов, уже получивших лечение по поводу рака других локализаций (в особенности по поводу рака желудка, мочевыделительной и репродуктивной системы), в комплексе с анализом крови на уровень онкомаркера РЭА. Выполнение контрольной фиброколоноскопии остается актуальным и по истечении 5-летнего срока наблюдения после операции по поводу колоректального рака, в особенности у женщин, что подтверждается данными нашего исследования. Предполагается, что данный подход будет способствовать выявлению колоректальных опухолей второй и более локализации на ранних стадиях, что увеличивает возможность использования мини-инвазивных методов лечения [1, 10], и при использовании мультидисциплинарного подхода к лечению существенно улучшит прогноз заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кит О.И., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Харгазов Д.А., Колесников В.Е., Милакин А.Г. Первично-множественный колоректальный рак: возможности миниинвазивных оперативных вмешательств. Колопроктология. 2017; 1(59): 38–42.
2. Солдаткина Н.В., Кит О.И., Геворкян Ю.А., Милакин А.Г. Первично-множественный колоректальный рак: клинические аспекты. Терапевтический архив. 2016; 88(8): 53–58.
3. Кит О.И., Франциянц Е.М., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Даишов А.В., Харгазов Д.А., Никителова Е.А. Особенности содержания каталазы и раково-эмбрионального антигена и возможность прогнозирования развития первично-множественного рака толстой кишки. Колопроктология. 2014; S3: 66–67.
4. Oeffinger K.C., Baxi S.S., Novetsky Friedman D., Moskowitz C.S. Solid tumor second primary neoplasms: who is at risks, what can we do? Semin Oncol. 2013 December; 40(6): 676–689.
5. Tabuchi T., Ito Y., Ioka A., Miyashiro I., Tsukuma H. Incidence of metachronous second primary cancers in Osaka, Japan: update of analyses using population-based cancer registry data. Cancer Sci. 2012; 103: 1111–20.
6. Lam A.K., Chan S.S., Leung M. Synchronous colorectal cancer: clinical, pathological and molecular implications. World J Gastroenterol. 2014 Jun 14; 20(22): 6815–20. doi: 10.3748/wjg.v20.i22.6815.
7. Curtis R.E., Boice J.D., Jr, Kleinerman R.A., Flannery J.T., Fraumeni J.F.Jr. Summary: multiple primary cancers in Connecticut, 1935–82. Natl Cancer Inst Monogr. 1985; 68: 219–42.
8. Crocetti E., Buiatti E., Falini P. Italian Multiple Primary Cancer Working Group. Multiple primary cancer incidence in Italy. Eur J Cancer. 2001; 37: 2449–56.
9. Sun L.C., Tai Y.Y., Liao S.M., Lin T.Y., Shih Y.L., Chang S.F., Wang J.Y. Clinical characteristics of second primary cancer in colorectal cancer patients: the impact of colorectal cancer or other second cancer occurring first. World J Surg Oncol. 2014; 12: 73.
10. Даишов А.В., Франциянц Е.М., Черярина Н.Д., Солдаткина Н.В., Ткаля Л.Д. Возможности прогнозирования возникновения первично-множественного рака молочной железы. Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. 2004; S3: 56–58.

ВЕЛИЧИНА МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ КАК КРИТЕРИЙ ОТВЕТА НА ЛЕЧЕНИЕ, ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОГНОЗА В-КЛЕТОЧНОГО ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА/НЕХОДЖКИНСКОЙ ЛИМФОМЫ

Т.Ю. Мушкарина, Е.Г. Кузьмина, Т.В. Константинова, В.В. Павлов,
С.В. Шахтарина

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Россия

Аннотация

Обследованы 28 больных В-ХЛЛ и НХЛ с генерализацией процесса до начала терапии. Клональная пролиферация в крови составила 62 %. 10 больным после 1–3 циклов полихимиотерапии проведена оценка чувствительности опухолевых клеток к лечению по величине минимальной остаточной болезни (МОБ). Полный иммунофенотипический ответ отмечен у 5 из 10 (50 %) пациентов (МОБ меньше 0,0006 %). После завершения лечения (6–8 циклов) обследованы 20 человек. У 12 из них при клинически полном ответе полная элиминация опухолевого клона наблюдалась у 10 пациентов (83,3 %), у двух пациентов МОБ присутствовала в объеме 0,1–0,44 % (16,7 %). У 8 пациентов с клинически неполным ответом более высокая величина МОБ коррелировала с химиорезистентностью, рецидивом и прогрессированием болезни: aberrantные клетки составляли от 0,3 до 12 %. При контрольных обследованиях 5 пациентов через 3–6 и 12–16 мес после завершения лечения низкий уровень МОБ повысился и в 2 случаях связан с клиническими проявлениями возврата болезни.

Ключевые слова: минимальная остаточная болезнь, проточная цитометрия, В-ХЛЛ/ НХЛ.

MINIMAL RESIDUAL DISEASE AS A CRITERION OF RESPONSE TO TREATMENT, EFFICACY OF TREATMENT AND PROGNOSIS OF B-CELL CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA/NON-HODGKIN'S LYMPHOMA

T.Yu. Mushkarina, E.G. Kuzmina, T.V. Konstantinova, V.V. Pavlov,
S.V. Shakhtarin

Medical Radiological Research Center. A.F. Tsyba a branch of the federal state budgetary establishment «Scientific Medical Research Center of Radiology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Abstract

28 patients with B-CLL and NHL with generalization of the process were examined before treatment. Clonal proliferation was 62 % in the blood. The minimum residual disease (MRD) was determined after 1-3 cycles of chemotherapy in 10 patients. The *immunophenotypic complete response* was observed in 5 out of 10 (50 %) patients (MRD less than 0.0006 %). 20 people were examined immediately after treatment (6–8 cycles). Complete elimination of the tumor clone was observed in 10 (83.3 %) of 12 of examined patients having a clinically complete response, MRD in two patients was in the amount of 0.1–0.44 % (16.7 %). Incomplete clinical response with higher level of the MRD was observed in 8 patients and correlated with chemoresistance, relapse and disease progression (aberrant lymphocytes ranged from 0.3 to 12 %). 5 patients were examined in 36 and 12–16 month after completion of treatment. The level of MRD was increased in 2 cases and was correlated with clinical manifestations of relapse of the disease.

Keywords: minimal residual diseases, flow cytometry, B-CLL/NHL.

Актуальность. В последние десятилетия объем минимального остаточного уровня опухолевых клеток, или минимальная резидуальная болезнь (МОБ, MRD, Minimal residual

diseases), признан наиболее важным и решающим молекулярным фактором полноты ответа на лечение и прогноза онкозаболеваний. За МОБ считают популяцию опухолевых клеток, оставшихся в организме после достижения клинико-гематологической ремиссии. МОБ после завершения курса лечения относят к основной причине рецидивов болезни; цель дальнейшей консолидирующей или поддерживающей терапии направлена именно на уничтожение остатков опухолевых клеток [1, 2]. Мишенями определения МОБ являются клоносpezifичные лейкоэмические клетки, характеризующие небольшую опухолевую популяцию на фоне превосходящего числа нормальных форменных элементов крови или костного мозга.

Эрадикация МОБ ассоциируется с более длительной ремиссией. Общеизвестно, что выявление МОБ – наиболее быстрый и простой способ более ранней диагностики рецидива, чем стандартные клинико-лабораторные тесты. Внедрение этого методологического подхода в практическую медицину актуально и своевременно.

Цель исследования – оценить величину МОБ (аберрантных лимфоцитов) в качестве индикатора элиминации биологически активных опухолевых клеток из периферической крови, ПК, при лечении В-хронического лимфолейкоза, В-ХЛЛ и неходжкинской лимфомы, НХЛ, с генерализацией процесса.

Материал и методы. Фенотип клональной популяции при В-ХЛЛ и распространенной форме НХЛ определен с помощью панели моноклональных антител, разработанной и рекомендованной Международной ассоциацией гематологов. Внедрен наиболее чувствительный метод оценки МОБ – 6-цветная проточная цитофлуориметрия, выполняющаяся в соответствии с рекомендациями международного стандартизованного подхода оценки МОБ при В-ХЛЛ [3]. Подобрано сочетание антител, интенсивность экспрессии которых на клетках ХЛЛ и нормальных В-лимфоцитах значительно различается.

Для диагностики остаточного клона клетки ПК инкубировали с моноклональными антителами, МАТ, (CD45, CD43, CD38, CD81, CD5, CD20, CD19, sIgk, sIgλ), с присоединенными флуоресцентными метками (FITC, PE, PerCP, PE-Cy7, APC, APC-Cy7). Пролиферирующий клон детектировали методом проточной цитофлуориметрии на проточном цитометре FACS Sauto II, BD. МОБ представляли фракцией клеток В-ХЛЛ/НХЛ среди всех ядродержащих клеток в образце. Отрицательным результатом определения МОБ считали выявление аберрантных лимфоцитов менее 1 клетки на 10^4 клеток, т.е. порогом обнаружения остаточной популяции аберрантных лимфоцитов считали величину 0,01 %.

Проанализированы данные 28 пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями (диффузная В-крупноклеточная лимфома, зрелоклеточная лимфома, лимфома селезенки, лимфома зоны мантии с генерализацией процесса, В-ХЛЛ). 63 образца ПК исследованы до лечения (28 исследований), после 1–3 циклов (10 наблюдений), 6–8 циклов (20 исследований) химиотерапии, ПХТ, и через 3–16 месяцев после завершения лечения (5 исследований). Для статистического анализа использован непараметрический критерий Манна – Уитни.

Результаты. Исходно в обследованной группе 28 больных уровень аберрантных В-лимфоцитов в ПК в среднем составил 62 %. После 1–3 циклов ПХТ клон аберрантных клеток снизился более чем в 100 раз. У 10 больных после 1–3 циклов ПХТ проведенная оценка чувствительности опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам выявила, что практически полное удаление опухолевого клона из циркулирующей крови, т.е. полный иммунофенотипический ответ, наблюдался у 5 из 10 (50 %) пациентов (МОБ составляла меньше 0,0006 %). После завершения терапии (6–8 циклов ПХТ) в группе из 12 пациентов с достигнутым клиническим полным ответом полная элиминация опухолевого клона достигнута у 10 из 12 обследованных пациентов (83,3 %), у двух пациентов (16,7 %) МОБ присутствовала в объеме 0,1–0,44 %. У 8 пациентов с неполным ответом после завершения лечения выявлена более высокая МОБ: аберрантные лимфоциты составляли от 0,3 до 12 %, что было сопряжено с химиорезистентностью, рецидивом и прогрессированием болезни. При контрольных обследованиях 5 пациентов через 3–6 и 12–16 мес после завершения лечения низкий уровень МОБ повысился и в 2 случаях обусловлен клиническими проявлениями возврата болезни.

Выводы. Изучена динамика одного из независимых признаков ответа на терапию – величины МОБ на этапах лечения В-ХЛЛ и НХЛ с генерализацией процесса. По тесту эффективности элиминации аберрантных лимфоцитов из периферической крови после 1–3 циклов ПХТ выявляется как хорошо выраженный ответ на терапию, так и резистентность к проводимому лечению. Полный ответ может служить указанием для снижения курсов ПХТ, а сохранение высокого числа опухолевых клеток в циркуляции крови – для замены неэффективных препаратов. Клиническая ремиссия с полным ответом после завершения лечения не полностью совпадает с полной иммунофенотипической ремиссией с отсутстви-

ем МОБ (в 16,7 % выявляется МОБ). Частичный ответ, резистентность к ПХТ, рецидивы и прогрессирование болезни в основном происходили при выявлении МОБ. Таким образом, величина МОБ может быть использована в качестве порогового признака чувствительности аберрантных лимфоцитов к химиопрепаратам, используемого для оценки сроков реализации эффекта лечения и полноты удаления опухолевых клеток. Мониторинг МОБ может составить основу эффективных методов скрининга, ранней диагностики, оценки действенности лекарственных препаратов, стабильности ремиссии и развития рецидива у конкретного пациента. Исходя из предварительных результатов по сопоставлению МОБ с клинико-инструментальными критериями эффективности лечения В-ХЛЛ/НХЛ обосновывается возможность включения количественной биологической оценки эффективности удаления опухолевых клеток в арсенал методов, контролирующего лечение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Никитин Е.А., Грецов Е.М. Минимальная остаточная болезнь при В-клеточном хроническом лимфолейкозе. Современная онкология, 2006; 8(1): 60–66.
2. Santacruz R., Villamor N., Aymerich M., Martínez-Trillos A., López C., Navarro A., Rozman M., Beà S., Royo C., Cazorla M., Colomer D., Giné E., Pinyol M., Puente X.S., López-Otin C., Campo E., López-Guillermo A., Delgado J. The prognostic impact of minimal residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia requiring first-line therapy. *Haematologica*. 2014 May; 99(5): 873–80.
3. Rawstron A.C., Villamor N., Ritgen M., Böttcher S., Ghia P., Zehnder J.L., Lozanski G., Colomer D., Moreno C., Geuna M., Evans P.A., Natkunam Y., Coutre S.E., Avery E.D., Rassenti L.Z., Kipps T.J., Caligaris-Cappio F., Kneba M., Byrd J.C., Hallek M.J., Montserrat E., Hillmen P. International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia*. 2007 May; 21(5): 956–64.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МУТАЦИОННОГО СТАТУСА ГЕНА EGFR В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО У ПАЦИЕНТОВ ЮГА РОССИИ

Е.П. Омельчук, Л.Ю. Владимирова

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

В исследование было включено 14 пациентов, преимущественно русских, с диагнозом аденокарцинома легких. Выделение цодНК из плазмы крови было проведено согласно протоколу производителя (DNA Sample Preparation Kit, Cobas, USA). У 28,6 % пациентов были обнаружены мутации в гене EGFR, причем в большинстве случаев у русских некурящих мужчин, получавших терапию ИТК в сочетании с химио- и полихимиотерапией.

Ключевые слова: рак легких, ген EGFR, цодНК.

DETERMINATION EGFR GENE MUTATION STATUS IN PLASMA IN PATIENTS WITH THE DIAGNOSIS LUNG CANCER

E.P. Omelchuk, L.U. Vladimirova

Rostov research institute of oncology (RRIO), Russian Federation, Rostov region, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation testing in tumor tissue is now a common practice in selecting non-small cell lung cancer (NSCLC) patients for EGFR tyrosine kinase inhibitor (TKI) treatment. The present study included 14 patients with adenocarcinoma of the lung, mainly Russian. The median age was 66 years. Approximately 15 mL whole blood was obtained for all the patients and the plasma cfDNA was isolated using standard procedure (DNA Sample Preparation Kit, Cobas, USA). The mutant status of the EGFR gene was detected in 28.6 % of cases. Most often mutations were found in Russian non-smoking man who was treated with TKI in combination with chemo- and polychemotherapy.

Keywords: lung cancer, EGFR gene, cfDNA.

Анализ на наличие мутаций в гене рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) в опухолевой ткани в настоящее время является стандартом при выборе пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) для лечения ингибиторами тирозинных киназ (ИТК) [1]. Однако получение опухолевой ткани часто затруднено либо ее количества недостаточно для проведения исследования. В таких случаях альтернативой может послужить циркулирующая опухолевая ДНК (цоДНК) плазмы крови. использование цоДНК облегчает мониторинг лечения в динамике, выявление рецидивов и устойчивости к ИТК [2].

В настоящее исследование было включено 14 пациентов: 6 (42,9 %) мужчин и 8 женщин (57,1 %), с диагнозом «аденокарцинома легкого» (78,6 %), преимущественно русских (57,1 %). Остальные 42,9 % составили представители следующих национальностей: чеченцы (14,3 %), азербайджанцы, кабардинцы, калмыки и карачаевцы (по 7,1 % соответственно). Возраст больных варьировал от 28 до 75 лет, медиана возраста составила 66 лет. Из всех пациентов никогда не курили 12 человек, бросил – 1 человек и курящий также 1. Основная масса больных (85,7 %) находилась на IV стадии заболевания, с преимущественным метастатическим поражением легких и грудных лимфоузлов, по одному пациенту на II и III стадии (по 7,1 % соответственно). Венозную кровь пациентов (15 мл) отбирали в вакуумные пробирки со стабилизатором ЭДТА. Для получения плазмы кровь центрифугировали 10 мин при 2000 g, затем плазму отбирали в новую пробирку, добавляли равный объем физраствора с последующим центрифугированием 20 мин при 2000g. Выделение цоДНК проводили набором Cobas cfDNA Sample Preparation Kit, используя 4 мл плазмы на один образец, согласно протоколу производителя. Концентрацию выделенной из образцов ДНК измеряли на флуориметре Qubit 2.0 с использованием набора Quant-iT™ dsDNA High-Sensitivity (HS) Assay Kit (Invitrogen, США). Определение 6 соматических мутаций (G719X, ex19del, L858R, T790M, S768I, ex20ins) гена EGFR осуществляли с использованием набора реагентов EGFR Mutation Test, Cobas (USA) на приборе Cobas Z480. Статистический анализ выполняли с использованием прикладных пакетов программы Microsoft Excel 2010. Различия частот мутантного и дикого типов гена EGFR определяли в группах пациентов, объединенных по полу, возрасту, статусу курения, национальности, локализации первичной опухоли, гистологическому типу опухоли, наличию метастазов, стадии заболевания и типу лечения.

Был проанализирован мутационный статус пациентов в зависимости от пола, возраста, национальности, статуса курения, локализации первичной опухоли, гистологического типа опухоли, стадии заболевания, наличия метастазов и типа лечения. Согласно данным литературы, частота встречаемости мутаций гена EGFR в плазме крови составляет 16 % [3]. В настоящем исследовании у 28,6 % пациентов были обнаружены как активирующие (ex19del, L858R), так и неактивирующие мутации (T790M) гена EGFR. У троих пациентов были выявлены активирующие мутации гена EGFR: две ex19del и одна L858R. У одного пациента были выявлены одновременно две мутации (ex19del и T790M). Мутации L861Q, G719X, S768I и инсерции в 20 экзоне обнаружены не были, что свидетельствует о низкой частоте встречаемости этих мутаций. Мутантный тип гена EGFR у мужчин был выявлен в 50 % случаев, у женщин – в 12,5 %. Медиана возраста пациентов для дикого типа гена EGFR составила 67 лет, при разбросе от 28 до 75 лет, для мутантного типа – 54 года, при разбросе от 38 до 65 лет. Среди русского населения юга России активирующие (ex19del, L858R) и неактивирующие (T790M) мутации встречались в 62,5 % случаев, также была выявлена ex19del у кабардинца. Среди чеченцев, азербайджанцев, калмыков и карачаевцев мутаций в гене EGFR обнаружено не было. Все выявленные мутации (три ex19del, одна L858R и одна T790M) принадлежали некурящим пациентам. У курящих и бросивших наблюдался дикий тип гена EGFR. Процент выявления мутаций у пациентов с первичной локализацией опухоли в правом легком составил 33,3 %, в левом – 20 %. В 27,3 % случаях наблюдался мутантный тип гена EGFR у больных с аденокарциномой легких. При таких гистологических типах опухоли, как железисто-плоскоклеточный и плоскоклеточный рак легких, мутаций в гене EGFR выявлено не было. В настоящее исследование также был включен один пациент, гистологическая верификация которому не проводилась. У этого пациента была обнаружена мутация ex19del. У пациентов с IV стадией заболевания в 33,3 % случаев была выявлена мутация гена EGFR. На II и III стадиях были определены только дикие типы исследуемого гена. Наличие метастазов также повлияло на характер распределения мутаций среди пациентов. Так, 27,3 % больных с метастазами имели мутантный тип гена EGFR, а без метастазов – 33,3 %. Наконец, от типа лечения зависел статус гена EGFR. У одного пациента, не получавшего лечение, была выявлена ex19del. Пациенты, которым было проведено несколько курсов химио- и полихимиотерапии, не имели мутаций в гене

EGFR. Напротив, у больных, получавших ИТК (гефитиниб или афатиниб) в сочетании с химио- и полихимиотерапией, мутации в гене EGFR были обнаружены в 75 % случаев, из которых у троих пациентов были выявлены три активирующие мутации (две ex19del и одна L858R) и одна неактивирующая мутация (T790M). Причем у одного пациента, прошедшего 6 курсов полихимиотерапии и принимавшего гефитиниб 7 мес, одновременно наблюдались ex19del и T790M. Также был один пациент, прошедший несколько курсов химиотерапии в комбинации с двухгодовым приемом таргетных препаратов, у которого мутаций в гене EGFR обнаружено не было.

В проведенном исследовании была определена частота встречаемости мутаций гена EGFR в плазме крови у пациентов юга России. В 28,6 % случаев был выявлен мутантный статус гена EGFR. Причем чаще всего мутации обнаруживались у русских некурящих мужчин от 38 до 65 лет с аденокарциномой легких, находящихся на IV стадии заболевания и получавших терапию ИТК в совокупности с химио- и полихимиотерапией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yuan J.Q., Zhang Y.L., Li H.T., Mao C. EGFR mutation testing in blood for guiding EGFR tyrosine kinase inhibitor treatment in patients with nonsmall cell lung cancer: A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Feb; 96(7): e6151. doi: 10.1097/MD.00000000000006151.
2. Normanno N., Denis M.G., Thress K.S., Rattcliffe M., Reck M. Guide to detecting epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations in ctDNA of patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Oncotarget*. 2017 Feb; 8(7): 12501–12516. doi: 10.18632/oncotarget.13915.
3. Veldore V.H., Choughule A., Routhu T., Mandloi N., Noronha V., Joshi A., Dutt A., Gupta R., Vedam R., Prabhaskar K. Validation of liquid biopsy: plasma cell-free DNA testing in clinical management of advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer (Auckl)*. 2018 Jan 3; 9: 1–11. doi: 10.2147/LCTT.S147841.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ И РЕЦЕПТОР-ЗАВИСИМЫЙ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ АКТИВАЦИИ АПОПТОЗА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ P19 ПРИ ГИПОКСИИ

Д.С. Орлов, О.Л. Носарева

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия

Аннотация

Опухолевые клетки, выживающие в условиях гипоксии, часто обладают устойчивостью к традиционным методам терапии в силу особенностей метаболизма. Моделирование гипоксии в клеточной культуре позволяет воспроизвести условия недостаточного поступления O_2 в регионы опухоли при её неконтролируемом росте. Изучение роли сигнальных путей в активации апоптоза позволит разработать новые подходы к таргетной терапии опухолей.

Ключевые слова: гипоксия, апоптоз, опухолевый рост.

MITOCHONDRIAL AND RECEPTOR-DEPENDENT SIGNALING PATHWAYS IN APOPTOSIS OF P19 TUMOR CELLS UNDER HYPOXIC CONDITION

D.S. Orlov, O.L. Nosareva

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract

Tumor cells that survive under hypoxic conditions often have resistance to traditional methods of therapy due to metabolic peculiarities. Modeling hypoxia in the cell culture allows us to recreate the conditions of insufficient intake of O_2 in regions of tumors with uncontrolled growth. A study of the role of signaling pathways in the activation of apoptosis makes it possible to develop new approaches for targeted therapy.

Keywords: hypoxia, apoptosis, tumor progression.

Формирование участков гипоксии отмечается в большинстве солидных опухолей, что в значительной степени определяет прогноз заболевания. Было показано, что в условиях значительного снижения концентрации кислорода происходит индукция программированной клеточной гибели. В популяции опухолевых клеток это приводит к селекции клонов с нарушениями путей запуска апоптоза. В настоящее время механизмы апоптоза, индуцированного гипоксией, изучены достаточно подробно, однако их вклад значительно варьирует для опухолевых клеток разных типов, определенное разнообразие вносит также изменение степени гипоксии [1].

В качестве материала исследования были выбраны клетки опухолевой линии P19, культивируемые по адгезионным методом. Моделирование гипоксии осуществляли в камере «HypoxiaIncubatorChamber» («STEMCELL») с помощью газовой смеси (5 % O₂, 5 % CO₂, 90 % N₂). Достижение условий гипоксии в эксперименте контролировалось за счет измерения содержания растворенного кислорода в среде культивирования с помощью прибора «DissolvedOxygenMeter» («HANNA HI 9146»). Экспрессию TNFR1 и Fas, трансмембранный потенциал митохондрий ($\Delta\Psi_m$) и аннексиновый тест оценивали с использованием проточного цитофлуориметра FACSCantoII («BectonDickinson»). Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи программы SPSS 17.0.

Количество вступивших в апоптоз клеток при нормоксии и гипоксии составило 2,65 (2,20–3,40) и 10,75 (4,50–10,90) % соответственно. Несмотря на достоверное увеличение количества клеток, вступивших в апоптоз, основная часть культуры все же оставалась жизнеспособной. Таким образом, при моделировании гипоксии *in vitro* достигается наблюдаемое *in vivo* явление отбора клеток с нарушением активации программированной гибели при прогрессии опухоли [2].

Для оценки митохондриального и рецептор-зависимого сигнальных путей в активацию апоптоза опухолевых клеток линии P19 при гипоксии проводилось измерение трансмембранного потенциала митохондрий и экспрессии рецепторов гибели клеток TNFR1 и Fas. В условиях ограниченного поступления кислорода количество клеток со сниженным значением $\Delta\Psi_m$ увеличивалось в 3,1 раза ($p < 0,05$), что подтверждает ключевую роль митохондриального сигнального пути в реализации апоптоза опухолевых клеток линии P19 при гипоксии. Также в результате проведенного исследования было установлено отсутствие достоверных изменений уровня экспрессии обоих рецепторов клеточной гибели при моделировании гипоксии по сравнению с нормоксией. Таким образом, для данной линии опухолевых клеток не характерно изменение экспрессии TNF-R1 и Fas в ответ на гипоксию.

Поскольку митохондриальный сигнальный путь запуска апоптоза играет ведущую роль при гипоксии, то при опухолевой прогрессии селекция клонов будет направлена на отбор клеток с нарушением внутренних механизмов программированной клеточной гибели. Следовательно, в таких регионах опухоли, которые испытывают недостаток поступления кислорода, клетки могут быть восприимчивы к активации апоптоза по рецепторному пути, что может стать перспективной терапевтической мишенью и должно быть исследовано в дальнейшем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Brahimi-Horn M.C., Chiche J., Pouyssegur J. Hypoxia and cancer. J. Mol. Med. 2007; 85(12): 130–7.
2. Орлов Д.С., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., Шахристова Е.В., Иванов В.В. Редокс-зависимые механизмы дисрегуляции апоптоза опухолевых клеток при гипоксии. Сибирский научный медицинский журнал. 2017; 37(1): 21–26.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ СТОРОЖЕВЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ РАКЕ ЭНДОМЕТРИЯ

М.О. Очиров

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Поражение регионарных лимфатических узлов — один из наиболее неблагоприятных факторов прогноза при раке тела матки, существенно влияющий на тактику лечения больных. **Цель исследования —**

повышение эффективности интраоперационной визуализации сторожевых лимфатических узлов (СЛУ) у больных раком эндометрия 1-й клинической стадии. **Материал и методы.** Проведена детекция сторожевых лимфатических узлов у больных раком эндометрия 1-й клинической стадии, проходивших лечение в условиях гинекологического отделения онкологической клиники «Томского НИМЦ» за период с 2017 по 2018 г., с использованием измерения локальных концентраций радиофармпрепарата, заранее введённого пациенту. **Результаты.** Проведена детекция сторожевых лимфатических узлов с использованием различных методов визуализации у 46 пациентов. Интраоперационная оценка состояния сторожевых лимфатических узлов проводилась с использованием гаммазонда GammaFinder II® у 34 пациентов (75 %) и с использованием системы RadPointer-gamma у 12 пациентов (25 %). **Выводы.** Использование системы RadPointer-gamma позволяет производить интраоперационную оценку состояния сторожевых лимфатических узлов по накоплению в них радиофармпрепарата, что повышает эффективность интраоперационной визуализации сторожевых лимфатических узлов при раке эндометрия.

Ключевые слова: рак эндометрия, сторожевые лимфатические узлы, методы визуализации.

IMPROVING THE EFFICIENCY OF INTRAOPERATIVE VISUALIZATION OF SENTINEL LYMPH NODES IN ENDOMETRIAL CANCER

M.O. Ochirov

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia

Abstract

Regional lymph node involvement is one of most unfavorable prognostic factor in endometrial cancer that greatly influences the treatment strategy of patients. Objective of the study. Improving the effectiveness of intraoperative visualization of sentinel lymph nodes (SLN) in patients with endometrial cancer of the first clinical stage. Materials and Methods. SLN was performed in patients with endometrial cancer of the first clinical stage treated in the gynecological department of the cancer research institute "Tomsk NRMC" for the period from 2017 to 2018, using the measurement of local concentrations of radiopharmaceutical pre-administered to the patient. Results. Carried out the detection of SLN using different imaging methods in 46 patients. Intraoperative assessment of sentinel lymph nodes was carried out with the use of gamma probe Gamma Finder II® in 34 patients (75 %), and with the use of RadPointer-gamma in 12 patients (25 %). Conclusions. Using the RadPointer-gamma allows for intraoperative assessment of sentinel lymph nodes according to the accumulation of radiotracer that allows to increase the effectiveness of intraoperative visualization of sentinel lymph nodes in endometrial cancer.

Keywords: endometrial cancer, sentinel lymph nodes, lymph nodes, imaging technique.

В Российской Федерации рак эндометрия занимает 1-е место в структуре онкогинекологической патологии. Ежегодно регистрируется более 24 тысяч новых случаев заболевания. Стандартизированный показатель – 17,5 на 100 тыс. женского населения. Прирост заболеваемости с 2005 по 2015 г. составил 38,24 % [1]. В 65,6 % случаев выявляется на 1-й клинической стадии процесса, при этом 5-летняя выживаемость составляет 90 %, однако при поражении лимфатических узлов 5-летняя выживаемость не превышает 60 % [2].

Таким образом, состояние регионарных лимфатических узлов является важным прогностическим фактором для определения выживаемости пациентов. Согласно данным консенсуса ESGO, ESMO, ESTRO (2015 г.), показания к лимфодиссекции для эндометриального рака 1-й клинической стадии определяются риском, оцениваемым по результатам предоперационного обследования [3]. Выделяют 3 группы риска лимфогенных метастазов, основанных на глубине инвазии опухоли в миометрий и степени ее дифференцировки, если при высоком риске лимфогенных метастазов показано проведение лимфаденэктомии, то для больных промежуточным риском проведение лимфаденэктомии остается на усмотрение лечащего врача. В то же время общая пятилетняя выживаемость повышается при проведении лимфаденэктомии больным 1-й клинической стадии процесса при промежуточном и высоком риске лимфогенного метастазирования [4].

Однако проведенные рандомизированные исследования не показали увеличение общей и безрецидивной выживаемости при проведении системной лимфаденэктомии, однако по-

казали увеличение послеоперационных осложнений, что может быть связано с ожирением, преклонным возрастом, высокой коморбидностью больных [5].

В связи с этим определение сторожевых лимфатических узлов позволит оптимизировать и персонализировать объем хирургического лечения у данной группы пациентов. Метод детекции СЛУ включен в рекомендации некоторых онкологических обществ, таких как NCCN и EANM, в качестве альтернативы лимфаденэктомии. Однако имеется ряд нерешенных вопросов, которые препятствуют широкому распространению данного метода. Одним из таких вопросов является отсутствие оптимального способа для детекции СЛУ.

Наиболее распространенным и более дешевым методом определения СЛУ является изотоп-ассоциированный способ с использованием рентгеноконтрастного вещества радиоактивного лимфотропного коллоида, способного проникать сквозь стенки лимфатических капилляров. Диагностика лимфатических узлов осуществлялась при помощи стационарного гамма-томографа, а их интраоперационный поиск проводился при помощи портативного гамма-сканера, что позволяет контролировать место расположения ЛУ, удостовериться в удалении именно СЛУ по накоплению в нем радиофармпрепарата (РФП) [6].

Однако в настоящее время большинство оперативных вмешательств при раке эндометрия проводится лапароскопическим доступом, который является наиболее оптимальным вариантом оперативного лечения у этой группы больных. Лапароскопический доступ является хорошей альтернативой лапаротомии, так как проведенные исследования не показали ухудшения прогноза и увеличения осложнений после проведения операций лапароскопическим доступом. Более того, выявили ряд преимуществ, таких как сокращение длительности пребывания пациента в стационаре и значительное снижение кровопотери в сравнении с лапаротомией [7]. Таким образом, на сегодняшний день актуальным является вопрос о возможности интраоперационного определения сторожевых лимфатических узлов при лапароскопическом оперативном лечении рака эндометрия T1 стадии.

Целью исследования явилось повышение эффективности интраоперационной визуализации сторожевых лимфатических узлов (СЛУ) у больных раком эндометрия 1-й клинической стадии.

Материал и методы. С 2017 по 2018 г. проведено оперативное лечение у 46 больных с установленным диагнозом рак эндометрия 1-й клинической стадии в условиях гинекологического отделения онкологической клиники Томского НИМЦ. У всех пациенток диагноз был верифицирован на догоспитальном этапе после проведенного отдельного диагностического выскабливания по месту жительства. Всем пациенткам проведено оперативное лечение в объеме лапароскопической экстирпации матки с придатками с тазовой лимфаденэктомией с определением сторожевых лимфатических узлов, у одной пациентки объем оперативного лечения был дополнен проведением парааортальной лимфаденэктомии. В 75 % случаев (n=34) детекция СЛУ проводилась с использованием портативного гамма-сканера GammaFinder II®. Измерение уровня накопления РФП проводилось после удаления клетчатки с лимфатическими узлами из брюшной полости. Выявленные СЛУ маркировались отдельно. В 25 % случаев (n=12) детекция СЛУ проводилась с использованием новой системы для детекции СЛУ RadPointer-gamma, которая позволяла проводить измерения уровня накопления РФП в ходе лапароскопической операции. Выявленные СЛУ удалялись из брюшной полости и отправлялись на «срочное» цитологическое исследование.

Результаты. Средний возраст пациенток составил $57 \pm 7,2$ года. При интраоперационной детекции СЛУ с использованием GammaFinder II® двухстороннее накопление РФП выявлено у 32 % (n=11), одностороннее – у 59 % (n=20). У 3 пациенток накопления РФП в СЛУ не было выявлено, что может быть связано с оценкой СЛУ после удаления клетчатки с лимфатическими узлами из брюшной полости в конце операции, когда уровень накопления РФП стал довольно низким.

В то же время использование системы RadPointer-gamma позволяет проводить детекцию СЛУ непосредственно во время операции. По нашим данным, одностороннее накопление РФП в СЛУ выявлено у 6 пациентов (50 %) с использованием RadPointer-gamma. В остальных случаях наблюдалось двухстороннее накопление РФП. Не было зафиксировано случаев отсутствия СЛУ. Все выявленные интраоперационно СЛУ с использованием системы RadPointer-gamma были отправлены на «срочное» цитологическое исследование. У 1 пациентки был выявлен микрометастаз аденокарциномы в СЛУ, в связи с чем объем оперативного лечения у данной пациентки был расширен до парааортальной лимфаденэктомии.

Выводы. Хотя детекция СЛУ при раке эндометрия включена в рекомендации некоторых онкологических обществ, таких как NCCN и EANM, в качестве альтернативы лимфаденэк-

томии, до сих пор существует ряд противоречивых аспектов, которые необходимо уточнить. Одним из них является возможность лапароскопической интраоперационной визуализации сторожевых лимфатических узлов при раке эндометрия. Использование новой системы детекции СЛУ RadPointer-gamma позволяет лапароскопически интраоперационно провести измерение уровня РФП в лимфатическом коллекторе малого таза, что позволяет повысить эффективность интраоперационной визуализации сторожевых лимфатических узлов при раке эндометрия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ» Минздрава России, 2017. 250.
2. Lewin S.N. Revised FIGO Staging System for Endometrial Cancer. Clin Obstet Gynecol. 2011 Jun; 54(2): 215–8. doi: 10.1097/GRF.0b013e3182185baa.
3. Colombo N., Creutzberg C., Amant F., Bosse T., González-Martín A., Ledermann J., Marth C., Nout R., Querleu D., Mirza M.R., Sessa C.; ESMO-ESGO-ESTRO. Endometrial Consensus Conference Working Group. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2016 Jan; 27 (1): 16–41. doi: 10.1093/annonc/mdv484.
4. Chino J.P., Jones E., Berchuck A., Secord A.A., Havrilesky L.J. The influence of radiation modality and lymph node dissection on survival in early-stage endometrial cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2012 Apr 1; 82(5): 1872–9. doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.03.054.
5. Benedetti Panici P., Basile S., Maneschi F., Alberto Lissoni A., Signorelli M., Scambia G., Angioli R., Tateo S., Mangili G., Katsaros D., Garozzo G., Campagnutta E., Donadello N., Greggi S., Melpignano M., Raspagliesi F., Ragni N., Cormio G., Grassi R., Franchi M., Giannarelli D., Fossati R., Torri V., Amoroso M., Crocè C., Mangioni C. Systematic pelvic lymphadenectomy vs. no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: randomized clinical trial. J Natl Cancer Inst. 2008 Dec 3; 100(23): 1707–16. doi: 10.1093/jnci/djn397.
6. Чернов В.И., Афанасьев С.Г., Синилкин И.Г., Тицкая А.А., Августиневич А.В. Радионуклидные методы исследования в выявлении «сторожевых» лимфатических узлов. Сибирский онкологический журнал. 2008; 4(28).
7. Берлев И.В., Урманчеева А.Ф., Максимов С.Я., Некрасова Е.А. Сравнительный анализ хирургического лечения рака эндометрия лапароскопическим и традиционным лапаротомным доступами. Сибирский онкологический журнал. 2012; (6): 32–36.

НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫЕ ФАКТОРЫ РИСКА МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ У БОЛЬНЫХ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМой

И.Е. Панова¹, О.С.Власова², Е.И. Гюнтнер², Н.В. Ворошина², Е.С. Павленко²

СПб филиал ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России,
г. Санкт-Петербург, Россия¹
ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины»,
г. Челябинск, Россия²

Аннотация

Проведен анализ факторов риска метастазирования у больных увеальной меланомой. Исследуемую когорту составили 54 пациента, с установленным диагнозом метастатического поражения внутренних органов у пациентов с меланомой хориоидеи, после различных методов лечения. Наиболее значимыми факторами риска метастазирования у пациентов с меланомой хориоидеи явились размеры опухоли, характер пигментации, форма опухоли.

Ключевые слова: увеальная меланома, метастазирование.

THE MOST IMPORTANT RISK FACTORS OF METASTASING IN PATIENTS WITH UVEAL MELANOMA

I.E. Panova¹, O.S. Vlasova², E.I. Guntner², N.V. Voroshina², E.S. Pavlenko²

St. Petersburg branch of FGMA MNTK «Eye Microsurgery» them. acad. S.N. Fedorov »Ministry of Health of Russia, St. Petersburg, Russia¹
SBHI «Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine», Chelyabinsk, Russia²

The analysis of metastatic risk factors in patients with uveal melanoma was carried out. The investigated cohort was 54 patients with established diagnosis of metastatic involvement of internal organs in patients with melanoma of the choroid, after various treatment methods. The most

significant risk factors for metastasis in patients with melanoma of the choroid were the tumor size, the nature of the pigmentation, the shape of the tumor.

Keywords: uveal melanoma, metastasis.

Актуальность. Увеальная меланома (УМ) является наиболее распространенной первичной злокачественной внутриглазной опухолью, которая склонна к гематогенному метастазированию [1–3]. В настоящее время, учитывая незначительное количество исследований, посвященных метастазированию увеальной меланомы, данный вопрос требует дополнительного изучения.

Материал и методы. Клиническое исследование выполнено на базе Челябинского областного клинического центра онкологии и ядерной медицины. С 2000 по 2016 г. в ЧОКЦОиЯМ постоянно наблюдался 261 пациент с УМ. Метастазы верифицированы у 54 больных. Из них мужчин 24 (44,44 %) и 30 женщин (55,56 %). Возраст пациентов – от 25 до 82 лет (в среднем $54,96 \pm 12,97$ года). Средний возраст у мужчин составил $60,58 \pm 12,93$ года, у женщин – $50,47 \pm 11,30$ года ($p=0,59$). Проминенция опухоли составляла $6,2 \pm 2,7$ мм, диаметр опухоли $11,5 \pm 2,2$ мм. Согласно классификации J.Shields (1983 г.), выделена группа пациентов с «большими» размерами меланомы хориоидеи – 43,6 %. Органосохраняющее лечение проведено 60 % пациентам. Первичная энуклеация проведена 40 % пациентов.

Результаты и обсуждение. В группе пациентов с метастазированием у 94,4 % пациентов опухоль располагалась в хориоидеи, в радужке – у 3,7 %, процент пациентов с опухолью цилиарного тела составил 1,9. У пациентов с метастазами «большой» меланомы хориоидеи при органосохраняющем лечении ($n=10$) высота первичной опухоли составила $7,94 \pm 1,81$ мм, ширина основания – $12,10 \pm 1,77$ мм, при органосохраняющем лечении (первичной энуклеации) высота опухоли – $11,63 \pm 2,97$ мм, ширина основания – $15,41 \pm 4,04$ мм. Опухоль имела куполообразную (50 %) и грибовидную (35,7 %) конфигурацию, пигментацию (95,6 %), экссудативный компонент (81,4 %), прорыв мембраны Бруха (35,7 %). Анализ протоколов патогистологического исследования показал преобладание смешанноклеточного строения опухоли (48,5 %). Частота метастазирования меланомы хориоидеи в 3-, 5- и 10-летний периоды с учетом метрической классификации (J.Shields, 1983) при средних размерах – 6,8, 10,8 и 12,2 %, при больших размерах – 12,9, 17,7 и 21,8 %. Сроки появления метастазов у исследуемой группы после проведенного органосохраняющего лечения составили $5,0 \pm 4,0$ года, после первичной энуклеации – $2,3 \pm 1,8$ года. У пациентов с «большой» МХ при органосохраняющем лечении ($n=10$) выявлены множественные метастазы у 3 пациентов, в печень – у 7, при первичной энуклеации: множественные метастазы у 8 пациентов, в печень – у 7, в головной мозг – у 1 пациента.

Выводы. Наиболее значимыми факторами риска метастазирования у больных увеальной меланомой являются: большие размеры опухоли, пигментация, транссудативно-геморрагический компонент, куполообразная и грибовидная конфигурация опухоли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бровкина А.Ф. Офтальмоонкология: руководство для врачей. Москва: Медицина, 2002. 424.
2. Зиангирова Г.Г., Лихванцева В.Г. Опухоли сосудистого тракта глаза. М.: Последнее слово, 2003. 456.
3. Панова И.Е., Важенин А.В. Избранные вопросы онкоофтальмологии. М., 2006. 153.

ПРЕДСКАЗАТЕЛЬНАЯ ЦЕННОСТЬ ОСОБЕННОСТЕЙ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М.Р. Патышева

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Использование моноцитов периферической крови в качестве маркеров предсказания и прогноза клинического течения рака молочной железы является новым направлением в онкоиммунологии. В данной

работе определены фенотипические и транскрипционные особенности моноцитов во взаимосвязи с эффективностью неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) при раке молочной железы (РМЖ).

Ключевые слова: моноциты, рак молочной железы, неoadъювантная химиотерапия, предиктивные маркеры.

PREDICTIVE SIGNIFICANCE OF BLOOD MONOCYTE CHARACTERIZATION FOR BREAST CANCER

M.R. Patysheva

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The peripheral blood monocytes as markers of prediction and prognosis of the clinical course of breast cancer is a new trend in oncoimmunology. In this paper, the phenotypic and transcriptional significance of monocytes are determined in relation to the efficacy of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer.

Keywords: monocytes, breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, predictive markers.

Актуальность. Использование неoadъювантного режима химиотерапии в настоящее время все чаще применяется при лечении РМЖ. Однако, далеко не всегда можно прогнозировать ожидаемый ответ на НАХТ [1]. Длительная предоперационная химиотерапия сопряжена с накоплением побочных эффектов, потерей времени и ухудшению клинической ситуации в случае отсутствия объективного ответа на лечение. В такой ситуации, в силу имеющихся результатов клинических исследований о связи системного иммунитета с опухолевым процессом, показатели системного иммунитета являются перспективным объектом для поиска предиктивных маркеров эффективности проводимого лечения [2]. Показана зависимость субпопуляционного состава и молекулярного профиля моноцитов крови от клинических характеристик опухоли, а так же в качестве прогностического фактора [3–5]. Однако нет сведений о предиктивной ценности моноцитов в отношении эффективности НАХТ. **Целью** данной работы было изучение взаимосвязи эффективности НАХТ с особенностями моноцитов крови у больных РМЖ.

Материал и методы. В исследование вошли 25 пациенток с РМЖ в стадии T1–4N0–2M0, в возрасте 31–61 лет. Все пациентки получали НАХТ. Эффективность НАХТ оценивалась по шкале RECIST 1.1. По результатам предоперационной химиотерапии больные РМЖ со стабилизацией или прогрессированием составляют группу с отсутствием ответа на НАХТ, а больные с частичной и полной регрессией – группу с объективным ответом. В качестве контрольной группы выступали 10 здоровых женщин (от 23 до 52 лет). Материалом для исследования служила венозная кровь, забранная в вакуумные системы с антикоагулянтом. Для характеристики воспалительного профиля моноцитов методом проточной цитофлюорометрии был определен их субпопуляционный состав на основании маркеров, характерных для макрофагов с провоспалительными свойствами: CD68 (общий маркер макрофагов) и CD119 (рецептор к INF γ), макрофагов с противовоспалительными свойствами CD163 и CD206 (маркеры макрофагов с противовоспалительной активностью), CD124 (рецептор к IL4), а также внутриклеточное содержание TNF α и IL1 β . Тотальная РНК была выделена из полученной магнитной сепарацией фракции CD14 $^{+}$ моноцитов. Для анализа уровня экспрессии генов, ассоциированных с воспалительным статусом моноцитов: TNF α , IL1 β , IL6, IL8, YLK40, YLK-39, stabilin-1, CD206, CCL18; VEGF, TGF β ; проводили количественную полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени. В качестве гена-рефери использовался ген домашнего хозяйства GAPDH.

Анализ субпопуляционной структуры моноцитов периферической крови выявил наличие популяций моноцитов, экспрессирующих рецепторы макрофагов. При РМЖ обнаружено достоверное повышение содержания CD68 $^{+}$ моноцитов ($2,38 \pm 1,11$) а также снижение CD163 $^{+}$ и CD124 $^{+}$ ($0,85 \pm 0,2$ и $7,70 \pm 2,13$) моноцитов, поляризованных по типу противовоспалительных макрофагов в сравнении с группой контроля: CD68 $^{+}$ $1,88 \pm 0,45$, CD163 $^{+}$ $14,35 \pm 5,5$ и CD124 $^{+}$ $32,60 \pm 10,7$. Наличие опухолевого процесса вызывало гипоксигенацию генов IL1 β $0,024$,

IL6=0,07, TNF α =0,26, YLK-39 и уменьшение внутриклеточной продукции ИЛ-1 β в моноцитах ПК по сравнению со здоровым контролем ($p<0,05$).

Результаты. При сравнении групп с наличием и отсутствием объективного ответа на НАХТ было обнаружено, что при частичной и полной регрессии статистически достоверно снижены в 5 раз CD68+ ($p=0,027$) и повышены в 1, 5 раз на уровне тенденции CD206+ ($p=0,051$). Содержание CD119+, CD163+ и CD124+ статистически достоверно не отличалось в группах с наличием и отсутствием объективного ответа на НАХТ. Из маркеров, отражающих уровень экспрессии генов воспалительного профиля, более высокий уровень YLK-39 (в 1,8 раз) и stabilin-1 (в 1.5 раза) наблюдался в группе с наличием ответа на предоперационную терапию. Кроме того, была выявлена положительная корреляционная связь между экспрессией генов YLK-39 ($r=0,717$, $p=0,035$), YLK-40 ($r=0,69$, $p=0,005$) и stabilin-1 ($r=0,665$, $p=0,018$) в моноцитах и уменьшением размера опухоли после проведенной предоперационной терапии, что согласуется с результатами по связи гиперэкспрессии YLK-39 в ткани опухоли с повышением выживаемости больных РМЖ [6].

Выводы. Полученные результаты показали, что при РМЖ до начала лечения субпопуляционный состав моноцитов и особенности экспрессируемых ими генов может быть связан с эффективностью проведенной НАХТ. Обнаружена связь повышенной экспрессии генов хитиназо-подобных белков (YLK-39, YLK-40, stabilin-1) с уменьшением объема опухоли в ответ на НАХТ, а также более высокий уровень экспрессии YLK-39 и stabilin-1 при наличии объективного ответа на предоперационную химиотерапию.

Работа поддержана грантом РФФИ (номер 17-29-06037 офи_м)

ЛИТЕРАТУРА

1. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, Rouas G, Francis P, Crown JP, Hitre E, de Azambuja E, Quinaux E, Di Leo A, Michiels S, Piccart MJ, Sotiriou C. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31(7): 860–7. doi: 10.1200/JCO.2011.41.0902.
2. Ascierto M.L., De Giorgi V., Liu Q., Bedognetti D., Spivey T.L., Murtas D., Uccellini L., Ayotte B.D., Stroncek D.F., Chouchane L., Manjili M.H., Wang E., Marincola F.M. An immunologic portrait of cancer. *J Transl Med.* 2011; 9: 146. doi: 10.1186/1479-5876-9-146.
3. Schauer D., Starlinger P., Reiter C., Jahn N., Zajc P., Buchberger E., Bachleitner-Hofmann T., Bergmann M., Stift A., Gruenberger T., Brostjan C. Intermediate monocytes but not TIE2- expressing monocytes are a sensitive diagnostic indicator for colorectal cancer. *PLoS One* 7(9):e44450. doi:10.1371/journal.pone.0044450.
4. Jiang L., Jiang S., Situ D., Lin Y., Yang H., Li Y., Long H., Zhou Z. Prognostic value of monocyte and neutrophils to lymphocytes ratio in patients with metastatic soft tissue sarcoma. *Oncotarget.* 2015; 6: 9542–9550. doi: 10.18632/oncotarget.3283.
5. Hamm A., Prenen H., Van Delm W., Di Matteo M., Wenes M., Delamarre E., Schmidt T., Weitz J., Sarmiento R., Dezi A., Gasparini G., Rothé F., Schmitz R., D'Hoore A., Iserentant H., Hendlitz A., Mazzone M. Tumour-educated circulating monocytes are powerful candidate biomarkers for diagnosis and disease follow-up of colorectal cancer. *Cancer Inform.* 2016; 15(Suppl 4): 11–17. doi: 10.1136/gutjnl-2014-308988.
6. Кожышкова Ю.Г., Чердынцева Н.В., Литвяков Н.В., Завялова М.В., Слонимская Е.М., Цыганов М.М., Митрофанова И.В., Крахмаль Н.В., ФГАОВ ВО НИИ ТГУ. Способ прогнозирования безрецидивной выживаемости у больных раком молочной железы. Патент № 2 623 869(13) РФ. МПК G01N 33/53 (2006.01). Заявка: 2016131233, 29.07.2016. Опубликовано: 29.06.2017 Бюл. № 19.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРЯМОЙ КИШКИ

Я.И. Перепечай

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, Россия

Аннотация

Способность нейтрофильных гранулоцитов продуцировать достаточное количество активных форм кислорода (АФК) может служить прогностическим признаком для оценки защитных сил организма. В работе приведены результаты лабораторного исследования показателей спонтанной и индуцированной хемилюминесценции нейтрофилов. Выявлено достоверное увеличение интенсивности образования АФК как при спонтанной, так и при зимозан-индуцированной хемилюминесценции у больных раком прямой кишки до проведения патогенетического лечения относительно контрольной группы.

Ключевые слова: рак прямой кишки, нейтрофильные гранулоциты, активные формы кислорода.

FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF PATIENTS WITH DIRECT CANCER

Ya.I. Perepechai

Research Institute for Medical Problems in the North, Krasnoyarsk, Russia

Abstract

The ability of neutrophilic granulocytes to produce a sufficient number of reactive oxygen species (ROS) can be a predictive feature for evaluating the body's defenses. The laboratory study results of spontaneous and induced chemiluminescence neutrophils parameters are shown. A significant increase in the intensity of formation of ROS in both spontaneous and zymosan-induced chemiluminescence in patients before the pathogenetic treatment with respect to the control group was revealed.

Keywords: rectal cancer, neutrophilic granulocytes, reactive oxygen species.

Рак прямой кишки (РПК) – одно из самых распространенных злокачественных заболеваний не только в России, но и во всем мире, составляет 5–6 % всех злокачественных опухолей человека [1]. Нейтрофильные гранулоциты (НГ) активно вовлекаются в реализацию противоопухолевого ответа. Ключевую роль в регрессии опухоли отводят активным формам кислорода (АФК), продуцируемым нейтрофилами [2].

Материалы и методы. В исследование включены 36 больных раком прямой кишки, средний возраст обследованных больных составил $61 \pm 11,5$ лет. На I и II стадии заболевания находились 50 % исследуемых больных, на III и на IV стадии по 25 % больных. Контрольная группа состояла из 112 практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту с группой обследованных больных. Объектом исследования служила венозная кровь, которую брали у пациентов из локтевой вены в вакуумные пробирки с литий гепарином утром натощак до проведения оперативного лечения.

Активность выработки АФК нейтрофилами изучалась методом хемилюминесцентного анализа. Исследование проводили на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе “CL 3607” (Россия), определяли время выхода кривой на максимум интенсивности хемилюминесценции, максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, площадь под кривой хемилюминесценции. В качестве усилителя хемилюминесценции использовали люминол. Индуктором респираторного взрыва служил опсонизированный зимозан. По соотношению площади индуцированной к площади спонтанной рассчитывали индекс активации НГ.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США, 2011).

Результаты и обсуждение. Исследование показало достоверное увеличение активности спонтанной хемилюминесценции на III и IV стадиях заболевания. На III стадии максимальная интенсивность спонтанной хемилюминесценции НГ превышала показатели контрольной группы в 2,5 раз ($p < 0,05$), а на IV стадии в 2,8 раза ($p < 0,05$). Площадь под кривой спонтанной хемилюминесценции НГ у больных РПК на всех стадиях была меньше ($p < 0,001$), относительно группы здоровых людей, на III стадии в 5,3 раз на III стадии в 4,6 раза, а на IV стадии в 4,8 раз.

Интенсивность зимозан-индуцированной хемилюминесценции НГ больных РПК статистически значимо ($p < 0,05$), увеличена на всех стадиях заболевания в 2,8 раза на III, в 3,4 на III, и 4,4 раза на IV стадии заболевания относительно контрольной группы. Площадь под кривой индуцированной хемилюминесценции, как и при спонтанной, у пациентов с РПК была статистически значимо снижена по сравнению с контрольной группой: на I–II стадии в 3,9 раза ($p < 0,001$), на III стадии – в 2,7 раза ($p < 0,05$).

Индекс активации НГ у больных РПК достоверно выше ($p < 0,05$), чем в группе здоровых людей, в 1,5 (I–II и III стадии), в 1,6 раза (IV стадия).

Заключение. В результате исследования активности НГ у больных РПК выявлено увеличение максимальной интенсивности свечения как при спонтанной, так и при индуцированной хемилюминесцентной реакции, однако суммарная продукция АФК нейтрофилами пациентов с РПК ниже, чем в группе практически здоровых людей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балканов А.С., Гуров А.Н., Катунцева Н.А., Белоусова Е.А. Заболеваемость раком прямой кишки населения Московской области в 2010–2014 гг. Альманах клинической медицины. 2016; 44(5): 599–605.
2. Нестерова И.В., Ковалева С.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Евлевский А.А. Двойственная роль нейтрофильных гранулоцитов в реализации противоопухолевой защиты. Иммунология. 2012; 5: 281–285.
3. Prestwich R.J., Errington F., Hatfield P., Roodman D.G. The immune system – is it relevant to cancer development, progression and treatment? Clin. Oncol. 2008; 20: 101–112.

СОПОСТАВЛЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ И ВЯЗКОУПРУГИХ ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ С ЛИПИДНЫМ ПРОФИЛЕМ ИХ МЕМБРАН И СЫВОРОТКИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Я.И. Прудникова¹, М.В. Кручинина¹, С.А. Курилович¹, М.В. Шашков²,
А.С. Соколова³, В.Е. Войцицкий⁴, М.Е. Рягузов⁴, И.Б. Хадагаев⁴

НИИТПМ – филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск, Россия¹

ФГБУН Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, г. Новосибирск, Россия²

ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН,
г. Новосибирск, Россия³

ГБУЗ Новосибирской области «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер»,
г. Новосибирск, Россия⁴

Аннотация

Исследована взаимосвязь электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов с жирнокислотным составом их мембран и сыворотки крови у пациентов с колоректальным раком.

Ключевые слова: колоректальный рак, жирные кислоты, эритроциты, сыворотка крови, электрические и вязкоупругие параметры, диэлектрофорез.

COMPARISON OF ELECTRICAL AND VISCOELASTIC PARAMETERS OF ERYTHROCYTES WITH THE LIPID PROFILE OF THEIR MEMBRANES AND BLOOD SERUM IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

I.I. Prudnikova¹, M.V. Kruchinina¹, S.A. Kurilovich¹, M.V. Shashkov²,
A.S. Sokolova³, V.E. Voytsitskiy⁴, M.E. Ryaguzov⁴, I.B. Hadagaev⁴

Research Institute of Internal and Preventive Medicine -Branch of the Institute of Cytology and Genetics,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia¹

Institute of Catalysis of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Federal State Budgetary
Science Institution, Novosibirsk, Russia²

Organic Chemistry Institute Named After Vorozhtsov, Novosibirsk, Russia³

Novosibirsk Regional Oncology Center, Novosibirsk, Russia⁴

Abstract

Studied interrelation of the electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes with the fatty acid composition of their membranes and blood serum in patients with colorectal cancer (CRC).

Keywords: colorectal cancer, fatty acids, erythrocytes, blood serum, electrical and viscoelastic parameters, dielectrophoresis.

Актуальность. Выбор мембраны эритроцитов в качестве объекта исследования был продиктован тем, что ей присущи общие принципы молекулярной организации плазматических мембран. Поэтому закономерности изменений структуры и функции мембраны эритроцитов с определенной долей коррекции, обусловленной, прежде всего, видовой специфичностью клеток, могут быть экстраполированы на иные мембранные системы [1]. В настоящее время

существует совокупность методов и подходов ранней диагностики колоректального рака, но большая часть из них трудоемка, дорогостояща, труднодоступна из-за необходимости специального оборудования, реактивов [2]. Поэтому необходимым представляется дальнейший поиск новых как доступных вариантов скрининга и диагностики колоректального рака на ранних стадиях, так и для оценки эффективности проводимой терапии и выявления рецидивов заболевания.

Материал и методы. Обследовано 46 человек (средний возраст 53+9 лет) с КРР различных локализаций и стадий и 16 условно здоровых. Электрические и вязкоупругие параметры (Эр) исследованы методом диэлектрофореза. ЖК состав мембран Эр и компонентов сыворотки крови (СК) – с помощью ГХ/МС системы на основе трех квадрупольных Agilent 7000В (США).

Результаты. У пациентов с КРР Эр отличались увеличением доли деформированных клеток со сниженной амплитудой деформации, поверхностным зарядом (низкие уровни скорости движения клеток к электродам, дипольного момента) ($p < 0,001-0,05$). Метастазирование ассоциировано с нарастанием электропроводности клетки, резким снижением поляризуемости и повышением склонности к гемолизу ($p < 0,0001-0,03$). У пациентов с КРР выявлены сниженные уровни насыщенных ($p < 0,0001$), мононенасыщенных ЖК ($p < 0,005$) и повышенные – полиненасыщенных ЖК ($p < 0,0001$) в мембранах Эр. Уровни омега-3 жирных кислот при КРР превышали таковые у здоровых как в мембранах Эр ($p < 0,0001$), так и в СК ($p < 0,0001$); для омега-6 жирных кислот такая закономерность выявлена лишь в мембранах Эр ($p < 0,002$), вместе с тем соотношение омега-6/омега-3 было ниже при КРР ($p < 0,0001$), чем в контроле. При этом состояние мембран Эр более достоверно отражало имеющиеся различия в составе ЖК, чем СК, коррелируя со стадией КРР ($r = 0,74$, $p < 0,001$).

Амплитуда деформации Эр была ассоциирована с уровнем ненасыщенных ЖК в мембранах Эр ($r = -0,58$; $p < 0,05$), как и обобщенные показатели вязкости ($r = 0,47$; $p = 0,03$), жесткости ($r = 0,41$; $p < 0,05$). В то время как уровень гемолиза Эр и склонность к агрегации коррелировали с уровнем лизофракций ЖК ($r = 0,54$, $p = 0,04$; $r = 0,42$, $p < 0,05$).

Выводы. Выявленные изменения параметров Эр и ЖК состава компонентов СК, ассоциированные со стадией заболевания, могут быть перспективны для диагностики и динамического наблюдения за пациентами с КРР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Новицкий ВВ., Рязанцева НВ., Степанова ЕА., Федорова ТС., Кравец ЕБ., Иванов В.В., Жаворонок Т.В., Часовских НЮ., Чудакова ОМ., Бутусова НВ., Яковлева НМ. Молекулярные нарушения мембран эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы. Бюллетень Сибирской Медицины. 2006; 5(2): 62–69.
2. LYNCH H.T. Hereditary colorectal cancer. Engl J Med N. 2003; 348(10): 919–32.

ВЫСОКОЧАСТОТНАЯ ИСКУССТВЕННАЯ ВЕНТИЛЯЦИЯ ЛЁГКИХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БРОНХОЛИТИКА ТИОТРОПИЯ БРОМИД ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ТОРАКАЛЬНЫХ ОПЕРАЦИЙ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЁГКОГО С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

И.П. Путеев, С.В. Авдеев, А.Ю. Добродеев

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Представлены непосредственные результаты применения методики высокочастотной вентиляции независимого легкого с ингаляцией бронхолитика тиотропия бромид на протяжении основного этапа оперативного вмешательства у больных раком лёгкого с хронической обструктивной болезнью легких, которая демонстрирует высокую эффективность в плане предотвращения развития интра- и послеоперационных осложнений.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, хроническая обструктивная болезнь легких, искусственная вентиляция легких, бронхолитики, тиотропия бромид.

HIGH-FREQUENCY LUNG VENTILATION AND USING BRONCHODILATORS TIOTROPIUM DURING THORACIC OPERATIONS IN PATIENTS WITH LUNG CANCER WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

I.P. Puteev, S.V. Avdeev, A.Y. Dobrodeev

Cancer Research Institute, National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The immediate results of the application of the technique of high-frequency ventilation of an independent lung with inhalation of bronchodilator tiotropium bromide during the main stage of operative intervention in patients with lung cancer with chronic obstructive pulmonary disease that demonstrates high effectiveness in terms of preventing the development of intra- and postoperative complications are presented.

Keywords: non-small cell lung cancer, chronic obstructive pulmonary disease, artificial lung ventilation, bronchodilators, tiotropium bromide.

Актуальность. Рак легкого в России у 90 % мужчин и у 75 % женщин ассоциируется с курением, которое является основным фактором риска развития хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), в результате чего возможности проведения лечения значительно снижаются [1].

Особенность оперативных вмешательств по поводу рака легкого заключается в том, что на основном этапе операции часто требуется выключение из вентиляции пораженного (независимого) легкого [2]. Однако при наличии у больного НМРЛ сопутствующей хронической патологии легких, сопровождающейся дыхательной недостаточностью, хирургическое лечение становится практически противопоказанным [3], так как больные не способны перенести этап однологочной вентиляции.

В связи с этим в последние годы проблему вентиляционного обеспечения для независимого легкого на основном этапе оперативного вмешательства пытаются решать за счет дифференцированной вентиляции с высокочастотной вентиляционной поддержкой [4]. Кроме того, для профилактики интра- и послеоперационных осложнений достаточно активно разрабатывается и внедряется комплекс мероприятий, включающий санации трахеобронхиального дерева, ингаляции антисептиков, муколитиков, бронхолитиков, гормонов и протеолитических ферментов, а также проведение дыхательной гимнастики.

Таким образом, представляются актуальными исследования по оптимизации анестезиологического обеспечения у больных НМРЛ с ХОБЛ с использованием новых методик дифференцированной вентиляции, а также проведению лечебно-профилактических мероприятий, направленных на предупреждение бронхо-легочных осложнений в интра- и раннем послеоперационном периодах.

Материал и методы. В исследование включено 35 больных НМРЛ I–III стадии с ХОБЛ, находившихся на лечении в торако-абдоминальном отделении НИИ онкологии Томского НИМЦ.

В рамках комбинированного лечения у всех больных проводилась предоперационная химиотерапия +/- лучевая терапия и радикальная операция.

Больные раком легкого с ХОБЛ были разделены на 2 группы:

I группа (основная) – проводилась дифференцированная вентиляция легких с применением методики катетерной высокочастотной искусственной вентиляции легких (ИВЛ) для независимого легкого аппаратом ZisLine JV-100 с частотой 70–95 циклов в минуту и газотоком 5–7 л/мин, при этом через встроенный в контур небулайзер Aeroneb Pro интраоперационно вводился бронхолитик тиотропия бромид в дозе 18 мкг (2 ингаляции по 15 мин с интервалом 60 мин) (15 больных).

II группа (контрольная) – проводилась традиционная однологочная ИВЛ с вентиляцией зависимого легкого в принудительном режиме и коллабированием независимого легкого на период основного этапа оперативного вмешательства (20 больных).

Результаты. Проведенное исследование показало, что использование в основной группе методики дифференцированной вентиляции легких с вентиляцией независимого легкого в

высокочастотном режиме и ингаляцией тиотропия бромидом на основном этапе оперативного вмешательства позволило во всех случаях улучшить газовый состав артериальной крови (рост парциального напряжения кислорода в артериальной крови достигал 125 мм рт.ст.) путём уменьшения шунтирования и бронхообструктивного компонента, что, в конечном итоге, предотвращало развитие гипоксемии в интра- и ближайшем послеоперационном периоде и позволяло поддерживать уровень сатурации 99–100 %. При этом в раннем послеоперационном периоде не было зафиксировано осложнений со стороны бронхо-лёгочной системы.

В контрольной группе основной этап оперативного вмешательства в 40 % случаев был сопряжен с развитием интраоперационной гипоксемии (8 человек) и десатурации до 85–87 %, что потребовало возобновления традиционной двулегочной ИВЛ на срок от 5 до 15 мин, удлинняя общее время операции и анестезиологического пособия и создавая неблагоприятные условия для работы хирургической бригады.

Выводы. Предварительные результаты свидетельствуют о том, что методика высокочастотной вентиляции независимого легкого с ингаляцией тиотропия бромидом на протяжении основного этапа оперативного вмешательства у больных раком лёгкого с ХОБЛ демонстрирует высокую надежность и эффективность в плане предотвращения интраоперационных (гипоксемия) и послеоперационных осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белялова Н.С., Дворниченко В.В., Менг А.А., Моклоков А.В., Лелявин Б.И., Сокольников М.В., Хаматов Р.К. Факторы риска хирургии легких: возраст и респираторная функция. Росс. онкол. журн. 2009; 1: 48–50.
2. Szegedi L.L. Pathophysiology of one-lung ventilation. Anesthesiol. Clin. North America. 2001 Sep; 19 (3): 435–453.
3. Slinger P. Principles and Practice of Anesthesia for Thoracic Surgery. Springer Science & Business Media, 2011. 732.
4. Выжигина М.А., Мизиков В.М., Сандриков В.А., Лукьянов М.В., Титов В.А., Жукова С.Г., Бунятян А.А. Постоянное положительное давление в дыхательных путях и высокочастотная вентиляционная поддержка независимого легкого у пациентов с хроническими обструктивными заболеваниями легких. Анестезиология и реаниматология. 2004; 1: 31–35.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПАТТЕРНОВ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ГЛИОБЛАСТОМАХ

А.А. Пушкин, О.И. Кит

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Целью данной работы является скрининг молекулярных маркеров малигнизации глиобластом для повышения эффективности назначения таргетных препаратов. Нами был изучен профиль относительной экспрессии генов EGFR, SMAD4, SMAD7, SMO, NOTCH1, HBP1, HIF-1A, EGLN1, EGLN3, TET2, KDM1B, KDM1A методом RT2-qPCR. В опухолевой ткани по сравнению с неопухолевой снижалась экспрессия генов SMAD7, EGLN1, EGLN3 (приблизительно в 2 раза) ($p < 0.05$). В перитуморальной области статистически достоверно снижалась экспрессия гена EGLN1 (на 14 %) ($p < 0.05$). Выявлена активация HIF-1 в глиомах. Делается вывод о целесообразности использования таргетирующих препаратов при лечении глиобластом.

Ключевые слова: глиобластома, молекулярные маркеры, экспрессия генов.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF PATTERNS OF GENE EXPRESSION IN GLIOBLASTOMAS

A.A. Pushkin, O.I. Kit

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

The aim of this work is to screen molecular markers of malignancy with glioblastomas for increasing the effectiveness of targeting drugs. We studied the profile of the relative expression of the genes EGFR, SMAD4,

SMAD7, SMO, NOTCH1, HBP1, HIF-1A, EGLN1, EGLN3, TET2, KDM1B, KDM1A by the RT2-qPCR method. In the event that the tumor is not expressed, it can lead to undesirable consequences. In the peritumoral region, expression of EGLN1 gene (by 14 %) ($p < 0.05$) was statistically significantly decreased. Activation of HIF-1 in gliomas was detected. A conclusion is made about the advisability of using targeting drugs in the treatment of glioblastomas.

Keywords: glioblastoma, molecular markers, gene expression

Глиомы – наиболее распространенные первичные опухоли мозга, встречающиеся у взрослых людей с частотой около 5 случаев в год на 100 000 человек в мире. Глиомы характеризуются высокими уровнями смертности и рецидивирования после хирургического удаления. Приблизительно 70 % всех глиом относятся к злокачественным; 5-летний рубеж выживаемости преодолевают лишь 20 % пациентов с данным заболеванием. **Целью работы** являлось определение эффективных молекулярных маркеров малигнизации глиобластом, которые могут быть использованы при назначении таргетных препаратов. EGLN1 – негативный регулятор экспрессии HIF-1A [1]. Функциональная активность HIF-1 регулируется уровнями кислородчувствительной субъединицы HIF-1A. При гипоксических условиях HIF-1A активирует HIF-1 сигнальный путь, что приводит к интенсивному ангиогенезу и приспособлению опухолевых клеток к гипоксическим условиям. Экспрессия EGLN3 в тканях глиомы играет важную роль в регуляции путем усиления сигналов апоптоза [2]. Белки SMAD фосфорилируются и активируются трансмембранными серин-треониновыми рецепторными киназами в ответ на передачу сигналов фактора роста TGF- β [3].

Операционные биоптаты тканей получены от 15 пациентов, проходивших плановое лечение в ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ, с гистологически подтвержденным диагнозом глиобластома: опухоль, перифокальная ткань и неопухолевая ткань мозга. Определение относительной экспрессии 12 генетических локусов проводили методом RT2-qPCR. Суммарную РНК выделяли по методу Р. Chomczynski и N. Saacchi. Для синтеза библиотеки кДНК использовали набор реагентов «ОТ-1» (Россия, «Синтол»). Дизайн праймеров осуществляли с использованием базы данных NCBI GenBank. RT-qPCR амплификацию проводили на термоциклере Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, USA). Генетические локусы PSMC, RPLO, TBP использовали в качестве референсных. Статистический анализ проводился с применением U-критерия Манна – Уитни.

В опухолевой ткани статистически достоверно ($p < 0.05$) понижалась экспрессия генов SMAD7 и EGLN1, EGLN3 (приблизительно в 2 раза) относительно показателей здоровой ткани. В перифокальной области статистически достоверно подавлялась экспрессия генов EGLN1 (на 14 %) ($p < 0.05$).

Снижение экспрессии гена SMAD7 приводит к повышению экспрессии TGF- β , что стимулирует эпителиально-мезенхимальный переход клеток [4], повышая вероятность метастазирования и локальной миграции опухолевых клеток. Подавление активности гена EGLN1 в опухолевой и перифокальной тканях приводит к повышению экспрессии HIF1A, что обеспечивает растущие опухолевые клетки адаптацией к гипоксическим внутриопухолевым условиям путем развития ангиогенеза. Логично предположить, что при таком профиле экспрессии HIF1A/EGLN1 будет эффективным использование таргетных препаратов, ингибирующих гиперактивацию HIF-1 пути (Аминофлавоны) при лечении глиобластом [5]. Понижение экспрессии EGLN3 обеспечивает опухоли нервной ткани устойчивостью к апоптотическим сигналам, обеспечивает иммортализацию клеток в перифокальной области.

При таком профиле экспрессии HIF1A/EGLN1 возможно использование таргетных препаратов, ингибирующих гиперактивацию HIF-1 сигнального пути (Аминофлавоны) при лечении глиобластом. Снижение экспрессии гена SMAD7 может выступать прогностическим маркером развития глиом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Berra E., Benizri E., Ginouves A., Volmart V., Roux D., Pouyssegur J. HIF prolyl-hydroxylase 2 is the key oxygen sensor setting low steady-state levels of HIF-1 α in normoxia. The EMBO journal. 2003 August. 22(16): 4082–4090. doi: 10.1093/emboj/cdg392.
2. Mao K., You C., Lei D., Zhang H. Potential regulation of glioma through the induction of apoptosis signaling via Egl 9 family hypoxia inducible factor 3. Oncology letters. 2016 Dec; 13(2): 893–897. doi: 10.3892/ol.2016.5492.
3. He S., Zhao Z., Wng Y., Zhao J., Hou F., Gao G. Reduced expression of SMAD4 in gliomas correlates with progression and survival of patients. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2011 July; 30(1): 70. doi: 10.1186/1756-9966-30-70.
4. Chen X., Wang Z., Ma H., Zhang S., Yang H., Wag H., Fang Z. Melatonin attenuates hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition and cell aggressive via Smad7/CCL20 in glioma. Oncotarget. 2017 Aug; 8(55): 93580. doi: 10.18632/oncotarget.20525.
5. Terzuoli E., Puppo M., Rapisarda A., Uranchimeg B., Cao L., Burger A.M., Ziche M., Melillo G. Amino flavone, a ligand of the aryl hydrocarbon receptor, inhibits HIF-1 α expression in an AhR-independent fashion. Cancer research. 2010 Sep; 70(17): 6837–6848. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1075.

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО III СТАДИИ С ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ХИМИОТЕРАПИЕЙ И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫМ НАЗНАЧЕНИЕМ АДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Е.О. Родионов^{1,2}, М.М. Цыганов^{1,3}, Л.А. Ефтеев¹, И.В. Дерюшева¹,
С.В. Миллер¹, Н.В. Литвяков^{1,3}

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Томск, Россия²

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Россия³

Аннотация

Представлены трехлетние результаты комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого III стадии с использованием предоперационной химиотерапии, радикального хирургического вмешательства и персонализированного назначения адъювантной химиотерапии на основании уровней экспрессии генов монорезистентности в опухоли.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, гены монорезистентности, химиорезистентность, персонализированная химиотерапия.

LONG-TERM RESULTS OF COMBINED TREATMENT OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER STAGE III WITH PREOPERATIVE CHEMOTHERAPY AND PERSONALIZED THE ASSIGNMENT OF ADJUVANT CHEMOTHERAPY

E.O. Rodionov^{1,2}, M.M. Tsyganov^{1,3}, L.A. Efteev¹, I.V. Deryusheva¹, S.V. Miller¹,
N.V. Litvyakov^{1,3}

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia³

Abstract

The article presents the three-year results of combined treatment of non-small cell lung cancer of stage III with the use of preoperative chemotherapy, radical surgery and personalized adjuvant chemotherapy based on the expression levels of monoresistance genes in the tumor.

Keywords: non-small cell lung cancer, monoresistance genes, chemoresistance, personalized chemotherapy.

Актуальность. Лечение III стадии НМРЛ остается сложной и противоречивой задачей. Условная радикальность хирургического вмешательства при III стадии НМРЛ обусловлена высокой вероятностью наличия субклинических метастазов, поэтому в лечении данной категории больных требуется использование системной химиотерапии [1]. В последнее время все чаще высказывается мнение о том, что индивидуальная химиотерапия, основанная на определении молекулярных биомаркеров химиочувствительности, представляет собой новый путь для лечения больных НМРЛ [2]. Перспективными маркерами в отношении химиочувствительности являются гены монорезистентности, такие как *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2α*, *TUBB3*, *TYMS* и *ABCC5* [3–5].

Материал и методы. В работе проанализированы результаты лечения 62 больных немелкоклеточным раком легкого III стадии за период с 2010 по 2016 г., находившихся на лечении в торако-абдоминальном отделении онкологической клиники Томского НИМЦ.

Всем больным на первом этапе комбинированного лечения проводилось 2 курса неоадьювантной химиотерапии по схеме винорелбин/карбоплатин и хирургическое лечение. Далее больные были распределены на две группы. Основную группу составил 31 пациент, которым после операции проведено 3 курса персонализированной адьювантной химиотерапии, назначенной на основании уровней экспрессии генов *ABCC5*, *RRM1*, *ERCC1*, *BRCA1*, *TOP1*, *TOP2α*, *TUBB3* и *TYMS* в виде карбоплатинсодержащих дублетов со следующими химиопрепаратами: винорелбин, гемцитабин, доксорубин, паклитаксел. Контрольную группу составил 31 пациент, которым послеоперационная химиотерапия проводилась по схеме винорелбин/карбоплатин.

Средний возраст больных составил 58,1 года (95 % ДИ 56,6–59,5 года). У больных преобладали центральные клиничко-анатомические формы роста рака легкого. Несколько чаще отмечено поражение правого легкого в сравнении с левым (58,1 % и 41,9 % соответственно). Более чем у половины пациентов опухоль поражала верхнюю долю (58,1 %). Наиболее распространенной морфологической формой рака легких был плоскоклеточный рак (71,0 %), другие формы НМРЛ встречались реже.

Пневмонэктомии выполнены 20 (32,3 %) больным, а резекции легких в объеме лобэктомий – 36 (58,1 %) больным, билобэктомий – 6 (9,7 %) пациентам.

Отличия больных по клиничко-морфологическим параметрам и объему операции оказались статистически незначимыми ($p > 0,05$).

Уровень экспрессии генов монорезистентности в операционном материале оценивался при помощи количественной ПЦР в режиме реального времени (qPCR) по технологии TaqMan на амплификаторе RotorGene 6000, Corbett Research Australia.

Для анализа выживаемости использовались кривые, построенные по методу Каплана – Майера. Сравнение достоверности различий между группами производилось с помощью Log-Rank test. Различие считалось достоверным при $p < 0,05$, т.е. в тех случаях, когда вероятность различия составляла больше 95 %.

Результаты. Период наблюдения за больными составил от 4 до 76 мес. В основной группе прогрессирование заболевания наблюдалось у 6 (19,4 %) больных, в контрольной группе – у 15 больных (48,4 %).

Однолетняя безрецидивная выживаемость в основной группе составила 93,5 %, в группе контроля – 71,0 % (ОР 5,259; 95 % ДИ 1,607 – 17,209); различия статистически значимы: Log-Rank test $\chi^2=5,715$, $p=0,017$. Показатели двухлетней безрецидивной выживаемости при персонализированном лечении составили 83,9 %, тогда как в контрольной группе два года без признаков рецидива прожили 67,7 % больных (ОР 2,349; 95 % ДИ 0,8516,484); различия статистически не значимы: Log-Rank test $\chi^2=2,607$, $p=0,106$. Трехлетняя безрецидивная выживаемость в основной группе составила 80,7 % (медиана не достигнута), в группе контроля – 51,6 %, медиана составила 34 мес (ОР 2,562; 95 % ДИ 1,0896,027); различия статистически значимы: Log-Rank test $\chi^2=4,196$, $p=0,041$ (рис. 1).

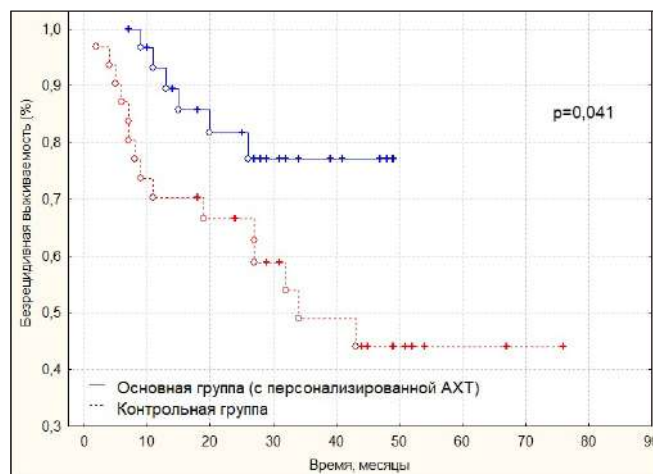


Рис. 1. Анализ безрецидивной выживаемости в исследуемых группах по методу Каплана – Майера.

Общая выживаемость в основной группе составила 87,1 %, а в группе контроля – 67,7 % (OR=2,266; 95 % ДИ 0,7946,4681). Статистически незначимые различия (Logrank test $\chi^2=2,081$, $p=0,149$) можно объяснить малым сроком наблюдения за больными.

Выводы. Разработанный способ персонализированной схемы послеоперационной химиотерапии, основанный на определении экспрессии генов монорезистентности, позволяет статистически значимо увеличить трехлетнюю безрецидивную выживаемость больных на 29,1 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rinaldi M., Cauchi C., Gridelli C. First line chemotherapy in advanced or metastatic NSCLC. Ann Oncol. 2006; 17(suppl_5): v64v67. doi:10.1093/annonc/mdj953.
2. Zhang Q., Zhu X., Zhang L., Sun S., Huang J., Lin Y. A prospective study of biomarker-guided chemotherapy in patients with non-small cell lung cancer. Cancer Chemother Pharmacol. 2014; 74(4): 839–846. doi:10.1007/s00280-014-2513-x.
3. Jakobsen J.N., Santoni-Rugiu E., Sørensen J.B. Use of TUBB3 for patient stratification and prognosis in lung cancer. Lung Cancer Manag. 2015; 4(2): 97–110. doi:10.2217/lmt.15.6.
4. Olaussen K.A., Postel-Vinay S. Predictors of chemotherapy efficacy in non-small-cell lung cancer: a challenging landscape. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol. 2016; 27(11): 2004–2016. doi:10.1093/annonc/mdw321.
5. Цыганов М.М., Родионов Е.О., Дерюшева И.В., Миллер С.В., Ибрагимова М.К., Писарева Л.Ф., Кжышковская Ю.Г., Тузиков С.А., Чердынцева Н.В., Литвяков Н.В. Оценка прогностической значимости экспрессии генов монорезистентности в опухоли больных немелкоклеточным раком легкого после предоперационной химиотерапии. Вопросы онкологии. 2017;63(1):122–125.

ПОИСК ЭФФЕКТИВНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КАНЦЕРОМАТОЗА БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ НА МОДЕЛИ ДИССЕМИНИРОВАННОГО РАКА ЯИЧНИКА

В.А. Романов, В.Г. Беспалов

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

В эксперименте на модели перевиваемой опухоли яичника у 124 крыс-самок проведено сравнительное изучение противоопухолевой активности цитостатиков диоксидэ, цисплатина, митомицина С, мелфалана и паклитаксела при их однократном внутрибрюшинном (в/б) или внутривенном (в/в) введении в дозах соответственно 1,5, 4, 1,5, 2 и 5 мг/кг массы тела. Противоопухолевые эффекты оценивали по увеличению медианы продолжительности жизни (МПЖ). Диоксидэт, цисплатин и мелфалана при в/б введении статистически значимо увеличивали МПЖ соответственно на 79, 88 и 114 %, тогда как при в/в введении они не влияли существенно на МПЖ. Митомицин С при в/б введении статистически значимо увеличивал МПЖ только на 35 %, а при в/в введении – на 152 %. Паклитаксел при в/б и в/в введениях статистически значимо увеличивал МПЖ на 45 и 81 % соответственно.

Ключевые слова: рак яичника, интраперитонеальная химиотерапия, противоопухолевые препараты.

SEARCH OF EFFECTIVE ANTITUMOR DRUGS FOR THE TREATMENT OF PERITONEAL CARCINOMATOSIS IN MODEL OF ADVANCED OVARIAN CANCER

V.A. Romanov, V.G. Bespalov

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

Abstract

Comparative study of antitumor activity of cytostatic drugs dioxadet, cisplatin, mitomycin C, melphalan and paclitaxel at the single intraperitoneal (i/p) or intravenous (i/v) administration in doses of 1.5, 4, 1.5, 2 and 5 mg/kg of body weight, respectively, was carried out in experiment on a model of transplantable ovarian tumor in 124 female rats. Antitumor effect was evaluated by the increase in median survival (IMS). Dioxadet, melphalan and cisplatin at the i/p administration increased significantly IMS to 79, 88 and 114 %, respectively, whereas

at the i/v administration these drugs did not influence significantly IMS. Mitomycin C at the i/v administration significantly increased IMS only to 35 %, whereas at the i/p administration – to 152 %. Paclitaxel at the i/p and i/v administration increased significantly IMS to 45 % and 81 %, respectively.

Keywords: ovarian cancer, intraperitoneal chemotherapy, antitumor drugs.

Стандартом лечения диссеминированного РЯ является циторедуктивная операция с последующей системной химиотерапией, при которой лекарственные препараты вводятся внутривенно (в/в) [1]. Недостаточно удовлетворительные результаты требуют поиска новых подходов к лечению больных. Интраперитонеальная терапия при внутривентральном (в/б) введении позволяет достигать многократно большей концентрации препаратов в брюшной полости, чем в/в введение [2]. **Целью работы** явилось сравнение противоопухолевой активности цитостатических препаратов при их в/б и в/в введении на модели перевиваемого асцитного РЯ у самок крыс. При этом преимущества интраперитонеальной химиотерапии могут быть доказаны прямым сравнением противоопухолевой активности цитостатиков при их в/б или в/в введении в одинаковых дозах.

Исследование проведено на 124 крысах-самках Вистар. Все манипуляции с животными производились в рамках ГОСТ 33216-2014. В качестве модели диссеминированного РЯ использован штамм асцитной опухоли яичника [3]. На 7-й день после в/б перевивки РЯ 4 крысам от одной крысы был взят асцит и перевит 120 крысам в/б по 0,5 мл асцитной жидкости, разведенной физиологическим раствором и содержащей 1×10^7 клеток. Крысы после перевивки РЯ были рандомизированы на 12 групп по 10 крыс в каждой. Через 48 ч после перевивки РЯ под эфирным наркозом однократно в/б или в/в (в хвостовую вену) вводили: контрольным животным – 2 мл физиологического раствора, опытным – противоопухолевые препараты в ранее установленных МПД: диоксидэ, цисплатин, митомин С, мелфалан, или паклитаксел в дозах соответственно 1,5, 4, 1,5, 2, и 5 мг/кг массы тела. Противоопухолевые эффекты препаратов оценивали по увеличению медианы продолжительности жизни (МПЖ).

РЯ прививался у всех крыс и быстро прогрессировал, вызывая асцит и гибель животного. По сравнению с контролем диоксидэ, цисплатин и мелфалан при в/б введении статистически значимо увеличивали МПЖ на 79, 88 и 114 % соответственно; митомин С при в/б введении статистически значимо увеличивал МПЖ только на 35 %, а при в/в введении – на 152 %; паклитаксел при в/б и в/в введениях статистически значимо увеличивал МПЖ на 45 и 81 % соответственно (табл. 1). Следовательно, при однократном в/б введении все цитостатики статистически значимо увеличивали выживаемость крыс по сравнению с контролем. При в/в введении диоксидэ, цисплатин и мелфалан достоверно не влияли на выживаемость крыс по сравнению с контролем, и только митомин С и паклитаксел статистически значимо увеличивали выживаемость крыс. Таким образом, в/б введение диоксидэ, цисплатина и мелфалана является более эффективным, чем их в/в введение, противоопухолевые эффекты паклитаксела при в/б и в/в введении схожие, и только митомин С оказался более эффективным при в/в введении.

Таблица 1

Влияние препаратов при разных путях введения на выживаемость крыс после перевивки рака яичника

Препарат	В/б введение		В/в введение	
	МПЖ, сут	Увеличение, %	МПЖ, сут	Увеличение, %
Контроль	17,0		10,5	
Диоксидэ	30,0*	79	11,0	5
Цисплатин	32,5*	88	12,0	14
Митомин С	22,0*	35	26,5*	152
Мелфалан	37,0*	114	12,5	19
Паклитаксел	24,0*	45	19,0*	81

*Отличие от соответствующего контроля статистически значимо при $p < 0,05 \pm 0,001$.

Нами получены прямые доказательства более высокой эффективности в/б введения противоопухолевых препаратов по сравнению с их в/в введением при лечении диссеминированного РЯ. Полученные данные объясняют результаты клинических испытаний [4], свиде-

тельствующих об увеличении продолжительности жизни больных с диссеминированным РЯ в результате включения в схему лечения в/б введения противоопухолевых препаратов. Однако, как показывают наши результаты, не все противоопухолевые препараты эффективнее при в/б введении. По-видимому, для интраперитонеальной химиотерапии диссеминированного РЯ лучше всего подходят препараты с алкилирующим механизмом действия, низкой молекулярной массой и не требующие метаболической активации. Мы рекомендуем диоксид, цисплатин и мелфалан для клинических испытаний интраперитонеальной химиотерапии в лечении диссеминированного РЯ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kemp Z., Ledermann J. Update on first-line treatment of advanced ovarian carcinoma. *Int. J. Womens Health*. 2013; 5: 45–51.
2. Cristea M., Han E., Salmon L., Morgan R.J. Practical considerations in ovarian cancer chemotherapy. *Ther. Adv. Med. Oncol.* 2010; 2: 175–187.
3. Беспалов В.Г., Беляева О.А., Киреева Г.С., Сенчик К.Ю., Стуков А.Н., Аристов В.А., Майдин М.А. Противоопухолевое действие диоксида в интраперитонеальном химиоперфузионном лечении распространенного рака яичника в эксперименте. *Вопр. онкол.* 2014; 60(2): 72–79.
4. Miller E.M., Tymon-Rosario J., Xie X., Xue X., Gressel G.M., Miller D.T., Kuo D.Y., Nevadunsky N.S. Utilization of intraperitoneal chemotherapy for optimally cytoreduced advanced stage epithelial ovarian cancer: A 10-year single institution experience with a racially diverse urban population. *Gynecol. Oncol.* 2017; 147: 36–40.

АНАЛИЗ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ СВЯЗИ ТРОПОСФЕРНОГО СОДЕРЖАНИЯ ДИОКСИДА АЗОТА С ОНКОПАТОЛОГИЕЙ И БОЛЕЗНЯМИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ НАСЕЛЕНИЯ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Т.В. Русскова

Институт оптики атмосферы им. В.Е. Зуева Сибирского отделения Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Обсуждается гипотеза о взаимосвязи тропосферного содержания диоксида азота с количеством случаев онкологических заболеваний и болезней органов дыхания взрослого населения Западной Сибири. На основе анализа соответствующих данных за 2005–2016 гг. получены коэффициенты корреляции, устанавливающие тесноту этой связи. Показано, что в регионах с наиболее неблагоприятным экологическим состоянием атмосферы вероятность возникновения злокачественных опухолей и астмы среди рассмотренных заболеваний наиболее высока.

Ключевые слова: онкопатология, болезни органов дыхания, тропосферное содержание диоксида азота, спутниковое зондирование, Западная Сибирь.

ANALYSIS OF THE CORRELATION OF TROPOSPHERIC NITROGEN DIOXIDE WITH ONCOPATHOLOGY AND RESPIRATORY DISEASES OF THE POPULATION OF WESTERN SIBERIA

T.V. Russkova

V.E. Zuev Institute of Atmospheric Optics SB RAS, Tomsk, Russia

Abstract

The hypothesis on the interrelation of the tropospheric content of nitrogen dioxide with the number of cases of cancer and respiratory diseases in the adult population of Western Siberia is discussed. The correlation coefficients establishing the tightness of this connection are obtained based on the analysis of the relevant data for 2005–2016. It is shown that in regions with the most ecologically unfavorable atmospheric state the probability of occurrence of malignant tumors and asthma is highest among the examined diseases.

Keywords: Cancer, respiratory diseases, tropospheric nitrogen dioxide, satellite remote sensing, Western Siberia.

Актуальность. Современные негативные тенденции в изменении состояния воздушной среды ставят научную проблему “окружающая среда – здоровье человека” в разряд наиболее значимых и требующих незамедлительного решения. Некоторые исследователи приходят к выводу, что в ближайшие несколько десятков лет при сохраняющейся тенденции развития индустрии здоровье населения на 50–70 % будет зависеть от качества среды обитания [1]. Несмотря на то, что в последние годы отмечается некоторое снижение эмиссии от промышленных объектов, наблюдается перманентный рост вклада автотранспорта, способствующего появлению опасных концентраций загрязняющих веществ, в том числе обладающих канцерогенным эффектом. Экологическое состояние атмосферы является одним из причинных факторов возникновения онкопатологий и болезней органов дыхания: согласно литературным данным, примерно 85 % всех случаев рака связано с воздействием факторов окружающей среды, остальные же обусловлены вирусными, генетическими и другими эндогенными причинами. На выяснение причинно-следственных связей между уровнем загрязнения и состоянием здоровья населения, в частности, на установление устойчивой и статистически достоверной связи между наличием в воздухе определенного вещества и выраженностью того или иного вредного эффекта направлено все большее число исследований [2]. Одним из широко анализируемых веществ является диоксид азота, выступающий хорошим индикатором загрязнения атмосферы. Современные методы дистанционного зондирования Земли позволяют идентифицировать источники крупных эмиссий газа и исследовать экосистемы, подверженные его воздействию. Участие газа в образовании фотохимического смога и его высокая токсичность представляют собой большую опасность для населения. Так, диоксид азота вызывает хронические бронхиты, эмфизему легких, пневмосклероз с астмоидными приступами. У детей, живущих в условиях загрязненной оксидами азота атмосферы, обнаруживаются изменения в периферической крови, снижаются дыхательные функции, повышается заболеваемость органов дыхания [3] и опухолями центральной нервной системы [4]. Несоответствие масштабов техногенного воздействия на природную среду и мер по ее сохранению (в частности, нарастание площадей и объемов добычи нефти и газа с высокой степенью выработки месторождений, использование старых технологий, наличие опасных ядерно-химических объектов, скопление промышленных производств), а также слабый учет устойчивости природных ландшафтов к техногенным воздействиям (например, пренебрежение климатическими условиями рассеивания загрязнителей) приводят к напряженной экологической обстановке в Западно-Сибирском регионе, что делает вопрос исследования корреляционной связи тропосферной концентрации диоксида азота, присутствующего в большинстве типов техногенных выбросов, с уровнем заболеваемости населения на данной территории особенно актуальным.

Материал и методы. В анализе использованы среднемесячные данные тропосферного содержания диоксида азота из архива NASA GES DISC версии OMNO2d V003 с пространственным разрешением 0.25×0.25 град. за 2005–2016 гг., а также статистические данные Министерства здравоохранения Российской Федерации об общей и первичной заболеваемости по субъектам России в расчете на 100 000 взрослого населения.

Результаты. По результатам анализа показателей общей заболеваемости населения за 2005–2016 гг. выявлены основные регионы-лидеры (рис. 1, а, б).

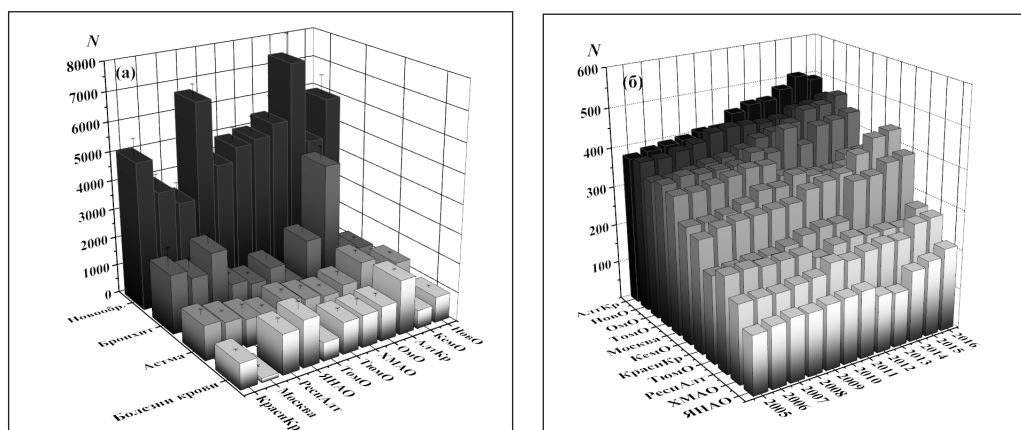


Рис. 1. (а) Показатели общей заболеваемости (новообразования, бронхит хронический и неутонченный, астма, болезни крови, кровотворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм) и (б) распределение числа впервые выявленных злокачественных новообразований у населения по регионам Западной Сибири за 2005–2016 гг.

По количеству болезней, связанных с различными новообразованиями, таковыми являются Новосибирская и Омская области, Алтайский край и Ямало-Ненецкий автономный округ (ЯНАО). По числу заболеваний бронхитом лидируют Алтайский край и Республика Алтай. Высокие показатели общей заболеваемости имеют место также для г. Москвы и Красноярского края, представленные на рис. 1, а, для сравнения. По числу впервые выявленных злокачественных новообразований лидируют Алтайский край, Новосибирская, Омская и Томская области. Наиболее благополучными с точки зрения развития злокачественных опухолей являются Республика Алтай, ХМАО и ЯНАО (рис. 1, б). Тем не менее для всех регионов Западной Сибири характерен положительный тренд, при этом среднегодовой темп прироста является одним из самых высоких среди других регионов России.

Коэффициенты корреляции между межгодовыми показателями первичной заболеваемости населения и тропосферного содержания диоксида азота за период 2005–2016 гг. представлены в табл. 1. Наиболее тесные связи выявлены для Новосибирской и Кемеровской областей, Алтайского края и ЯНАО. Для Омской и Тюменской областей эти связи оказались статистически незначимыми. Следует отметить, что такая взаимосвязь является весьма условной, поскольку воздействие исследуемого фактора на объект может иметь отложенный эффект.

Таблица 1

Коэффициенты корреляции между межгодовыми показателями первичной заболеваемости (злокачественные новообразования, новообразования, бронхит хронический и неуточненный, астма, болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм) населения и тропосферного содержания диоксида азота за период 2005–2016 гг.

	Злокачеств. новообр.	Новообр.	Болезни крови	Бронхит	Астма
Новосиб. область	–	–	0,26	–	0,70
Кемеров. область	0,64	0,42	0,57	0,69	0,71
Алтайский край	0,38	0,42	–	0,61	–
Омская область	–	–	–	–	–
ХМАО	–	–	0,44	–	–
Тюмен. область	–	–	–	–	–
Томская область	–	0,45	0,40	–	0,27
ЯНАО	0,46	–	–	0,58	–
Республика Алтай	0,38	–	–	0,51	–
Москва	0,30	–	0,41	–	0,54

Ранжирование регионов Западной Сибири по уровню среднегодовой концентрации диоксида азота за 12-летний период и соответствующих им среднегодовых показателей первичной заболеваемости взрослого населения позволило установить, что в регионах с наибольшей концентрацией диоксида азота риск поражения онкопатологией и астмой наиболее высок: коэффициенты корреляции равны 0,66 и 0,5 соответственно.

Выводы. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о наличии потенциальной зависимости уровня заболеваемости населения Западной Сибири от тропосферного содержания диоксида азота. Для получения более достоверных оценок, а также построения рисков и прогнозов необходим более продолжительный срок наблюдений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пинигин М.А. Состояние и перспективы количественной оценки влияния химического загрязнения атмосферы на здоровье населения. Гигиена и санитария. 2001; 80(5): 53–58.
2. Hamra G.B., Laden F., Cohen A.J., Raaschou-Nielsen O., Brauer M., Loomis D. Lung Cancer and Exposure to Nitrogen Dioxide and Traffic: A Systematic Review and Meta-Analysis. Environ. Health Perspect. 2015; 123(11): 1107–1112. doi: 10.1289/ehp.1408882.
3. Чеботарев П.А., Апросюхина И., Яскевич В.В., Козлова Л.И., Парчинская Т.В. Характеристика демографических процессов в городе Новополюе. Гигиена и санитария. 2004; 83(3): 17–19.
4. Вайтук С.А., Суцевич В.В., Змитрович А.И. Оценка риска заболеваемости опухолями центральной нервной системы детского населения Республики Беларусь. Здоровье населения и среда обитания. 2012; 3: 4–10.

ОСОБЕННОСТИ ЛОКАЛЬНОГО КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА

Н.С. Самойленко, Е.С. Бондаренко, Г.Ю. Егоров, Д.О. Каймакчи,
С.И. Полуктов, А.Г. Милакин, С.Г. Власов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Рак желудка относится к заболеваниям, при которых преимущественной локализацией отдаленных метастазов является брюшина и большой сальник. В настоящее время установлено, что способность опухоли к отдаленному метастазированию определяется условиями микроокружения, в т.ч. иммунологического, в областях метастазирования. Показано, что в первичной опухоли параллельно с формированием преметастатической ниши происходит формирование ниши, называемой опухолевой. Биологическим смыслом ее создания является обеспечение оптимальных условий для роста первичной опухоли. В данном исследовании под наблюдением находилось 15 больных раком желудка (8 мужчин и 7 женщин) в возрасте от 30 до 80 лет. У 7 больных наблюдалась III, у 8 – IV стадия заболевания с распространением по брюшине и большому сальнику. Изучался в сравнительном аспекте тканевой лимфоцитарный состав злокачественных опухолей желудка, перитуморальной зоны (ПЗ), а также сальника и брюшины. Так, в опухолевой ткани уровни CD3+CD4+ и DN клеток, а также соотношение CD4+/CD8+ оказались статистически достоверно выше, чем в ткани ПЗ, уровни CD3+CD8+ и CD19+ (В-клеток) были выше в ПЗ, чем в опухоли, хотя и статистически недостоверно вследствие широкой вариабельности индивидуальных данных. Лимфоцитарный состав непораженных сальника и брюшины, не различаясь между собой, имеет некоторые отличия от опухоли и ПЗ. Обнаруженные иммунологические особенности сальника и брюшины при раке желудка могут благоприятствовать процессу метастазирования в них.

Ключевые слова: рак желудка, метастазирование, локальный иммунитет.

CHARACTERISTICS OF LOCAL CELLULAR IMMUNITY IN STOMACH CANCER

N.S. Samoilenko, E.S. Bondarenko, G.Yu. Egorov, D.O. Kaimakchi,
S.I. Poluektov, A.G. Milakin, S.G. Vlasov

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Distant metastases to the peritoneum and large omentum are common in stomach cancer. The tumor ability to distant metastasis is determined by the microenvironment, including immunological one, in the sites of metastasis. Along with the formation of a pre-metastatic niche, a tumor niche is formed in the primary tumor. The biological cause of its creation is to provide optimal conditions for the primary tumor growth. The study included 15 patients with stomach cancer (8 men and 7 women) aged 30-80 years. 7 patients had stage III, and 8 patients – stage IV of the disease with metastases to the peritoneum and large omentum. Tissue lymphocyte subpopulations in stomach tumors, peritumoral tissues (PT) and tissues of the peritoneum and large omentum were compared. Levels of CD3+CD4+ and DN cells, as well as the CD4+/CD8+ ratio, in tumor tissues were statistically significantly higher than in PT; levels of CD3+CD8+ and CD19+ (B-cells) in PT were higher than in tumors, though the difference was insignificant due to a wide variability of individual data. Lymphocyte subpopulations in the unaffected omentum and peritoneum were similar, but differed from tumor tissues and PT. The revealed immunological characteristics of the large omentum and peritoneum in stomach cancer could favor the metastasis.

Keywords: stomach cancer, metastasis, local immunity.

Актуальность. Заболеваемость раком желудка в России находится на четвертом месте в структуре онкологической заболеваемости у мужчин (7,9 %) и пятом месте у женщин

(5,2 %), однако в структуре смертности от злокачественных новообразований он занимает 2-е место. Это свидетельствует о поздней диагностике рака желудка и агрессивном течении заболевания [1].

Рак желудка относится к заболеваниям, при котором преимущественной локализацией отдаленных метастазов является брюшина и большой сальник. Канцероматоз брюшины у больных с впервые выявленным раком желудка диагностируется в 30–40 % случаев, при выполнении оперативного вмешательства по поводу резектабельного рака желудка канцероматоз брюшины выявляется у 20 % больных, после радикально выполненных операций перитонеальный канцероматоз выявляется у 19 % пациентов [2]. Достижения фундаментальной онкологии последнего десятилетия привели к углублению понимания патогенеза процессов метастазирования злокачественных опухолей. Так, в настоящее время установлено, что способность опухоли к отдаленному метастазированию определяется условиями микроокружения, в т.ч. иммунологического, в областях метастазирования. Показано, что в первичной опухоли параллельно с формированием премеастигической ниши происходит формирование ниши, называемой опухолевой. Биологическим смыслом ее создания является обеспечение оптимальных условий для роста первичной опухоли [3]. Формирование метастатического очага и премеастигической ниши представлено цепочкой взаимосвязанных и последовательных процессов. Первым и наиболее частым органом-мишенью метастазирования при раке желудка является брюшина, в том числе и большой сальник. Несмотря на проводимые исследования, продолжают оставаться нерешенными многие вопросы патогенеза метастазирования рака желудка [4].

Состав локальных иммунологических факторов, в частности тканевых лимфоцитов, может играть существенную роль при злокачественных опухолях, рост и распространение которых связаны с полноценностью иммунного надзора за пролиферацией, что и определило актуальность нашего исследования.

Материал и методы. Под наблюдением находилось 15 больных раком желудка (8 мужчин и 7 женщин), возраст 30–80 лет. У 7 больных наблюдалась III, у 8 – IV стадия заболевания с распространением по брюшине и большому сальнику. У 14 больных выявлена аденокарцинома, у 1 перстневидно-клеточный рак. У всех больных первым этапом лечения был хирургический с удалением опухоли при отсутствии канцероматоза, либо диагностическая биопсия метастатических очагов, локализованных в брюшине и большом сальнике. Во время операции брались образцы опухолей, перифокальной зоны (визуально не измененных участков ткани на расстоянии 1–3, 2–3 см от первичной опухоли желудка) (ПЗ), а также как пораженные, так и визуально не измененные участки большого сальника и париетальной брюшины объемом 0,5–0,8 см³. Полученные образцы ex tempore гомогенизировали в среде 199. Лимфоцитарный состав определяли методом проточной цитометрии с помощью FACSCantoII (BD) и панели антител T-, B-, NK (CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD16/56), изучали также количественное содержание DN (CD3+CD4-CD8-), DP (CD3+CD4+CD8+) T-лимфоцитов и T-регуляторных (T-regs) клеток (CD4+CD25+CD127dim).

Результаты и обсуждение. Отмечен ряд различий между показателями локального клеточного иммунитета между опухолью и ПЗ. Так, в опухолевой ткани уровни CD3+CD4+ и DN клеток, а также соотношение CD4+/CD8+ оказались статистически достоверно выше, чем в ткани ПЗ (43,2±3,7 против 8,2±1,7 %, 6,1±1,4 против 2,8±1,3 % и 2,0±0,3 против 0,49±0,23; для всех показателей $p < 0,05$). При этом уровни CD3+CD8+ и CD19+ (B-клеток) были выше в ПЗ, чем в опухоли, хотя и статистически недостоверно вследствие широкой вариабельности индивидуальных данных. Лимфоцитарный состав непораженного сальника и брюшины, не различаясь между собой, имеет некоторые отличия от опухоли и ПЗ. В этих образцах по сравнению с ПЗ найдено больше CD3+CD4+, DN, NK-клеток и Tregs (27,6±2,2 против 8,46±2,6 %, 15,7±5,6 против 2,77±1,78 %, 14,0±2,3 против 4,1±2,55 % и 12,6±4,9 против 2,1±0,68 % соответственно; $p < 0,05$), а также меньше CD19+ лимфоцитов (3,25±1,4 против 43,4±25,2 %; $p < 0,05$); при этом в них по сравнению с тканью опухоли уровни DN и NK-клеток были выше (15,7±5,6 против 6,4±1,88 % и 14,0±2,3 против 5,33±2,0 %), а процент CD3+CD4+ ниже (27,6±2,2 против 43,7±4,77 %; $p < 0,05$).

Выводы. Обнаруженные иммунологические особенности сальника и брюшины при раке желудка могут благоприятствовать процессу метастазирования в них.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн АД., Старинский ВВ., Петров ГВ. Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году. Е.М. МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2016.
2. Кит О.И., Геворкян Ю.А., Ильченко С.А., Златник Е.Ю., Новикова И.А., Непомнящая Е.М., Солдаткина Н.В. Факторы локального иммунитета у больных раком желудка при применении химиотерапии с озонированными средами. Современные проблемы науки и образования. 2013; 5: 272.

3. Кит О.И., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Франциянц Е.М., Ильченко С.А., Дашков А.В., Малейко М.Л. Применение интраоперационной химиотерапии с озонированными средами в комплексном лечении больных раком желудка. Академический журнал Западной Сибири. 2013; 9(44): 23.

4. Кит О.И., Геворкян Ю.А., Франциянц Е.М., Дашков А.В., Солдаткина Н.В., Ильченко С.А., Павленко С.Г. Результаты химиотерапии с озонированными средами в комплексном лечении больных резектабельным раком желудка. Современные проблемы науки и образования. 2012; 6: 172.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ОЧАГОВЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ПЕЧЕНИ С ПОМОЩЬЮ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ

М.Ю. Санников^{1,2}, А.А. Ермакова², О.Ю. Бородин^{1,2,3}

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия²

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия³

Аннотация

Проведено исследование с получением амид-протонно-взвешенных изображений, помогающих в дифференциальной диагностике злокачественных и доброкачественных очаговых образований паренхимы печени.

Ключевые слова: очаговые образования печени, магнитно-резонансная томография, перенхима печени.

DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF FOCAL LESIONS IN LIVER USING MAGNETIC RESONANCE IMAGING

M.Yu. Sannikov^{1,2}, A.A. Ermakova², O.Yu. Borodin^{1,2,3}

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

Tomsk Regional Oncology Center, Tomsk, Russia²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia³

Abstract

A study was performed to produce amide-proton-weighted images that help in the differential diagnosis of malignant and benign focal lesions of the liver parenchyma.

Keywords: focal liver formations, magnetic resonance imaging, liver parenchyma.

Цель — исследовать показатели амид-протонного переноса намагниченности между доброкачественными и злокачественными образованиями печени.

Материал и методы. МРТ исследования проводились на базе высокопольного магнитно-резонансного томографа Toshiba Titan Octave напряжённостью магнитного поля 1,5 Тесла. Клиническая апробация проводилась на 10 пациентах с первичными опухолями различной локализации, 5 пациентах с первичным раком печени и 5 с доброкачественными образованиями, из которых по характеру динамического контрастного усиления у 10 пациентов выявлено 10 метастатических очагов, 5 очагов ГЦР (гистологически верифицированных) и 6 гемангиом. В стандартный протокол сканирования органов брюшной полости перед введением контрастного препарата проводилось 3 последовательности с эффектом переноса намагниченности, с параметрами внерезонансного радиочастотного импульса: смещение частоты импульса= $-/+200$ Гц и углом поворота=600° и последовательность без эффекта переноса намагниченности. Для оценки амид-протонного переноса намагниченности использовался коэффициент нормированной асимметрии переноса намагниченности (nMTRasym), рассчитанный по

формуле: $nMTR_{asym} = MTR_{asym}(\text{очаг}) - MTR_{asym}(\text{печень})$, где $MTR_{asym}(\text{очаг})$ и $MTR_{asym}(\text{печень})$ – коэффициент асимметрии переноса намагниченности очагового образования и нормальной паренхимы печени [1, 2]. Статистический анализ проводили с использованием SPSS версии 17.0. с использованием непараметрического критерия для независимых выборок (Kruskal-Wallis).

Результаты. Нами было выявлено и проанализировано 10 гемангиом, 5 ГЦР и 10 метастатических образований. Для сравнительного анализа амид-протонного переноса был рассчитан $nMTR_{asym}$, с расчетом медиан и квартилей. Настоящим исследованием показано, что полученный коэффициент $nMTR_{asym}$ для гемангиом, ГЦР и метастазов достоверно значимо отличается между собой ($p < 0,001$).

Выводы. Амид-протонный перенос намагниченности является полезным маркером в МР – визуализации, который добавляет ценность для обычного МРТ с контрастным усилением для дифференцировки очаговых образований печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chen M., Chen C., Shen Z., Zhang X., Chen Y., Lin F., Ma X., Zhuang C., Mao Y., Gan H., Chen P., Zong X., Wu R. Extracellular pH is a biomarker enabling detection of breast cancer and liver cancer using CEST MRI. *Oncotarget*. 2017; 8(28): 45759–45767.
2. Санников М.Ю., Бородин О.Ю., Ермакова А.А., Колотушкина А.А. Контрастная МРТ с эффектом переноса намагниченности в дифференциальной диагностике гемангиом и метастатических очагов печени. Медицинская визуализация. 2017: (1): 20–28.

ПЭТ/КТ ИССЛЕДОВАНИЕ В ДИАГНОСТИКЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ОБРАЗОВАНИЙ ЛЁГКОГО

**П.А. Сапожников, Н.Г. Афанасьева, Д.А. Важенина, А.С. Зотова,
А.С. Субботин, М.С. Чиркова, Д.Б. Калантаев, К.А. Богатенков**

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины», г. Челябинск, Россия

Аннотация

Исследование посвящено оценке возможности дифференцирования периферических образований в лёгком методом ПЭТ/КТ по стандартным методикам с применением радиофармпрепарата F18-фтордезоксиглюкоза, с болюсным контрастированием и выявлению корреляции коэффициента максимального поглощения (SUVmax) РФП 18F-ФДГ и уровня накопления контрастного вещества в различных периферических образованиях лёгкого в зависимости от гистологической структуры данных образований. Исследование показало, что по уровню значения данных показателей можно косвенно судить о наличии злокачественного или доброкачественного процесса.

Ключевые слова: периферические образования в легком, ПЭТ-КТ, SUVmax, уровень накопления контрастного вещества, корреляция.

POSITRON EMISSION TOMOGRAPHY AND COMPUTED TOMOGRAPHY A STUDY IN THE DIAGNOSIS OF PERIPHERAL LUNG FORMATIONS

**P.A. Sapozhnikov, N.G. Afanasyeva, D.A. Vazhenina, A.S. Zotova,
A.S. Subbotin, M.S. Chirkova, D.B. Kalantayev, K.A. Bogatenkov**

State Budget Health Institution «Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine», Chelyabinsk, Russia

Abstract

The study is devoted to the assessment of the possibility of differentiation of peripheral formations in a light PET / CT method using standard methods using the F18-fluorodeoxyglucose radiopharmaceutical, with bolus contrast and the correlation of the maximum absorption coefficient (SUVmax) of RFP 18F-FDH and the level of accumulation of contrast medium in various peripheral lung formations depending on the histological

structure of these formations. The study showed that the level of the values of these indicators can indirectly judge the presence of a malignant or benign process.

Keywords: peripheral formations in the lung, PET-CT, SUVmax, level of accumulation of contrast medium, correlation.

Актуальность. При выявлении очаговых периферических новообразований в лёгком необходимо своевременно определиться с характером данного образования для выбора адекватной тактики лечения. По литературным данным, в первичной диагностике онкологических заболеваний высока информативность метода ПЭТ-КТ. Исследователи отмечают, что по уровню накопления РФП в периферическом образовании лёгкого в ряде случаев можно предположить наличие доброкачественного процесса или злокачественной опухоли.

Материал и методы. В период с 2011 по 2016 г. было проведено 225 ПЭТ/КТ исследований пациентам с различными периферическими образованиями в лёгком. Гистологический тип опухоли верифицирован у 161 человека. ПЭТ/КТ исследования проводились на аппаратах Biograph 40 и Biograph 64, производства фирмы Siemens по стандартным методикам с применением РФП F18-ФДГ, с болюсным контрастированием. В каждом случае оценивались уровень показателя SUVmax и уровень накопления контрастного вещества в выявленном периферическом образовании лёгкого.

Были приняты следующие критерии стандартизированного уровня накопления РФП (SUVmax): низкий – до 2,5, умеренный – от 2,5 до 5 и высокий – более 5. Уровень накопления контрастного вещества оценивался как < 20 и > 20 . Проведен анализ показателя SUVmax в различных периферических образованиях лёгкого и определена зависимость коэффициента SUVmax и уровня накопления контрастного вещества от гистологической структуры образования.

Результаты и обсуждение. Исследование показало, что при уровне накопления РФП SUVmax $\leq 2,5$ и накоплении контрастного вещества < 20 в 87% случаев был диагностирован доброкачественный процесс. При SUVmax > 5 и накоплении контрастного вещества > 20 в 96,7% случаев установлен злокачественный характер заболевания, при уровне SUVmax от 2,5 до 5,0 и уровне накопления контрастного вещества > 20 в 92,8% случаев также выявлено злокачественное новообразование. Корреляционный анализ по Пирсону показал выраженную прямую корреляцию уровней накопления РФП и контрастного вещества при плоскоклеточном раке легкого; умеренную – при аденокарциноме и мезотелиоме. Выраженную обратную корреляцию при гемангиоме; умеренную обратную корреляцию при нейроэндокринных опухолях. При специфическом и неспецифическом воспалении корреляция отсутствовала.

Выводы. Результаты исследования показывают, что при выявлении периферического образования в лёгком ПЭТ/КТ исследование по стандартным методикам с применением РФП F18-фтордезоксиглюкоза, с болюсным контрастированием имеет определённую диагностическую ценность. Опираясь на значения показателя SUVmax и уровня накопления контрастного вещества, можно косвенно судить о наличии злокачественного или доброкачественного процесса. В нашем исследовании прямая корреляция была отмечена при плоскоклеточном раке лёгкого, аденокарциноме и мезотелиоме, обратная – при гемангиоме и нейроэндокринных опухолях. При специфическом и неспецифическом воспалении корреляция отсутствовала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chao F., Zhang H. PET/CT in the Staging of the Non-Small-Cell Lung Cancer. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2012, Article ID 783739, p.8
2. Кэплин М., Кволса Л. Нейроэндокринные опухоли: руководство для врачей. М.: Практическая медицина, 2010. 224.

ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КОРРЕКЦИИ НУТРИТИВНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БОЛЬНЫХ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ПИЩЕВОДА И ЖЕЛУДКА

А.Д. Сергиенко, Т.Ю. Смирнова

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Нутритивная недостаточность является одним из основных осложнений онкологического процесса. Недостаточность питания приводит к ухудшению непосредственных и отдаленных результатов лечения. Нутритивную поддержку следует рассматривать в качестве обязательного компонента сопроводительной терапии онкологических больных, что особенно актуально при локализации опухоли в верхних отделах ЖКТ. Приведены данные протокола нутритивной терапии, применяемого в МНИОИ им. П.А.Герцена.

Ключевые слова: нутритивная недостаточность, нутритивная поддержка, энтеральное питание, нутритивная поддержка при опухолях желудка и пищевода.

RESULTS OF MALNUTRITION CORRECTION IN PATIENTS WITH MALIGNANT TUMORS OF THE ESOPHAGUS AND STOMACH

A.D. Sergienko, T.Yu. Smirnova

MORI P.Herzen Moscow Oncology Research Institute, Moscow, Russia

Abstract

Malnutrition is one of the main complications of the oncological process. It leads to poorer immediate and late treatment results. Nutritional support should be considered as a mandatory component of supportive therapy in cancer patients, which is particularly relevant for a tumor in the upper gastrointestinal tract. The paper gives the data of protocol, which is used at the P.A.Herzen Moscow Oncology Research Institute.

Keywords: Malnutrition, nutrition support, enteral nutrition, nutrition support for gastric and esophageal tumors.

Нутритивная недостаточность (НН) является одним из основных осложнений онкологического процесса и достигает 40–80 % [1, 2]. Недостаточность питания приводит к ухудшению непосредственных и отдаленных результатов лечения [3, 4], ухудшению качества жизни больных, невозможности реализации протоколов комбинированного и комплексного лечения [5]. Все вышесказанное диктует необходимость нутритивной поддержки в качестве обязательного компонента сопроводительной терапии онкологических больных, что особенно актуально при локализации опухоли в верхних отделах ЖКТ.

В период с 2016 по 2017 г. в торако-абдоминальном отделении МНИОИ им. П.А. Герцена проведен анализ клинических данных 30 пациентов со злокачественными опухолями желудка и пищевода. Пациенты разделены на 2 группы: в основной группе (n=15) больные получали нутритивную поддержку изокалорическими сиппинговыми смесями на предоперационном этапе в течение 10–12 дней. В контрольную группу (n=15) вошли больные, отказавшиеся от приема смесей. Обе группы сопоставимы по объему хирургических вмешательств. В основной группе преобладали дистальные субтотальные резекции желудка (ДСРЖ) – 9, чрезбрюшинная гастрэктомия (ЧГЭ) – 4, одномоментная резекция и пластика пищевода (ОРПП) – 2. В контрольной группе было следующее распределение: ДСРЖ – 8, проксимальная субтотальная резекция желудка – 1, ОРПП – 1, ЧГЭ – 5.

При сравнении результатов клинических данных обеих групп отмечается более раннее разрешение пареза кишечника в основной группе (2-е сут vs 5-е сут), проявляющееся в виде раннего появления перистальтики и появления самостоятельного стула. По данным лабораторных анализов: уровень общего белка на 3-и сут после операции был выше в контрольной группе (62,7 и 55,8 г/л соотв.), что обусловлено циркуляцией большого количества острофазовых белков. Уровень альбумина был выше в основной группе (42,7 – до операции, 29,2 г/л – на 3 сут), чем в контрольной (40,2 – до операции, 28,6 г/л – на 3-и сут). Абсолютное число лимфоцитов (АбсЧЛ) в основной группе укладывалось в норму даже в ранние сутки послеоперационного периода (до операции – $2,38 \times 10^9/\text{л}$, на 3-и сут – $1,2 \times 10^9/\text{л}$), у контрольной группы значения были ниже (до операции – $1,3 \times 10^9/\text{л}$, на 3-и сут – $1 \times 10^9/\text{л}$). К 7-м сут значения АбсЧЛ в двух группах сопоставимы – $1,28 \times 10^9/\text{л}$. Длительность госпитализации в основной группе была меньше, чем в контрольной (13 сут vs 16 сут соотв.)

Своевременная диагностика НН и назначение нутритивной терапии является одним из важных компонентов сопроводительной терапии, способным влиять на исходы лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nitenberg G., Raynard B. Nutritional support of the cancer patient: issues and dilemmas. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2000; 34(3):137–168. doi: 10.1016/S1040-8428(00)00048-2.
2. Lees J. Incidence of weight loss in head and neck cancer patients on commencing radiotherapy treatment at a regional oncology centre. *Eur J Cancer Care (Engl)* 1999; 8(3): 133–136. doi: 10.1046/j.1365-2354.1999.00156.x
3. Barret M., Malka D., Aparicio T., Dalban C., Locher C., Sabate J.M., Louafi S., Mansourbakht T., Bonnetain F., Attar A., Taieb J. Nutritional status affects treatment tolerability and survival in metastatic colorectal cancer patients: results of an AGO prospective multicenter study. *Oncology* 2011; 81 (5–6): 395–402. doi:10.1159/000335478.
4. Dewys W.D., Begg C., Lavin P.T. Prognostic effect of weight loss prior to chemotherapy in cancer patients. Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Med* 1980; 69(4): 491–497. doi: 10.1016/s0149-2918(05)80001-3
5. Tian J., Chen J.S. Nutritional status and quality of life of the gastric cancer patients in Changle County of China. *World J Gastroenterol* 2005; 11(11): 1582–1586. doi: 10.3748/wjg.v11.i11.1582.

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА BRN-3α В РАЗВИТИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Е.А. Сиденко

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия

Аннотация

Brn-3α играет важную роль в развитии злокачественных новообразований. Цель исследования заключалась в изучении содержания и экспрессии транскрипционного фактора Brn-3α в тканях злокачественных новообразований предстательной и щитовидной желез, а также рака почки. В результате проведенного исследования выявлена зависимость уровня экспрессии и содержания транскрипционного фактора Brn-3α от вида опухоли и особенностей течения заболевания. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о том, что роль транскрипционного фактора Brn-3α в развитии злокачественных новообразований различна и зависит от происхождения опухоли и её особенностей.

Ключевые слова: транскрипционный фактор Brn-3α, рак предстательной железы, рак щитовидной железы, рак почки.

THE ROLE OF THE TRANSCRIPTION FACTOR BRN-3α IN THE CANCER DEVELOPMENT

Е.А. Sidenko

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract

Brn-3α plays an important role in the cancer development. The aim of the research was to study the content and expression of the transcription factor Brn-3α in the tissues of cancers the prostate, thyroid and kidney. As a result of the research was revealed the dependence of the expression level and the content of the transcription factor Brn-3α on the type of tumor and progression of the disease. Based on the data received, it can be concluded that the role of the transcription factor Brn-3α in the cancer development is different and depends on the origin and characteristics of the tumor.

Keywords: transcription factor Brn-3α, prostate cancer, thyroid cancer, kidney cancer.

В настоящее время показано, что транскрипционный фактор Brn-3α участвует в различных процессах онкогенеза, таких как апоптоз, регуляция пролиферации и дифференцировки опухолевых клеток [1–3]. Brn-3α способен активировать ряд сигнальных путей, отвечающих за метаболизм, пролиферацию и уход от апоптоза раковых клеток [4–6]. Однако не выявлены особенности экспрессии и содержания данного показателя при злокачественных новообразованиях различного происхождения. В связи с этим **цель исследования** заключалась

в изучении уровня мРНК и содержания ядерного фактора Brn-3α в опухолях щитовидной, предстательной железы и рака почки.

В исследование было включено 62 больных с местнораспространённым раком предстательной железы (РПЖ) T1–4N0–1M0–1, 30 больных с папиллярным раком щитовидной железы (РЩЖ) T1–4N0–2M0 и 70 пациентов с почечноклеточным раком (РП) T1–4N0–1M0–1. Уровень экспрессии гена оценивали при помощи количественной обратной-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) по технологии Sybr Green. Разделение белков осуществлялось в 13 % полиакриламидном геле по Laemmli, с использованием первичных антител anti-BRN3α (Abcam, USA).

При изучении экспрессии мРНК и содержания транскрипционного фактора Brn-3α в опухолях различного происхождения выявлена зависимость его уровня от вида опухоли и особенностей течения заболевания. Показано, что в ткани РПЖ отмечена наиболее высокая экспрессия гена Brn-3α, которая была выше этого показателя в 9,8 и 3,2 раза по сравнению с тканями РЩЖ и РП соответственно. Экспрессия Brn-3α в ткани РП в 3 раза превышала таковую в ткани РЩЖ. При этом в ткани РПЖ содержание Brn-3α было снижено в 9,9 и 9,1 раза в сравнении с РЩЖ и РП соответственно. Получены данные о связи экспрессии и содержания изучаемого белка с клинико-морфологическими параметрами заболевания. Так, при увеличении размеров опухоли почки наблюдалось повышение экспрессии Brn-3α в 2 раза. Развитие РЩЖ и РПЖ с поражением регионарных лимфоузлов протекало на фоне падения уровня мРНК транскрипционного фактора Brn-3α в 3,4 и 14,5 раза соответственно. При этом увеличение опухоли щитовидной и предстательной желёз сопровождалось снижением содержания Brn-3α в 1,4 и 340,5 раза соответственно. Стоит отметить, что развитие метастатического рака почки протекало на фоне повышения содержания транскрипционного фактора Brn-3α в 5,7 раза по сравнению с пациентами без отдалённых метастазов.

В результате проведенного исследования выявлены однонаправленные изменения изучаемых показателей с ростом опухоли и появлением регионарных и отдалённых метастазов. Высокие показатели экспрессии Brn-3α в ткани РПЖ сочетались с низким содержанием его белкового продукта. При этом увеличение размеров опухоли связано со снижением содержания данного фактора, а появление регионарных метастазов – с уменьшением уровня его мРНК. Сходные результаты были выявлены и для РЩЖ. Однако для РП показано увеличение экспрессии Brn-3α при увеличении размеров опухоли и при развитии отдалённых метастазов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Budhram-Mahadeo V., Fujita R., Bitsi S., Sicard P., Heads R. Co-expression of POU4F2/Brn-3b with p53 may be important for controlling expression of pro-apoptotic genes in cardiomyocytes following ischaemic/hypoxic insults. *Cell Death and Disease*. 2014; 5: 1503. doi:10.1038/cddis.2014.452.
2. Berwick D.C., Diss J.K., Budhram-Mahadeo V.S., Latchman D.S. A simple technique for the prediction of interacting proteins reveals a direct Brn-3a-androgen receptor interaction. *J Biol Chem*. 2010; 285(20): 15286–15295. doi: 10.1074/jbc.M109.071456.
3. Shazia I.R., Barbara P., John A., Latchman D.S., Vishwani B.M. The Brn-3b transcription factor regulates the growth, behavior, and invasiveness of human neuroblastoma cells in vitro and in vivo. *Biol. Chem*. 2004; 279: 21617–21627.
4. Ha S., Ruoff R., Kahoud N., Franke T.F., Logan S.K. Androgen receptor levels are upregulated by Akt in prostate cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2011 Mar; 9; 18(2): 245–55. doi: 10.1530/ERC-10-0204.
5. Spirina L.V., Gorbunov A.K., Chigevskaya S.Y., Usynin Y.A., Kondakova I.V., Slonimskaya E.M., Usynin E.A., Choinzonov E.L., Zaitseva O.S. Transcription factor Brn-3a mRNA in cancers, relationship with AR, ER receptors and AKT/m-TOR pathway components. *AIP Publishing*, 2017; 1882(1): 020071.
6. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Усынин Е.А., Юрмазов З.А. Регуляция экспрессии транскрипционных факторов и фактора роста эндотелия протеосомной системой при метастазировании рака почки. *Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН*. 2012; 23(1): 27–32.

РЕКОНСТРУКЦИИ ПОСТРЕЗЕКЦИОННЫХ ДЕФЕКТОВ НА ХИРУРГИЧЕСКОМ ЭТАПЕ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЯМИ КОСТЕЙ

П.К. Ситников, С.А. Табакаев

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В исследование включено 24 пациента с опухолевым поражением костей, которым выполнялась пластика пострезекционного дефекта различными костно-пластическими материалами, у 13 из них

выполнялась криодеструкция стенок остаточной полости жидким азотом. Всем пациентам проводилась визуальная оценка зоны оперативного вмешательства с помощью рентгенографии и компьютерной томографии в ближайшие сроки после оперативного вмешательства и через 1, 3, 6, 9 и 12 мес. Было установлено, что применение композитных пластических материалов способствует формированию костной ткани в более быстрые сроки, чем применение аутокости. Регистрируемые изменения плотности пластического материала, выявляемые с помощью компьютерной томографии, могут быть использованы как критерии для сокращения сроков и улучшения качества лечебно-восстановительных реабилитационных мероприятий. Использование композитных пластических материалов позволило восстановить функцию оперированной кости в 100 % случаев.

Ключевые слова: опухолевое поражение костей, пострезекционный дефект, криодеструкция, костно-пластические материалы.

RECONSTRUCTION OF POST-RESECTION DEFECTS AT THE SURGICAL STAGE OF TREATMENT OF PATIENTS WITH BONE TUMORS

P.K. Sitnikov, S.A. Tabakaev

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia

Abstract

The study included 24 patients with tumor lesions of bones, who underwent plastic post-resection defect of various bone-plastic materials, 13 of them performed cryodestruction of the walls of the residual cavity with liquid nitrogen. All patients underwent visual assessment zone of the surgical intervention using x-ray and computed tomography as soon as possible after surgery and after 1, 3, 6, 9 and 12 months. It was found that the use of composite plastic materials promotes the formation of bone tissue in a faster time than the use of autologous bone. Recorded changes in the density of plastic material detected by computed tomography can be used as criteria to reduce the time and improve the quality of treatment and rehabilitation measures. The use of composite plastic materials made it possible to restore the function of the operated bones in 100 % of cases.

Keywords: tumor lesion of the bone, cryosurgery, post-resection defect, bone-plastic materials.

Актуальность. Опухолевое поражение костей является редкой патологией. Частота первичных злокачественных опухолей костей не превышает 1,5 % от всех опухолевых поражений скелета человека [1, 2]. Доброкачественные опухоли костей встречаются в 2–3 раза чаще, чем злокачественные, и составляют 2,5–3 % от всех опухолей скелета [2]. Метастатическое поражение скелета занимает 3-е место, после метастазов в легкие и печень, и составляет около 96 % всех новообразований костной системы [2, 3]. Хирургический этап лечения опухолевого поражения костей является основным [1, 2, 3], но он нередко сопряжен с дополнительными видами интраоперационного лечебного воздействия: термообработкой, ультразвуковой и радиочастотной абляцией [2, 3]. Удаление опухоли при органосохраняющих операциях предусматривает последующую реконструкцию пострезекционных дефектов [1, 2, 3]. В мире применяются 3 класса пластических материалов – натуральные, искусственные и композитные. Современные композитные материалы, обладая биоактивными свойствами и сходным химическим и структурным составом с костью, вызывают наибольший интерес для замещения костных дефектов [4, 5]. Несмотря на многообразие материалов, используемых для костной пластики, все они изучались и апробировались преимущественно в условиях челюстно-лицевой хирургии и стоматологии, травматологии, ортопедии и нейрохирургии [5]. Не существует четких рекомендаций по применению конкретных костно-пластических материалов после выполнения различных вариантов хирургического и комбинированного лечения опухолевого поражения костей. Производителями, как правило, не учитывается влияние дополнительных методов лечебного воздействия на имплант, пораженную кость и окружающие ее ткани, тогда как снижение локальной и общей резистентности организма у больных онкологического профиля, могут существенно влиять на процессы адаптации элементов костной пластики, замедляя костную интеграцию импланта. Объективная оцен-

ка состояния пластического материала необходима для определения оптимальных сроков контрольных осмотров, выбора лечебной тактики в целом и для определения адекватной физической нагрузки на оперированную конечность. Все вышесказанное свидетельствует о том, что анализ состояния используемых пластических материалов в зоне пострезекционных костных дефектов в условиях применения дополнительного лечебного воздействия в настоящее время является актуальной задачей.

Цель исследования – оценить возможности использования и обосновать выбор различных пластических материалов при реконструкции дефектов после хирургического и комбинированного лечения больных опухолями костей на основании клинико-рентгенологических данных.

Материал и методы. Обследовано 24 больных с морфологически верифицированным опухолевым поражением костей. Всем пациентам проводилось хирургическое лечение в объеме удаления опухоли с резекцией кости в пределах здоровых тканей, из них 13 пациентам была выполнена интраоперационная криодеструкция стенок остаточной полости жидким азотом 3 циклами с экспозицией замораживания 1 мин, с последующим самопроизвольным оттаиванием. Всем пациентам выполнялась пластика пострезекционного дефекта. У 18 пациентов применялись биокомпозитные костно-пластические материалы: остеоматрикс – 7 (29,1 %), BoneMedik-S – 11 (45,9 %), аутотрансплантат и медицинский цемент в равном проценте случаев – 12,5 % и 12,5 % соответственно. Оценка структуры и плотности оперированной кости и пластического материала, темпы и степень резорбции последнего проводились на основании КТ-денситометрии через 1, 3, 6, 9, 12 мес после хирургического лечения. Компьютерная томография выполнялась на аппарате «Somatom Emotion 6». Общее функциональное состояния больных оценивалось с помощью шкалы Карновского в сроки динамического наблюдения.

Результаты. По данным КТ-денситометрии изменения плотности по границам резекции в виде более быстрого нарастания зон остеосклероза были отмечены у пациентов, которым применялась криодеструкция. У пациентов, где для замещения дефекта использовалась аутокость, отмечались медленная резорбция и остеорепарация. При применении композитных материалов, напротив, отмечались более быстрая резорбция последних и образование зон остеорепарации. За период наблюдения рецидива не было выявлено не у одного пациента. Анализ функциональных результатов показал, что через месяц после хирургического лечения с пластикой пострезекционного дефекта все пациенты способны осуществлять большую часть своих потребностей, но порой нуждаются в посторонней помощи, что соответствует 60–70 % по шкале Карновского. Через 3 мес 20 пациентов были способны к легкой работе, что соответствует 80 %, остальные 4 (60–70 %) нуждались в помощи и были не способны к нормальной работе. Контрольные осмотры в полгода показали, что ограничение двигательной функции наблюдалось в 1 случае – 60 %, 5 пациентов полностью восстановили функцию – 100 %, 18 пациентов способны к самообслуживанию и выполнению нормальной работы 80–90 % по шкале Карновского. Удалось добиться полного восстановления функции оперированной конечности у 23 пациентов – 90–100 %, 1 больной обслуживает себя самостоятельно, но не способен к нормальной деятельности – 70 % по шкале Карновского через 12 мес после операции.

Выводы. Таким образом, было установлено, что применение композитных пластических материалов способствует формированию костной ткани в более быстрые сроки, чем применение аутотрансплантатов, что, в свою очередь, может способствовать сокращению сроков нетрудоспособности и улучшения качества лечебно-восстановительных реабилитационных мероприятий. Отмечено, что после применения криодеструкции регистрируются характерные изменения в виде склерозирования полости по краям резекции, свидетельствующие о дополнительном физическом факторе воздействия. Анализ функциональных результатов показал, что при использовании композитных пластических материалов, как и при аутокости, восстановления функции оперированной кости удалось достичь в 100 % случаев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев М.Д., Сушенцов Е.А. Современная онкоортопедия. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2013; 3: 3–9.
2. Andreou D., Henrichs M.P., Gosheger G., Nottrott M., Streibbürger A., Hudes J. Neue Operationsverfahren bei Knochentumoren. Der Pathologe. 2014 Nov; 35(2): 232–236. doi: 10.1007/s00292-014-2004-1.
3. Freeman A.K., Sumathi V.P., Jeys L. Metastatic tumors of bone. Surgery (Oxford). 2015 Jan; 33(1): 34–39. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2014.10.005>.
4. Кирилова И.А., Садовой М.А., Подорожная В.Т. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства. Хирургия позвоночника. 2012; 3: 72–83.
5. Шумилова А.А., Шишачкина Е.И. Материалы для восстановления костной ткани. Журнал сибирского федерального университета. 2014; 2(7): 209–221

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВИДЕОАССИСТИРОВАННЫХ И ПЛОСКОСТНЫХ РЕЗЕКЦИЙ ЛЕГКИХ ПРИ МЕТАСТАЗЭКТОМИЯХ

Е.И. Смоленов

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Россия

Аннотация

Операции с использованием эндовидеохирургической техники являются минимально инвазивными и с каждым годом все чаще применяются при лечении рака легкого и доброкачественных поражений. Но внедрение видеоассистированной торакоскопии (ВАТС) в метастазэктомии легких остается спорным при единичных и множественных очагах в паренхиме. Мы провели сравнительный анализ результатов операций с использованием ВАТС-технологий и сшивающих аппаратов при стандартной боковой торакотомии на основе интраоперационных данных.

Ключевые слова: метастазэктомия, ВАТС, хирургия легких, метастазы в легких.

PULMONARY METASTASECTOMY: VIDEO-ASSISTED VERSUS OPEN SURGERY

E.I. Smolenov

A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Abstract

Video-assisted thoracoscopic surgery (VATS) is minimally invasive procedure. This method is more often used in the treatment of lung cancer and benign lesions. But the application of VATS in pulmonary metastasectomy remains controversial, especially with single and multiple metastases. We aim to analyses of surgery with using thoracoscopic surgery and the use of staplers under standard thoracotomy.

Keywords: metastasectomy, VATS, thoracic surgery, pulmonary metastases.

Актуальность. За последние десятилетия у хирургов появляется все больше новых методов воздействия на легочную паренхиму, таких как термо- и криоабляция, лазеры, эндоскопические вмешательства [1, 2]. При выполнении видеоторакоскопического удаления внутрилегочных метастазов отмечают значительные преимущества: меньший срок нахождения в стационаре, менее выраженный послеоперационный болевой синдром и меньший восстановительный период, по сравнению с торакотомным доступом [3]. По результатам исследований при солитарном и единичных метастазах в легких показатель общей выживаемости не отличается между ВТС-хирургией и открытым доступом.

Материал и методы. В анализ было включено 59 пациентов. Критерии отбора для операции являлись стандартными: возможность радикального удаления очагов в легких, контроль над первичным очагом, отсутствие иных метастазов и удовлетворительный общесоматический статус. Все операции были выполнены под эндотрахеальным наркозом с использованием двухпросветной интубационной трубки и односторонней вентилиацией. Всем пациентам было выполнено органосохраняющее лечение – плоскостная или клиновидная резекция легкого. Согласно проведенному лечению, больные распределены на две группы. В группу А были включены пациенты, где операционным доступом являлась торакоскопия, для выполнения хирургического вмешательства использовался эндоскопический сшивающий аппарат Echelon, в группу В – боковой торакотомный доступ и применение сшивающих аппаратов УО-40 или УО-60.

Результаты. В исследование включены 59 пациентов, в группу А – 35 пациентов, в группу В – 24. Мужчин было 31 (52,5 %), женщин – 28 (47,5 %). Средний возраст составил $52,4 \pm 2,0$ года (диапазон от 16 до 79 лет). По результатам дооперационного обследования, включающего в себя спиральную компьютерную томографию органов грудной клетки у 3 (8,5 %) пациентов в группе А и у 4 (16,6 %) в группе В, было диагностировано билатеральное поражение легких.

Суммарно была выполнена 41 операция у пациентов в группе А и 29 хирургических вмешательств в группе В. Общее число удаленных очагов составило 50 и 55 соответственно. В группе с применением ВАТС продолжительность операции составила 63 мин, среднее время нахождения дренажных трубок – 1,4 сут (95 % ДИ: 1,1–1,6), в 11 (26,8 %) случаях дренажи стояли более 1 сут. В группе В данные показатели достоверно выше, по причине большего количества удаляемых очагов – 1,89 (95 % ДИ: 1,34–2,44) против 1,21 (95 % ДИ: 0,99–1,44) в группе А ($p < 0,05$).

Показатель	Группа А (n=41)	Группа В (n=29)	
Время операции, минут (95 % ДИ)	63,6 (55; 72)	110,8 (94; 126)	$p < 0,01$
Среднее число удаленных очагов (95 % ДИ)	1,21 (0,99; 1,44)	1,89 (1,34; 2,44)	$p < 0,05$
Время нахождения дренажей, сут (95 % ДИ)	1,4 (1,1; 1,6)	2,48 (2,0; 2,9)	NS
Средний объем экссудата в 1 сут, мл (95 % ДИ)	147 (105; 190)	343 (231; 456)	$p = 0,01$

В раннем послеоперационном периоде было 3 (7,3 %) осложнения в группе А и 7 (24,1 %) в группе В. При использовании классификации Clavien – Dindo в группе А и В было по 2 осложнения степени I и по одному осложнению степени IIIb (в обоих случаях внутриплевральное кровотечение, требующее повторного хирургического вмешательства). Осложнения степени II были зафиксированы в 4 случаях у пациентов с применением стандартных сшивающих аппаратов. Послеоперационной летальности не было.

Выводы. Использование эндохирургических технологий при метастазэктомии легких оправдано при солитарных очагах. Видеоассистированные операции сопровождаются ранним удалением дренажей и меньшим количеством послеоперационных осложнений, по сравнению со стандартными сшивающими аппаратами и торакотомным доступом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Смоленов Е.И., Рагулин Ю.А. Лазеры в торакальной хирургии. Лазерная медицина. 2015; 19(3): 57–62.
2. Стародубцев А.Л., Рагулин Ю.А., Курильчик А.А., Зубарев А.Л., Иванов В.Е., Усачёв В.С., Медведев Ф.В. Отдалённые результаты комбинированного лечения метастазов сарком опорно-двигательного аппарата в лёгких. Злокачественные опухоли. 2014; 3(10): 48–51.
3. Сигал Е.И., Жестков К.Г., Бурмистров М.В., Пикин О.В. Торакоскопическая хирургия. М.: Дом книги, 2012; 352.

МУТАЦИИ В ГЕНАХ SDHX ПРИ КАРОТИДНЫХ ПАРАНГЛИОМАХ

А.В. Снежкина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, г. Москва, Россия

Аннотация

Каротидные паранганглиомы – это редкие нейроэндокринные опухоли головы и шеи. Изучение генетических особенностей каротидных паранганглиом является актуальной задачей и поможет лучше понять механизмы образования и прогрессирования этого заболевания. В работе проведено высокопроизводительное секвенирование экзона каротидных паранганглиом. Идентифицированы мутации в генах SDHx: SDHA, SDHB, SDHC и SDHD. Большинство выявленных мутаций являются патогенными или потенциально патогенными и могут участвовать в развитии этих опухолей.

Ключевые слова: каротидные паранганглиомы, мутации, SDHx, экзон, высокопроизводительное секвенирование.

MUTATIONS IN SDHX GENES IN CAROTID PARAGANGLIOMAS

A.V. Snezhkina

Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Abstract

Carotid paragangliomas are rare neuroendocrine tumors of head and neck. Genetic study of carotid paragangliomas is an actual issue that can contribute to understanding of mechanisms of its development and progression. In the work, exome analysis of carotid paragangliomas was performed using next generation sequencing. Mutations in SDHx genes (SDHA, SDHB, SDHC, and SDHD) were identified. Most of these mutations are pathogenic or potentially pathogenic and may be involved in carotid paraganglioma carcinogenesis.

Keywords: carotid paragangliomas, mutations, SDHx, exome, next generation sequencing.

Актуальность. Каротидные параганглиомы относятся к опухолям нехромаффинных параганглиев и развиваются из каротидного тельца в области бифуркации сонной артерии. Параганглиомы чаще возникают спорадически, однако около 30–40 % этих опухолей связаны с наследственными опухолевыми синдромами. Одной из особенностей параганглиом являются мутации в генах SDHx (SDHA, SDHB, SDHC и SDHD) [1], кодирующие субъединицы сукцинатдегидрогеназы – комплекса ферментов, участвующего в энергетическом метаболизме, в то время как большинство опухолей ассоциированы с мутациями в генах, кодирующих транскрипционные факторы и компоненты сигнальных путей. Изучение роли генов SDHx в возникновении и прогрессии каротидных параганглиом является актуальным, так как позволит лучше понять патогенез этого заболевания.

Материал и методы. В исследовании использовались 52 образца опухолевых тканей каротидных параганглиом, заключенных в парафиновые блоки. Образцы собраны и охарактеризованы в Институте хирургии имени А.В. Вишневского Министерства здравоохранения Российской Федерации. Выделение ДНК проводилось с помощью набора «High Pure FFPE DNA Isolation Kit» фирмы Roche (Швейцария). Подготовку экзомных библиотек осуществляли с помощью набора «Nextera Rapid Capture Exome Kit» фирмы Illumina (США) согласно протоколу производителя. Высокопроизводительное секвенирование проводили в режиме парных прочтений (76 + 76) на приборе NextSeq 500 System (Illumina) на базе ЦКП «Геном» ИМБ РАН (http://www.eimb.ru/rus/ckp/ccu_genome_c.php). Для идентификации мутаций использовали программы vcfilter пакета vcflib, для аннотации вариантов – SnpSift пакета snpEff. Базы данных dbSNP, dbNSFP, ClinVar, MutationTaster, SIFT, PolyPhen-2, FATHMM, phastCons, PhyloP, 1000 Genomes Project, ExAC, COSMIC, GO, ConsensusPathDB и OMIM использовали в качестве информационных ресурсов.

Результаты. Выявлены потенциальные драйверные мутации в генах SDHx: SDHA, SDHB, SDHC и SDHD. В гене SDHA идентифицирована одна мутация – NM_004168: c.792C>A, p.(Phe264Leu) (chr5:231012). В базах данных dbSNP, ClinVar, Cosmic и Ensembl эта мутация отсутствует, однако, согласно предсказательным ресурсам, данная мутация является потенциально патогенной. В гене SDHB выявлено четыре мутации. Мутации NM_003000: c.541-2A>G (chr1:17350571, rs786201161) и NM_003000: c.724C>T, p.(Arg242Cys) (chr1:17349144, rs786203251) описаны как наследственные патогенные (потенциально патогенные). Эти мутации ассоциированы с наследственными опухолевыми синдромами, параганглиомами и феохромоцитомами [2–3], лейкоэнцефалопатией [4], раком почки [5] и наследственными гастроинтестинальными стромальными опухолями (ГИСО). Для двух других мутаций (NM_003000: c.233A>G, p.(Lys78Arg) (chr1:17359608, rs774960237) и NM_003000: c.763A>T, p.(Lys255*) (chr1:17349105)) клиническая значимость не показана. В трех образцах каротидных параганглиом обнаружены мутации в гене SDHC, причем один из образцов содержал две разные мутации (NM_003001: c.224G>A, p.(Gly75Asp) (chr1:161310428, rs786205147) и NM_003001: c.7G>A, p.(Ala3Thr) (chr1:161284202, rs748243732)). Эти мутации описаны как наследственная потенциально патогенная и мутация с неизвестной клинической значимостью соответственно. Последняя согласно PolyPhen-2 и LRT предсказана как потенциально патогенная. Нонсенс-мутация NM_003001: c.183G>A, p.(Trp61*) (chr1:161310387) в гене SDHC обнаружена в одном образце каротидных параганглиом. Эта мутация описана в базе данных

HGMD как мутация с неизвестным клиническим значением. Однако можно предположить, что мутация является потенциально патогенной, так как приводит к образованию стоп-кодона в открытой рамке считывания (ОРС). Также в гене SDHC обнаружена делеция NM_003001: c.409delT, p.(Trp137fs) (chr1:161332121), не описанная в базах данных. Она приводит к сдвигу ОРС, что указывает на ее потенциальное патогенное действие. В семи образцах каротидных параганглиом выявлены мутации в гене SDHD. В двух образцах – нонсенс-мутация (NM_003002: c.112C>T, p.(Arg38*)) (chr11:111958640, rs80338843), описанная в базах данных как наследственная патогенная мутация, ассоциированная с наследственными формами параганглиом, феохромоцитом и ГИСО (Baysal et al., 2000; Neumann et al., 2002). Мутация NM_003002: c.205G>T p.(Glu69*) (chr11: 111959626) обнаружена в одном образце. В базах данных эта мутация отсутствует, однако мутация в том же кодоне описана как наследованная патогенная [6]. Три другие мутации (NM_003002: c.217dupA, p.(Ser73fs) (chr11:111959637), NM_003002: c.220_228delGTT TTG CTCinsT, p.(Val74fs) (chr11: 111959639) и NM_003002: c.13dupT, p.(Trp5fs) (chr.11: 111957643)) приводят к сдвигу ОРС и являются патогенными. Наследственные мутации в том же кодоне связаны с наследственной феохромоцитомой [7]. Мутация NM_003002: c.210G>C, p.(Arg70Ser) обнаружена в одном образце каротидных параганглиом. Эта мутация в базах данных отсутствует, однако похожая мутация в том же кодоне описана в ClinVar и Cosmic, и является наследственной патогенной согласно данным FATHMM, SIFT, PolyPhen-2, MutationTaster и LRT.

Выводы. Высокопроизводительное секвенирование экзона каротидных параганглиом позволило выявить мутации в генах SDHx, большинство из которых являются патогенными или потенциально патогенными и могут быть связаны с возникновением и прогрессией этого заболевания.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-20105).

ЛИТЕРАТУРА

1. Baysal B.E., Ferrell R.E., Willett-Brozick J.E., Lawrence E.C., Myssiorek D., Bosch A., van der Mey A., Taschner P.E., Rubinstein W.S., Myers E.N., Richard C.W., Cornelisse C.J., Devilee P., Devlin B. Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science*. 2000 Feb 4; 287(5454): 848–51. doi: 10.1126/science.287.5454.848.
2. Timmers H.J., Kozupa A., Eisenhofer G., Raygada M., Adams K.T., Solis D., Lenders J.W., Pacak K. Clinical presentations, biochemical phenotypes, and genotype-phenotype correlations in patients with succinate dehydrogenase subunit B-associated pheochromocytomas and paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Mar; 92(3): 779–86. doi: 10.1210/jc.2006-2315.
3. Choat H., Derrevere K., Knight L., Brown W., Mack E.H. SDHB-associated paraganglioma in a pediatric patient and literature review on hereditary pheochromocytoma-paraganglioma syndromes. *Case Rep Endocrinol*. 2014; 2014: 502734. doi: 10.1155/2014/502734.
4. Helman G., Caldovic L., Whitehead M.T., Simons C., Brockmann K., Edvardson S., Bai R., Moroni I., Taylor J.M., Van Haren K., SDH Study Group, Taft R.J., Vanderver A., van der Knaap M.S. Magnetic resonance imaging spectrum of succinate dehydrogenase-related infantile leukoencephalopathy. *Ann Neurol*. 2016 Mar; 79(3): 379–86. doi: 10.1002/ana.24572.
5. Ricketts C.J., Shuch B., Vocke C.D., Metwalli A.R., Bratslavsky G., Middleton L., Yang Y., Wei M.H., Pautler S.E., Peterson J., Stolle C.A., Zbar B., Merino M.J., Schmidt L.S., Pinto P.A., Srinivasan R., Pacak K., Linehan W.M. Succinate dehydrogenase kidney cancer: an aggressive example of the Warburg effect in cancer. *J Urol*. 2012 Dec; 188(6): 2063–71. doi: 10.1016/j.juro.2012.08.030.
6. Jackson C.B., Nuoffer J.M., Hahn D., Prokisch H., Haberberger B., Gautschi M., Haberli A., Gallati S., Schaller A. Mutations in SDHD lead to autosomal recessive encephalomyopathy and isolated mitochondrial complex II deficiency. *J Med Genet*. 2014 Mar; 51(3): 170–5. doi: 10.1136/jmedgenet-2013-101932.
7. Neumann H.P., Bausch B., McWhinney S.R., Bender B.U., Gimm O., Franke G., Schipper J., Klisch J., Althoefer C., Zerres K., Januszewicz A., Eng C., Smith W.M., Munk R., Manz T., Glaesker S., Apel T.W., Treier M., Reineke M., Walz M.K., Hoang-Vu C., Brauckhoff M., Klein-Franke A., Klose P., Schmidt H., Maier-Woelfle M., Peczkowska M., Szmigielski C., Eng C., Freiburg-Warsaw-Columbus Pheochromocytoma Study Group. Germ-line mutations in nonsyndromic pheochromocytoma. *N Engl J Med*. 2002 May 9; 346(19): 1459–66. doi: 10.1056/NEJMoa020152.

КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ

Д.И. Старикова

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Россия

Аннотация

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) – эта форма глаукомы является наиболее частой формой и составляет в Европе, Америке и России, по разным оценкам, от 50 до 70 % всех случаев этого забо-

левания. Изучены 342 индивидуума русской национальности, являющиеся уроженцами Центрального Черноземья РФ и не имеющие родства между собой с ранее установленным или впервые выявленным диагнозом ПОУГ. Клинические характеристики пациентов с ПОУГ соответствуют их возрастной группе, сопровождаются повышением массы тела, заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Ключевые слова: глаукома, внутриглазное давление.

THE CLINICAL CHARACTERISTIC OF PATIENTS WITH PRIMARY OPEN ANGLE GLAUCOMA

D.I. Starikova

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod National Research University», Belgorod, Russia

Abstract

Primary open angle glaucoma (POUG) the most frequent form of glaucoma in Europe, America and Russia. It consisted from 50 to 70 % of all types of the disease by different estimates. 342 Russians nationality are studied with POUG. Clinical characteristics correspond to their age group, are followed by rising of body weight, diseases of cardiovascular system.

Keywords: glaucoma, intraocular pressure.

Введение. Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) – это хроническое заболевание глаз, сопровождающееся повышением внутриглазного давления и характерными изменениями поля зрения [1]. Эта форма глаукомы является наиболее частой формой и составляет в Европе, Америке и России, по разным оценкам, от 50 до 70 % всех случаев этого заболевания. В мире от глаукомы страдает более 90 млн человек, в России, по некоторым данным, насчитывается 750 тыс. больных глаукомой. Она же – одна из главных причин слепоты и слепоты среди лиц трудоспособного возраста в развитых странах, и, несмотря на достигнутые успехи в её лечении, более половины больных продолжают терять зрительные функции [2]. Особенность ПОУГ заключается в бессимптомном её течении на начальных этапах, поэтому выявление данного заболевания в большинстве случаев происходит на стадиях, сопровождающихся уже необратимыми изменениями зрительного нерва.

Цель исследования заключается в изучении клинических особенностей пациентов с ПОУГ.

Материал и методы. Изучены 342 индивидуума русской национальности, являющиеся уроженцами Центрального Черноземья РФ и не имеющие родства между собой с ранее установленным или впервые выявленным диагнозом ПОУГ, подтвержденного клиническими, инструментальными и лабораторными методами обследования.

Результаты. Средний возраст пациентов составил 70,5 лет, из них женщин – 177, мужчин – 165. Городскими жителями являлись 148 (43,3 %) пациентов, сельскими – 194 (56,7 %). Установлено, что пациенты имеют следующие клинические особенности: избыточную массу тела и, соответственно, повышенный индекс массы тела ($27,9951 \pm 4,82$, в пределах от 16,4 до 47,3), высокую распространенность заболеваний сердечно-сосудистой системы (80,1 %), в структуре которой основную часть составила артериальная гипертензия (67 %). Кроме того, 52,6 % пациентов имели сопутствующие заболевания других органов и систем, треть из них (32,5 %) употребляла алкоголь, а 11 % имели пристрастие к никотину. 17,3 % пациентов имели отягощенный семейный анамнез по глаукоме.

Двусторонность поражения глаукомой отмечалась у 224 пациентов, жалобы со стороны глаз предъявляли 69 % пациентов, средний возраст выявления заболевания составил 67 лет, оперативное лечение по поводу глаукомы перенесли 26,3 % (90 человек).

Выводы: клинические характеристики пациентов с ПОУГ соответствуют их возрастной группе, сопровождаются повышением массы тела, заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев, В.В., Страхов В.В. Патогенез первичной глаукомы — «все или ничего». Глаукома. 2009; (2): 40–52.
2. Курьшева Н.И., Паришнина О.А., Маслова Е.В., Шаталова Е.О., Киселева Т.Н., Лагутин М.Б. Диагностическая значимость исследования глазного кровотока в раннем выявлении первичной открытоугольной глаукомы. Национальный журнал глаукома. 2015; 14(3): 19–28.

ТЕРМОРАДИОТЕРАПИЯ В КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРЯМОЙ КИШКИ

Д.А. Стародубцева

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В публикации освещается опыт применения неoadъювантной лучевой терапии в режиме мультифракционирования дозы, на фоне радиосенсибилизации капецитабином и локальной гипертермией. Эффективность данного метода показана на примере 50 пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом. В результате такого лечения удалось значительно увеличить процент сфинктеросохраняющих операций, тем самым повысить качество жизни пациентов.

Ключевые слова: локальная гипертермия, терморадикотерапия, лучевая терапия, рак прямой кишки, радиомодификация.

TERMORADIO THERAPY IN THE COMBINED TREATMENT OF PATIENTS WITH RECTAL CANCER

D.A. Starodubtseva

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The publication highlights the experience of the application of preoperative radiation therapy in the mode of multifractional dose, on the background of radiosensitization capecitabine and local hyperthermia. The efficiency of this method shown in example 50 patients with biopsy-proven diagnosis. As a result of this treatment was able to significantly increase the percentage sphincteroplasty operations, thereby to improve the quality of life of patients

Keywords: local hyperthermia, radiation therapy, rectal cancer, radiomodification.

Актуальность. В последние годы прослеживается рост заболеваемости раком прямой кишки. В нашей стране, по данным МНИОИ им. П.А. Герцена, численность больных раком прямой кишки в 2015 г. составила 101,8 на 100 тыс. населения, что на 44 % выше по сравнению с 2005 г. Большинство рандомизированных исследований показывают эффективность сочетания лучевой терапии и хирургического лечения. Для усиления лучевого воздействия применяются различные радиомодификаторы. В настоящее время не существует рекомендаций по выбору радиомодификатора или их комбинации.

Материал и методы. В исследование включено 100 пациентов с морфологически подтвержденным раком прямой кишки II–IVa стадии. Больные были разделены на 2 группы. Пациентам I группы (50 человек) проведен курс неoadъювантной дистанционной гамма-терапии в режиме мультифракционирования: 1,3 Гр × 2 раза в день, 5 дней в неделю, до СОД 54 Гр. С целью радиосенсибилизации – капецитабин 2 раза в сутки; локальная гипертермия 3 раза в неделю за 1 ч до сеанса облучения при $t = 40–43\text{ }^{\circ}\text{C}$, всего 10 сеансов. Ретроспективно была сформирована II группа из 50 больных. На первом этапе лечения пациентам проводилась дистанционная гамма-терапия в стандартном режиме фракционирования дозы: РОД 2,0 Гр, 5 раз в неделю, на фоне капецитабина 2 раза в сутки, в дни проведения лучевой терапии до СОД 55–60 Гр. Оценка эффективности лечения проводилась в соответствии с рекомендациями ВОЗ через 6 нед после окончания облучения. Лучевые реакции оценивались по шкале RTOG/EORTC (1995).

Результаты и обсуждение. Все пациенты удовлетворительно перенесли лечение. В I группе общая частота лучевых реакций составила 12 %, во II – 28 % (I–II степени по шкале RTOG/EORTC). В I группе у 4 (8 %) была зарегистрирована полная регрессия первичной

опухоли. Данным больным хирургическое лечение не проводилось. Во II группе такой результат достигнут лишь у 2 пациентов (4 %). Важным показателем также является доля сфинктерсохраняющих операций – 84 % и 68 % соответственно в I и II группе. К моменту окончания курса лучевой терапии у пациентов I группы признаки распространения опухоли на анальный сфинктер сохранялись только у 2 (4 %) больных, а в II группе у 8 пациентов (16 %). При динамическом наблюдении больных РПК, комбинированное лечение которых включало предоперационную ЛТ на фоне радиосенсибилизации и радикальную операцию, в течение 12–18 мес после окончания лечения случаев местного рецидива и отдаленных метастазов выявлено не было. Следует отметить, что у 9 больных с IV стадией РПК в послеоперационном периоде проводились курсы химиотерапии с использованием фторпиримидинов и препаратов платины. При оценке отдаленных результатов комбинированного лечения установлено статистически значимое увеличение показателей 2-летней общей и безрецидивной выживаемости у больных раком прямой кишки: безрецидивная выживаемость в основной группе составила 95,2 %, в контрольной группе – 78,9 %, ($p=0,046$), общая выживаемость – 95 % и 93 % соответственно ($p=0,006$).

Выводы. В результате проведенного исследования была продемонстрирована эффективность применения терморрадиотерапии в комбинированном лечении рака прямой кишки. Полирадиосенсибилизация приводит к значительной регрессии опухолевого процесса, что расширяет показания к выполнению сфинктерсохраняющих операций. Режим мультифракционирования дозы позволяет подводить к опухоли максимальную суточную дозу с учетом времени восстановления сублетальных и потенциально летальных повреждений нормальных тканей, что является профилактикой развития острых лучевых реакций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьев С.Г., Старцева Ж.А., Добродеев А.Ю., Тарасова А.С. Непосредственные результаты радикальных операций в условиях комбинированного лечения рака прямой кишки. Сибирский онкологический журнал, 2016; 15 (1): 5–10. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-1-5-10.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году. МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России. М., 2016.
3. Старцева Ж.А., Афанасьев С.Г., Тарасова А.С., Усова А.В., Добродеев А.Ю., Симонов К.А., Тузиков С.А. Способ комбинированного лечения местнораспространенного рака прямой кишки; Патент № 2599043 РФ, А61P35/00, А61N5/10, А61N1/28, А61K31/7068.
4. Тарасова А.С., Афанасьев С.Г., Старцева Ж.А. Комбинированное лечение местнораспространенного рака прямой кишки с использованием нестандартного курса сочетанной лучевой терапии. Материалы конференции «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии». М.: Онкохирургия инфо, 2011; 3 (2): 67–68.

ОЦЕНКА ЗНАЧЕНИЙ ИЗМЕРЯЕМОГО КОЭФФИЦИЕНТА ДИФфуЗИИ ПРИ МЕДИАСТИНАЛЬНОЙ ЛИМФАДЕНОПАТИИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОГО И ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ГЕНЕЗА

А.В. Сударкина

Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Увеличение медиастинальных лимфоузлов встречается при различных заболеваниях и требует проведения дифференциальной диагностики для планирования лечения, а в случае злокачественного процесса – для стадирования и оценки прогноза. Диффузионно-взвешенная магнитно-резонансная томография (ДВ-МРТ) находит все большее применение для данной цели в различных областях лучевой диагностики, однако в торакальной радиологии применяется редко и ее возможности изучены недостаточно.

Ключевые слова: диффузионно-взвешенные изображения, ДВИ, лимфаденопатия, грудная клетка.

ASSESSMENT OF APPARENT DIFFUSION COEFFICIENT VALUES IN BENIGN AND MALIGNANT MEDIASTINAL LYMPHADENOPATHY

A.V. Sudarkina

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Abstract

Mediastinal lymphadenopathy can be encountered in a bevy of diseases and requires differential diagnosis for treatment planning and also for staging and prognosis in case of malignancy. Diffusion weighted imaging is still developing technique and widely used in different fields of radiology but in thoracic imaging its application is limited and capabilities have not been sufficiently studied.

Keywords: Diffusion weighted imaging, DWI, lymphadenopathy, chest.

Лимфаденопатия часто встречается при инфекционных, системных и опухолевых процессах в грудной клетке. Определение ее характера является важнейшей задачей для планирования тактики лечения. Компьютерная томография (КТ), опираясь в основном на размеры лимфоузлов, не позволяет достоверно разграничить доброкачественные и злокачественные состояния. В выявлении метастазов рака легкого в лимфоузлы чувствительность и специфичность КТ составляют 52–64 % и 62–69 % соответственно [1]. В дифференциальной диагностике лимфопролиферативных заболеваний и саркоидоза возможности КТ также ограничены [2]. Позитронно-эмиссионная томография позволяет определять метастазы в лимфоузлы с чувствительностью и специфичностью 91 % и 86 % соответственно, однако для метода характерны низкая доступность, высокая стоимость исследования и сложность дифференциальной диагностики злокачественных заболеваний с воспалительными и гранулематозными процессами, также сопровождающимися гиперфиксацией радиофармпрепарата [1]. ДВ-МРТ – доступная, лишенная воздействия ионизирующего излучения методика, не требующая введения дополнительных препаратов, позволяющая, благодаря различиям диффузии молекул воды в тканях при различных патологических процессах, получить дополнительную информацию для оценки доброкачественных и злокачественных изменений [2, 3]. **Цель работы** – провести количественный анализ значений измеряемого коэффициента диффузии (ИКД) в медиастинальных лимфоузлах при различных патологических процессах. Оценить возможности ДВ-МРТ с анализом ИКД-карт в дифференциальной диагностике доброкачественного и злокачественного характера медиастинальной лимфаденопатии.

30 пациентам в возрасте от 28 до 77 лет с увеличением медиастинальных лимфоузлов выполнена ДВ-МРТ грудной клетки с использованием двух b-факторов (50 и 800–900 с/мм²) для построения карт ИКД. У 23 пациентов диагноз верифицирован гистологически (11 – метастазы рака легкого, 1 – метастазы мезотелиомы плевры, 3 – лимфома, 8 – саркоидоз). У 7 пациентов с воспалительным процессом в грудной клетке (пневмония, обострение хронического бронхита) на основании клинической картины отсутствия признаков онкологических заболеваний предположена реактивная лимфаденопатия. Проведено измерение ИКД в лимфоузлах с исключением областей некроза. Статистический анализ проведен с помощью пакета SPSS.

Средние значения ИКД в лимфоузлах при метастазах, лимфоме, саркоидозе и реактивной гиперплазии составили $0,97 \pm 0,31 \times 10^3$ мм²/с, $0,89 \pm 0,07 \times 10^3$ мм²/с, $1,54 \pm 0,24 \times 10^3$ мм²/с и $1,66 \pm 0,32 \times 10^3$ мм²/с соответственно. Результаты измерений в пределах групп не соответствовали нормальному распределению и анализировались с помощью непараметрических критериев. Выявлено статистически значимое отличие ($p < 0,001$) средних значений ИКД при злокачественных и доброкачественных процессах ($0,95 \pm 0,29 \times 10^3$ мм²/с и $1,62 \pm 0,28 \times 10^3$ мм²/с соответственно). Значения ИКД у одного пациента с метастазами аденокарциномы составили $1,5 \pm 0,09 \times 10^3$ мм²/с; по литературным данным, для аденокарцином характерны более высокие значения ИКД. У одного пациента с метастазами рака легкого и ХОБЛ значения ИКД в части лимфоузлов составили $2,2 \pm 0,09 \times 10^3$ мм²/с, возможно, на фоне сопутствующего воспалительного процесса. Согласно ROC-анализу, пороговое значение ИКД, позволяющее проводить дифференциальную диагностику доброкачественных и злокачественных изменений лимфоузлов с чувствительностью 80 % и специфичностью 92 %, составило $1,36 \times 10^3$ мм²/с.

ДВ-МРТ – развивающаяся, многообещающая методика, дающая дополнительную информацию в диагностике доброкачественного и злокачественного характера поражения лимфоузлов. Исследование имело ряд ограничений (небольшое количество пациентов в отдельных группах, ограниченное количество нозологий, не все лимфоузлы подвергались биопсии), целесообразно продолжение исследования с включением пациентов с различной патологией, оценкой возможностей метода в дифференциальной диагностике лимфоузлов небольшого размера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bugdayci O., Kodalli M.N., Dede F., Cengic İ., Tureli D., Altas Aydin H., Aslan A. Comparison of diffusion weighted MRI parameters of mediastinal lymph nodes with PET/CT in lung cancer patients. Marmara Medical Journal 2014; 27: 21–6. doi: 10.5472/MMJ.2013.03242.1
2. Mehrian P., Ebrahimzadeh S.A. Differentiation between sarcoidosis and Hodgkin's lymphoma based on mediastinal lymph node involvement pattern: Evaluation using spiral CT scan. Pol J Radiol. 2013 Jul-Sep; 78(3): 15–20. doi: 10.12659/PJR.889056.
3. Luna A., Sánchez-Gonzalez J., Caro P. Diffusion-weighted imaging of the chest. Magn Reson Imaging Clin N Am. 2011 Feb; 19(1): 69–94. doi: 10.1016/j.mric.2010.09.006.

РАДИОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДЛЯ SBRT РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕЖИМА ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ

Е.С. Сухих¹, И.Н. Шейно²

Томский областной онкологический диспансер, г. Томск, Россия¹
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России, лаборатория современных методов и технологий лучевой терапии, г. Москва, Россия²

Аннотация

В данной работе представлены результаты исследования зависимости поведения вероятности контроля опухоли (TCP) и вероятности осложнений нормальной ткани (NTCP) от различного режима фракционирования (4 или 5 фракций) с общей дозой от 33,5 Гр до 40 Гр для рака предстательной железы SBRT [1]. Дозиметрические планы облучения были выполнены в системе планирования Monaco версии 5.1.1 (Elekta AB) с объемной модуляцией интенсивности ионизирующего излучения (VMAT) [2–5] с использованием модели пучка для высокотехнологического электронного ускорителя Elekta Synergy (Elekta AB) в Томском областном онкологическом диспансере.

Ключевые слова: стереотаксическое облучение тела, объемная модуляция интенсивности ионизирующего излучения, QUANTEC.

RADIOBIOLOGICAL EVALUATION FOR PROSTATE CANCER SBRT IN DEPENDING ON THE FRACTIONATION

E.S. Sukhikh¹, I.N. Sheino²

Tomsk Regional Oncology Center, Moscow, Russia¹
SRC – Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, laboratory for methods and technologies radiation therapy, Moscow, Russia²

Abstract

In this paper will be presented the results of a study of the relationship between the probability of tumor control (TCP) and the probability of complications of normal tissue (NTCP) from a different fractionation (4 or 5 fractions) with a total dose of 33.5 Gy to 40 Gy for prostate cancer SBRT [1]. Dosimetric irradiation plans were carried out in the Monaco planning system version 5.1.1 (Elekta AB) with volumetric modulated arc therapy (VMAT) [2–5].

Keywords: stereotactic body radiotherapy (SBRT), volumetric modulated arc therapy (VMAT), QUANTEC.

Актуальность. Традиционно оценка качества дозиметрических планов лучевой терапии основана на физических критериях: степени охвата PTV (планируемый объем облучения) [6], предписанной дозы и выполнения ограничений QUANTEC [7] для подверженных риску органов. Такие оценки часто не дают однозначных ответов по выбору наилучших планов облучения в отношении оптимального фракционирования и дозы на фракцию. В мировой практике лучевой терапии используются макроскопические радиобиологические критерии, а именно вероятность контроля опухоли (TCP) и вероятность осложнений нормальной ткани (NTCP) [8]. Это является основой для выбора оптимальной схемы облучения пациента.

Целью работы являлось исследование зависимости поведения TCP / NTCP от различного режима фракционирования (4 или 5 фракций) с общей дозой от 33,5 Гр до 40 Гр для рака предстательной железы SBRT [1].

Материал и методы. Для создания всех дозиметрических планов облучения использовать методика доставки дозы VMAT в системе планирования MONACO версии 5.10 (Elekta AB) с использованием модели пучка для высокотехнологического электронного ускорителя Elekta Synergy (Elekta AB) в Томском областном онкологическом диспансере. В рамках этого исследования было создано несколько планов с использованием всех необходимых функций биологической и физической оптимизации с использованием четырех или пяти фракций для общей дозы в диапазоне от 33,5 до 42 Гр. Для оценки TCP мы использовали следующие модели: TCP A. Niemierko [9–11], TCP Stavrev [12–14], TCP Walsh [15–16]. Для оценки NTCP мы применялись модели: NTCP Niemierko [9–11], NTCP Källman [17], NTCP T. S. Kehwar [18–21].

Результаты и обсуждение. Был проанализирован набор разработанных планов лечения с использованием критериев TCP/NTCP, и было показано, что значения критериев очень чувствительны к выбранному режиму фракционирования и дозы за фракцию. Планы лечения с четырьмя фракциями за курс лучевой терапии были хуже по отношению повреждений критических органов. Планы лечения с 5 фракциями были оптимальными для TCP и NTCP, однако зависимость ожидаемого эффекта от дозы за фракцию весьма сложна, поэтому необходимо учитывать такие дополнительные параметры, как возраст пациента, сопутствующие хронические заболевания.

Выводы. Расчеты значений TCP/NTCP различных планов облучения с VMAT проводился с использованием разных моделей TCP / NTCP. Результаты позволили найти оптимальный план по фракционированию и дозе за фракцию. А также был принят во внимание тот факт, что время для моделирования (создания) одного дозиметрического плана лечения в системе MONACO составило не более 10 мин, что представляется полезным для создания набора планов для выбора оптимального.

ЛИТЕРАТУРА

1. Benedict S.H., Yenice K.M., Followill D., Galvin J.M., Hinson W., Kavanagh B., Keall P., Lovelock M., Meeks S., Papiez L., Purdie T., Sadagopan R., Schell M.C., Salter B., Schlesinger D.J., Shiu A.S., Solberg T., Song D.Y., Stieber V., Timmerman R., Tomé W.A., Verellen D., Wang L., Yin F.F. Stereotactic body radiation therapy: The report of AAPM Task Group 101. *Med. Phys.* 2010; 37(8): 4078–4101.
2. Diot Q., Kavanagh B., Timmerman R., Miften M. Biological – based optimization and volumetric modulated arc therapy delivery for stereotactic body radiation therapy. *Med Phys.* 2012 Jan; 39(1): 237–45. doi: 10.1118/1.3668059.
3. Semenenko V.A., Reitz B., Day E., Qi X.S., Miften M., Li X.A. Evaluation of a commercial biologically based IMRT treatment planning system. *Med Phys.* 2008 Dec; 35(12): 5851–60.
4. Feuvret L., Noël G., Mazeron J.-J., Bey P. Conformity index: a review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006; 64(2): 333–42.
5. Ghandour S., Matzinger O., Pachouda M. Volumetric-modulated arc therapy planning using multicriteria optimization for localized prostate cancer. *Journal of Applied Clinical Medical Physics.* 2015; 16(3): 258–269.
6. Gregoire V., Mackie T. R., De Neve W. Prescribing, Recording, and Reporting Photon-Beam-Intensity-Modulated Radiation Therapy (IMRT). ICRU Report No.83. *Journal of the ICRU.* 2010; 10(1).
7. *Radiation Oncology/Toxicity/QUANTEC* [Интернет]. URL: https://en.wikibooks.org/wiki/Radiation_Oncology/Toxicity/QUANTEC.
8. Джойнер М.С., О. Дж. Ван дер Когель. Основы клинической радиобиологии. пер. с англ. М. БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. 600.
9. Niemierko A. Reporting and analyzing dose distributions: A concept of equivalent uniform dose. *Med. Phys.* 1997; 24: 103–110.
10. Niemierko A. A unified model of tissue response to radiation. *Med. Phys.* 1999; 26: 1100.
11. Gay H.A., Niemierko A. A free program for calculating EUD-based NTCP and TCP in external beam radiotherapy. *Phys. Medica.* 2007; 23: 115–125.
12. Stavrev P., Stavreva N., Niemierko A., Goiten M. Generalization of a model of tissue response to radiation based on the idea of functional subunits and binomial statistics. *Phys Med Biol.* 2001; 46: 1501–18.
13. Stavreva N., Stavrev P., Warkentin B., Fallone B.G. Derivation of the expression for γ_{50} and D50 for different individual TCP and NTCP models. *Phys Med Biol.* 2002; 47: 3591–604.
14. Warkentin B., Stavrev P., Stavreva N., Field C., Fallone B.G. A TCP and NTCP estimation module using DVHs and known radiobiological models and parameter sets. *J Appl Clin Med Phys.* 2004; 5: 50–63.
15. Walsh S., van der Putten W. A TCP model for external beam treatment of intermediate-risk prostate cancer. *Med. Phys.* 2013; 40: n/a, 031709. doi:10.1118/1.4790469.
16. Walsh S., Roelofs E., Kuess P., Lambin P., Jones B., Georg D., Verhaegen F. A validated tumor control probability model based on a meta-analysis of low, intermediate, and high-risk prostate cancer patients treated by photon, proton, or carbon-ion radiotherapy. *Med. Phys.* 2016; 43: 734–747. doi:10.1118/1.4939260.
17. Källman P., Agren A., Brahme A. Tumour and normal tissue responses to fractionated non-uniform dose delivery. *Int J Radiat Biol.* 1992; 62: 249–262.
18. Kehwar T.S., Sharma S.C. The best fit of the normal tissue tolerance data to the multiple component model. *Polish J Med Phys Eng* 2003; 9(4): 239–269.
19. Kehwar T.S. Analytical approach to estimate normal tissue complication probability using best fit of normal tissue tolerance doses into the NTCP equation of the linear quadratic model. *J Cancer Res Ther* 2005; 1(3): 168–179.
20. Kehwar T.S., Akber S. F., Passi K. Qualitative Dosimetric and Radiobiological Evaluation of High – Dose –Rate Interstitial brachytherapy Implants. *Int. J. Med. Sci.* 2008; 5: 41–49.

21. *Kehwar T.S., Sharma S.C.* Use of normal tissue tolerance doses into linear quadratic equation to estimate normal tissue complication probability. Radiation Oncology Online Journal [Internet]. URL: [http://www.rooj.com/Radiation %20Tissue %20Tolerance.htm](http://www.rooj.com/Radiation%20Tissue%20Tolerance.htm).

КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ В ОЦЕНКЕ ОСТЕОРЕГЕНЕРАЦИИ У БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЕВЫМ ПОРАЖЕНИЕМ КОСТЕЙ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

С.А. Табакаев, П.К. Ситников

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В исследование было включено 10 пациентов с опухолевым поражением костей после хирургического лечения с применением различных трансплантатов для замещения дефекта кости. Данным пациентам была проведена визуальная оценка лучевых методов исследования и количественная компьютерная томография. Обследование пациентов проводилось на дооперационном этапе, в ближайшие сроки после оперативного вмешательства, через 1, 3, 6, 9 и 12 мес. Показано, что скорость репарации кости при применении композитных материалов выше. Таким образом, использование этих материалов может быть хорошей альтернативой для замещения костных дефектов после хирургического лечения.

Ключевые слова: опухолевое поражение костей, аутокость, композитные пластические материалы, количественная компьютерная томография.

COMPUTED TOMOGRAPHY IN EVALUATION OF OSTEOREGENERATION IN PATIENTS WITH TUMOR LESIONS OF BONES AFTER SURGICAL TREATMENT

S.A. Tabakaev, P.K. Sitnikov

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The study included 10 patients with tumoral defeat of bones after surgical treatment and use of various grafts to replace the bone defect. These patients underwent visual evaluation of radiological methods of investigation and quantitative computed tomography. Examination of patients was carried out at the preoperative stage, in the short term after surgery, in 1, 3, 6, 9 and 12 months. It is shown that the rate of bone repair in the application of composite materials is higher. Thus, the use of these materials can be a good alternative to replace bone defects after surgical treatment.

Keywords: tumor lesion of the bone, autologous bone, a composite of plastic materials, quantitative computed tomography.

Опухолевые поражения костей скелета, требующие хирургического этапа лечения, на сегодняшний день составляют группу не менее 10–15 % от всего числа опухолевых заболеваний. К ним относятся как первичные опухолевые поражения костей, которые по клиническому течению и биологическим свойствам подразделяются на доброкачественные и злокачественные, так и вторичные. Современные подходы в лечении опухолей костей позволяют определить однозначную тенденцию к выполнению органосохраняющих операций. Удаление опухоли в пределах здоровых тканей при органосохраняющих операциях предусматривает последующее восстановление анатомической структуры и тем самым поддержание и восстановление функции оперированной кости, что, в свою очередь, улучшает качество жизни пациентов [1]. «Золотым стандартом» реконструкции является аутопластика. Однако есть ряд факторов, ограничивающих применение данного метода (большая травматизация

при заборе аутокости, ограниченный объем, появление различных осложнений, частота которых, по данным литературы, варьирует от 8,6 до 20,6 %). В качестве альтернативы аутокости применяются различные по происхождению, составу и свойствам пластические материалы. Наибольший интерес вызывают композитные пластические материалы, так как они обладают биоактивными свойствами и сходным химическим и структурным составом с костью. Существующие клинические методики определения состояния трансплантата, как правило, регистрируют лишь уже развившиеся осложнения, когда установленный пластический материал становится явно несостоятельным и нуждается в удалении, замене либо дополнительном укреплении. Клинико-рентгенологическая картина не является специфичной, поэтому определить верную врачебную тактику, основываясь только на субъективной визуальной оценке данных различных исследований, часто бывает сложно [2].

Материалом для исследования явились данные результатов обследования 10 пациентов с различными опухолевыми поражениями костей на дооперационном этапе с последующим проведением контрольных обследований в ближайшие сроки после оперативного вмешательства, через 1, 3, 6, 9 и 12 мес, которые получили хирургическое лечение в отделении общей онкологии ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН в 2017 г. У 9 пациентов применялись композитные пластические материалы, такие как Остеоматрикс –6 (60 %), BoneMedik-S – 3 (30 %). Из них аутокость в качестве трансплантата использовалась у 1 пациента. Пациенты находились в возрастном интервале от 29 до 59 лет, средний возраст составил 46 ± 4 года. Все исследования проводились на мультиспиральном компьютерном томографе Somatom Emotion 6 «Siemens». Отдельно исследовались материалы для аллопластики на предмет их рентгенологической плотности. Зонами исследования были патологический участок в кости (в дальнейшем – полость после хирургического лечения) и симметричный участок не пораженной опухолевым процессом кости. Для удобства вычислений в качестве показателя, характеризующего общую плотность исследуемого участка, было принято значение, равное по величине значению медианы денситометрической плотности выделенных участков.

При использовании материала BoneMedik-S увеличение костной плотности отмечалось на 1–4 %, а при использовании материала Остеоматрикс нарастание костной плотности варьировало от 6 до 27 % в контрольные сроки наблюдения, максимальные значения которой приходились на 1 и 6-й мес после хирургического лечения. При визуальной оценке определялось уменьшение полости резекции в кости, нарастание остеосклероза вокруг полости, размытость контуров некоторых групп гранул пластического материала. При применении аутокости у пациента костная плотность трансплантата практически не отличалась от плотности кости на непораженной конечности. Динамическое наблюдение за этим пациентом показало, что костная плотность увеличилась на 7 % после 9 мес наблюдения. Рецидива в зоне хирургического вмешательства в представленных случаях выявлено не было.

Таким образом, на основании изучения закономерности интеграции различных трансплантатов в кости показано, что использование композитных материалов может быть хорошей альтернативой для замещения костных дефектов после хирургического лечения, так как изначально плотность этих материалов значительно больше, чем у кости, скорость регенерации кости при применении некоторых образцов выше.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев М.Д., Бохан А.Ю., Иванов С.М., Соколовский В.А., Соколовский А.В., Феденко А.А. Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных с первичными злокачественными опухолями кости. Москва, 2014. 6.
2. Рябова Л.М., Фролова И.Г., Анисеня И.И. Клинико-рентгенологическая оценка состояния аутоотрансплантата у больных с опухолями костей. Томск, 2004. 3.

АУТОФАГИЯ В КЛЕТКАХ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ, ИНДУЦИРОВАННАЯ ЛИТИЕМ

Ю.С. Таскаева, Н.П. Бгатова

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Томск, Россия

Аннотация

Исследована способность лития индуцировать аутофагию в клетках гепатоцеллюлярной карциномы-29 (Г-29) *in vivo*. Клетки Г-29 перевивали мышам-самцам линии СВА в область бедра, карбонат лития вводили по периферии опухолевого роста. Развитие аутофагии в клетках Г-29 оценивали с помощью трансмиссионной электронной микроскопии и иммунофлюоресценции. При введении карбоната лития было выявлено достоверное увеличение аутофагических структур в цитоплазме клеток Г-29.

Ключевые слова: гепатоцеллюлярная карцинома, карбонат лития, аутофагия.

AUTOPHAGY IN HEPATOCELLULAR CARCINOMA CELLS, INDUCED BY LITHIUM

I. S. Taskaeva, N.P. Bgatova

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

This study examined the ability of lithium to induce autophagy using the experimental cell line of hepatocellular carcinoma-29 (H-29) *in vivo*. H-29 cells were transplanted CBA mice to the femur region, and then the animals received lithium carbonate injections at a dose of 20 mM for 23 days. The development of autophagy was assessed by transmission electron microscopy and immunofluorescence. A significant increase in autophagic structures was revealed upon administration of lithium carbonate.

Keywords: hepatocellular carcinoma, lithium carbonate, autophagy.

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) – рак печени, являющийся одним из пяти наиболее злокачественных и лидирующих в структуре смертности новообразований человека. Несмотря на относительную изученность аутофагии, ее функции в развитии и прогрессировании ГЦК до сих пор неизвестны [1]. Данные о влиянии лития на канцерогенез ограничены, однако известно, что литий может модулировать аутофагию в опухолевых клетках с помощью сигнального пути фосфатидил инозитола [2] и, таким образом, являться перспективным противоопухолевым агентом для терапии ГЦК.

Эксперимент выполнялся на мышах-самцах линии СВА массой 18–20 г в возрасте 3 мес. Работа с животными велась в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Для индукции опухолевого роста использовали клетки гепатокарциномы-29 (Г-29). Клетки Г-29 перевивали мышам линии СВА в брюшную полость, через 10 сут производили забор асцитической жидкости, суспендировали в 10-кратном объеме физиологического раствора и вводили в дозе 2×10^6 клеток в 100 μ l PBS интактным животным в мышцу правого бедра. В эксперимент были включены 3 группы животных (по 5 мышей): первая группа (контроль) состояла из мышей с интактной опухолью, вторая – из мышей, получавших инъекции 100 μ l 0,9 % физиологического раствора (ФР), третья – из мышей, получавших инъекции 20 μ M карбоната лития (Li_2CO_3) в 100 μ l 0,9 % физиологического раствора (ЛК). Инъекции препаратов выполнялись внутримышечно по периферии опухоли, через день. Забор материала для исследований (мышечная ткань бедра, содержащая опухоль) проводили на 23-и сут эксперимента в утренние часы. Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом методом кранио-цервикальной дислокации.

Для выявления аутофагии в клетках Г-29 проводили иммунофлюоресцентный анализ на формалин-фиксированных криосрезах, которые инкубировали с первичными (Anti-LC3B antibody, ab48394, Abcam и Anti-LAMP1 antibody [1D4B], ab25245, Abcam) и вторичными (Goat Anti-Rabbit IgG H&L (Alexa Fluor® 488), ab150077, Abcam и Goat Anti-Rat IgG H&L (Alexa Fluor® 568), ab175476, Abcam соответственно) антителами и заключали в монтирующую среду (Fluoroshield Mounting Medium With DAPI, ab104139, Abcam). Фотографии получали с помощью микроскопа Axio Observer Z1 (Carl Zeiss); оценивали распределение LC3- и LAMP1-положительных структур.

Для изучения ультраструктурной организации аутофагических структур, аутопсийный материал обрабатывали по стандартной методике электронной микроскопии. Ультратонкие срезы толщиной 70–100 нм получали на ультратоме LKB-NOVA, контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца. Электронные микрофотографии получали с помощью электронного микроскопа JEM 1400 (JEOL, Japan).

Для оценки соотношения аутофагических структур отбирали по 100 клеток Г-29 от каждой экспериментальной группы при увеличении $\times 8000$. Морфометрический анализ выполняли с использованием программного обеспечения Image J (США) с применением открытой тестовой системы. Определяли объемные (Vv) и численные (N) плотности ранних аутофагических вакуолей (АВр), поздних аутофагических вакуолей (АВп) и лизосом в соответствии с руководством по мониторингу аутофагии [3].

Среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD) вычисляли с помощью программного обеспечения Microsoft Excel. Достоверность различий между исследуемыми параметрами определяли с помощью программного обеспечения Statistica 6.0, с использованием U-критерия Манна – Уитни при уровне достоверности 95 % ($p < 0.05$).

При использовании иммунофлюоресцентного анализа в клетках Г-29 были выявлены аутофагические вакуоли. При ультраструктурном анализе определяли ранние и поздние аутофагические структуры, лизосомы. Клетки, в которых встречались ранние и/или поздние аутофагические структуры, расценивались как клетки с инициированной аутофагией; в группе введения лития их оказалось – 59 %, в группе контроля – 48 %, ФР – 35 %. Введение карбоната лития достоверно повышало количество поздних аутофагических структур (АВп) и общие объемные и численные плотности аутофагических вакуолей (АВр + АВп). Суммарно среднее количество аутофагических вакуолей (АВ) в группе ЛК составляло 0,86 (контроль – 0,59; ФР – 0,44); средняя объемная плотность АВ в группе ЛК было равна 1,66 % (контроль – 0,88 %; ФР – 0,68 %); среднее количество АВп в группе ЛК составляло 1,55 (контроль – 0,81; ФР – 0,64), данные статистически достоверны. Средние объемные и численные плотности аутофагосом и лизосом достоверных различий не имели.

Роль аутофагии в канцерогенезе неоднозначна, с одной стороны, известно, что аутофагия может способствовать выживаемости раковых клеток в условиях стресса или депривации питательных веществ, с другой стороны, аутофагия может выступать в роли опухолевого супрессора, стимулируя аутофагическую гибель раковых клеток.

Введение карбоната лития по периферии опухолевого роста привело к индукции аутофагии в клетках Г-29 с преимущественным преобладанием поздних аутофагических структур (аутолизосом). Стимуляция аутофагии с помощью лития может представлять собой новый подход к терапии гепатоцеллюлярной карциномы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Liu L., Liao J.Z., He X.X., Li P.Y. The role of autophagy in hepatocellular carcinoma: friend or foe. *Oncotarget*. 2017 Aug; 8(34): 57707–57722. doi:10.18632/oncotarget.17202.
2. Sarkar S., Floto R.A., Berger Z., Imarisio S., Cordenier A., Pasco M., Cook L.J., Rubinsztein D.C. Lithium induces autophagy by inhibiting inositol monophosphatase. *J Cell Biol*. 2005 Sep; 170(7): 1101–11. doi:10.1083/jcb.200504035.
3. Klionsky D.J., Abdelmohsen K. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy*. 2016 Jan; 12(1): 1–222. doi: 10.1080/15548627.2015.1100356.

НЕОБХОДИМОСТЬ ВЫПОЛНЕНИЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ МАСТЭКТОМИИ У БОЛЬНЫХ С ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.В. Трегубова, А.С. Сухотько, А.А. Масри

МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России,
г. Москва, Россия

Аннотация

Наличие мутаций в генах BRCA1 или BRCA2 является признаком повышенной вероятности возникновения рака молочной железы. Профилактическая мастэктомия контрлатеральной молочной железы с последующей реконструкцией считается одним из возможных способов снижения развития этого заболевания в дальнейшем. Однако нет четких показаний к выполнению этого вида вмешательства. В нашей работе показано, что риск возникновения рака контрлатеральной

молочной железы значительно выше для молодых больных, в случае наличия мутаций генов BRCA1, BRCA2, CHEK2, а также в случаях наличия этого заболевания в семейном анамнезе.

Ключевые слова: рак молочной железы, BRCA1, BRCA2, профилактическая мастэктомия.

NECESSITY OF PREVENTIVE MASTECTOMY IN PATIENTS WITH GENETICALLY DEFICIENCY BREAST CANCER

A.V. Tregubova, A.S. Sukhotko, A.A. Masri

Moscow Research Institute of Oncology P.A. Herzen Branch of FGBU «NMI of radiology» of Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Abstract

The presence of mutations in the BRCA1 or BRCA2 genes is a sign of increased likelihood of breast cancer. Prophylactic mastectomy of the contralateral mammary gland with subsequent reconstruction is considered one of the possible ways to reduce the development of this disease in the future. However, there are no clear indications for this type of intervention. In our work we showed that the risk of cancer of the contralateral mammary gland is significantly higher for young patients in the case of mutations in the BRCA1, BRCA2, CHEK2 genes, and in cases of the presence of this disease in a family history.

Keywords: breast cancer, BRCA1, BRCA2, preventive mastectomy.

Введение. Наличие мутаций в генах BRCA1 или BRCA2 может увеличить вероятность развития рака молочной железы (РМЖ) более чем в 5 раз, а рака яичников – в 10–28 раз. В среднем риск возникновения рака в контрлатеральной молочной железе составляет около 1 % в год у пациентов из общей популяции. Это означает, что через 10 лет риск развития нового рака возрастет до 10 %. В случае, если у женщины имеются наследуемые мутации генов BRCA1 или BRCA2, риск заболеть раком составляет более 4 % в год. Профилактическая мастэктомия (ПМЭ) контрлатеральной молочной железы с последующей реконструкцией считается наиболее эффективным методом снижения риска развития РМЖ. Первая работа, в которой оценивалась эффективность профилактических мастэктомий по предотвращению РМЖ, была представлена в клинике Мэйо (США, Рочестер). По данным литературы, снижение риска развития болезни при выполнении двухсторонней ПМЭ составило 96 %. А выполнение контрлатеральной ПМЭ у больных РМЖ снижает риск развития болезни на 96 %. Чётких показаний к выполнению профилактической мастэктомии, применяемых в Европе и США, нет. Данный вид операции в некоторых странах выполняется только на основании желания пациентки.

Материал и методы. За период с января 2014 по январь 2018 г. на базе «МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России было проведено генетическое исследование 1878 здоровых и больных женщин, проходивших лечение. В отделении онкологии и реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи пролечено 82 пациентки с генетически ассоциированным раком молочной железы.

Результаты. В ходе проведенного анализа мутация в гене BRCA1 выявлена у 59 больных РМЖ, также выявлена мутация в гене BRCA2 – у 10 пациенток, мутация в гене CHEK2 – у 10, сочетание наличия мутации в генах BRCA1 и CHEK2 – у 2, BRCA2 и CHEK2 – у 1 пациентки. Установлено, что у 63 (77,0 %) женщин встречалась мутация 5382insC гена BRCA1, 2080delA гена BRCA1 – у 2 (2,4 %), 300T/G гена BRCA1 – у 2 (2,4 %), 3819delGTAAA гена BRCA1 – у 1 (1,2 %), 3875del4 гена BRCA1 – у 1 (1,2 %), 4153delA гена BRCA1 – у 1 (1,2 %), 5266dupC гена BRCA1 – у 1 (1,2 %), 617delLT гена BRCA2 – у 2 (2,4 %), 185delAG гена BRCA1 – у 1 (1,2 %), IVS2+1G>A гена CHEK2 – у 3 (3,7 %), 470T>C гена CHEK2 – у 3 (3,7 %) и редкая мутация Asn372His гена BRCA2 – у 2 (2,4 %). Средний возраст больных составил 44 года. У 3,7 % пациенток диагностирован РМЖ 0 ст., у 26,8 % – I ст., у 24,4 % – IIa ст., у 8,5 % – IIb ст., у 9,8 % – IIIa ст., у 1,2 % – IIb ст., у 2,4 % – IIIc ст. У 23,2 % пациенток диагностирован первично-множественный рак. У 17,1 % пациенток диагностирован первично-множественный метакронный рак молочной железы в комбинации со злокачественными заболеваниями следующих локализаций: у 2,4 % – рак щитовидной железы, у 1,2 % – рак анального канала, у 1,2 % – рак тела матки, у 1,2 % пациентки – рак

сигмовидной кишки. По морфологическому строению опухоли наиболее часто диагностировался инвазивный протоковый рак – в 83,0 % случаях, тройной негативный рак – в 54,9 %. ПМЭ контрлатеральной молочной железы в объеме простой мастэктомии выполнена у 12 (21,8 %) больных, в объеме подкожной мастэктомии с одномоментной реконструкцией эндопротезом и сетчатым имплантатом/АДМ/деэпителизированным кожным лоскутом – у 25 (45,5 %), в объеме кожесохраняющей мастэктомии с использованием тканевого экспандера, с последующей заменой на эндопротез – у 16 (29,1 %), расщепленный TRAM-лоскут – у 2 (3,6 %), профилактическая лапароскопическая аднексэктомия выполнена у 30 (36,6 %).

Выводы. Таким образом, с учетом результатов нашего исследования определены показания к выполнению контрлатеральной ПМЭ. Риск возникновения рака контрлатеральной молочной железы значительно выше для больных молодого возраста, носителей мутаций генов BRCA1, BRCA2, CHEK2, а также с онкологически отягощенным семейным анамнезом, что составило в нашем исследовании 11 %.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПРОТЕИНАЗ ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

А.А. Трусов¹, Д.Н. Костромицкий²

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия¹

Областное государственное автономное учреждение здравоохранения «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия²

Аннотация

Проведено исследование химотрипсинподобной (ХПА) и каспазаподобной (КПА) активностей протеасом, активности кальпаинов (АК) у больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). Наблюдалось повышение активностей протеасом и кальпаинов в тканях первичных опухолей и лимфогенных метастазах по сравнению с соответствующей неизмененной тканью легкого. Показана связь ХПА, КПА протеасом и АК с прогрессированием НМРЛ.

Ключевые слова: протеасомы, кальпаины, немелкоклеточный рак легкого.

FUNCTIONING OF INTRACELLULAR PROTEINASES IN THE PROGRESSION OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER

A.A. Trusov¹, D.N. Kostromitsky²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia¹

Tomsk Regional Oncology Center, Tomsk, Russia²

Abstract

In the paper chymotrypsin-like and caspase-like proteasome activity, calpain activity were evaluated in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). An increase in the activity of proteasomes and calpains in the tissues of primary tumors and lymphogenous metastases was observed in comparison with the normal adjacent tissue. There was shown the relationship of proteasome and calpain activities with the progression of NSCLC.

Keywords: Proteasomes, calpains, non-small cell lung cancer.

Актуальность. Актуальным направлением онкологии является изучение механизмов возникновения и развития НМРЛ в связи с высокой агрессивностью и смертностью [1]. Известно, что протеазы активно вовлекаются в развитие злокачественных опухолей [2, 3], но не все протеолитические системы хорошо изучены. Интересно изучение специфических

внутриклеточных протеиназ (протеасомы и кальпаины), т.к. протеолитические системы регулируют белки, важные для опухолевой прогрессии [4].

Материал и методы. Исследовалась неизменная и опухолевая ткань от 40 больных НМРЛ (T2–3N0–2M0). Все больные не получали предоперационной терапии. Активность протеасом и кальпаинов оценивали флюорометрическим методом по гидролизу флуорогенного олигопептида (Suc-LLVY-AMC для ХПА, Cbz-LLG-AMC для КПА, Suc-LLVT-AMC для АК).

Результаты и обсуждение. В работе проводилось изучение активности протеасом и кальпаинов при НМРЛ. Показано значимое увеличение ХПА, КПА протеасом и АК в опухолевой ткани по сравнению с неизменной (табл. 1). Такое усиление внутриклеточного протеолиза свидетельствует об ускорении протекания метаболических процессов в клетках при опухолевой трансформации.

Таблица 1

Активность протеасом и кальпаинов в опухолевой и неизменной ткани

Показатель	Неизменная ткань	Первичная опухоль	Лимфогенные метастазы
ХПА	11,45	41,42*	36,63*
(10 ³ Ед/мг белка)	(5,89; 19,50)	(24,73; 78,77)	(21,76; 56,25)
КПА	14,19	31,39*	27,42*
(10 ³ Ед/мг белка)	(10,16; 19,78)	(16,77; 63,51)	(11,59; 44,82)
АК	36,38	87,69*	67,01*
(10 ³ Ед/мг белка)	(17,00; 57,19)	(46,97; 178,42)	(32,81; 161,11)

Примечание: * – значимость различий достоверна по сравнению с группой неизменной ткани, p<0,05.

АК резко падала как в ткани первичной опухоли, так и в ткани метастазов (в 2,5 и 5 раз соответственно) при переходе процесса со стадии T2N0–2M0 на стадию T3N0–2M0 (табл. 2). Такое ингибирование работы кальпаинов может быть связано с окислением цистеина в их активном центре при окислительном стрессе в опухоли [5].

Таблица 2

Активность протеасом и кальпаинов в опухолевой ткани в зависимости от распространенности первичной опухоли

Показатель	Первичная опухоль	
	T ₂ N ₀₋₂ M ₀	T ₃ N ₀₋₂ M ₀
ХПА	44,44	41,42
(10 ³ Ед/мг белка)	(34,44; 55,52)	(25,68; 77,57)
КПА	22,69	31,20
(10 ³ Ед/мг белка)	(15,46; 40,82)	(22,77; 70,41)
АК	113,25	46,97*
(10 ³ Ед/мг белка)	(69,66; 194,57)	(36,06; 87,70)
Показатель	Ткань лимфогенных метастазов	
	T ₂ N ₀₋₂ M ₀	T ₃ N ₀₋₂ M ₀
ХПА	20,08	36,63
(10 ³ Ед/мг белка)	(11,76; 62,11)	(7,39; 42,27)
КПА	19,94	27,30
(10 ³ Ед/мг белка)	(10,59; 75,96)	(11,34; 39,44)
АК	168,75	33,12*
(10 ³ Ед/мг белка)	(67,01; 237,50)	(21,33; 76,59)

Примечание: * – значимость различий достоверна по сравнению с группой

T₂N₀₋₂M₀.

При вовлечении в опухолевый процесс регионарных лимфоузлов наблюдались нелинейные изменения в активности протеасом (табл. 3). На начальных этапах регионарного метастазирования (при переходе со стадии T2–3N0M0 на стадию T2–3N1M0) наблюдалось снижение ХПА и КПА протеасом как в ткани первичной опухоли, так и в ткани метастазов. При дальнейшем прогрессировании поражения лимфоузлов (T2–3N2M0) активности протеасом повсеместно возрастали. Подобные волнообразные изменения активности протеасом показаны также при раке молочной железы [6].

Таблица 3

Активность протеасом и кальпаинов в опухолевой ткани в зависимости от распространенности процесса на регионарные лимфоузлы

Показатель	Первичная опухоль		
	$T_{2-3}N_0M_0$	$T_{2-3}N_1M_0$	$T_{2-3}N_2M_0$
ХПА	50,22	26,49*	41,42**
(10 ³ Ед/мг белка)	(44,44; 55,52)	(9,92; 32,22)	(32,47; 100,00)
КПА	50,53	23,40*	57,45**
(10 ³ Ед/мг белка)	(47,70; 54,79)	(18,07; 40,82)	(47,81; 62,98)
АК	61,96	99,31	46,97
(10 ³ Ед/мг белка)	(32,98; 94,57)	(69,66; 110,07)	(31,02; 102,66)
Показатель	Ткань лимфогенных метастазов		
	$T_{2-3}N_0M_0$	$T_{2-3}N_1M_0$	$T_{2-3}N_2M_0$
ХПА	42,88	20,08*	47,60**
(10 ³ Ед/мг белка)	(41,67; 45,00)	(8,45; 39,15)	(38,79; 53,15)
КПА	47,12	15,08*	37,74**
(10 ³ Ед/мг белка)	(37,23; 71,32)	(7,35; 28,87)	(30,39; 41,98)
АК	45,84	92,17	39,44
(10 ³ Ед/мг белка)	(37,24; 146,04)	(25,85; 187,60)	(31,98; 76,59)

Примечание: * – значимость различий достоверна по сравнению с группой $T_{2-3}N_0M_0$; ** – значимость различий достоверна по сравнению с группой $T_{2-3}N_1M_0$.

Выводы. Выявлена связь ХПА и КПА протеасом и АК с прогрессированием НМРЛ. Показано, что при увеличении распространенности первичной опухоли ингибируется работа кальпаинов. При вовлечении в процесс регионарных лимфоузлов протеасомная система реагирует сначала снижением, а затем подъемом своей активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиссов В.И., Давыдов М.И. Онкология. Москва: ГЭОТАР-Медиа. 2013. 576.
2. Кондакова И.В., Клишио Е.В., Савенкова О.В., Какурина Г.В., Чойнзоннов Е.Л., Шишкин Д.А., Мухамедов М.Р. Матриксные металлопротеиназы 2 и 9 и их тканевые ингибиторы как факторы метастазирования злокачественных новообразований головы и шеи. Биомедицинская химия. 2008; 54(5): 555–560.
3. Колегова Е.С., Кондакова И.В., Завьялов А.А. Малые белки теплового шока и убиквитин-протеасомная система при злокачественных опухолях. Вопросы онкологии. 2016; 3: 401–405.
4. Шапова Е.Е., Колегова Е.С., Завьялов А.А., Слонимская Е.М., Кондакова И.В. Изменение активности протеасом и кальпаинов при метастазировании рака легкого и рака молочной железы человека. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017; 163(4): 486–489.
5. Gopalakrishna R., Jake N.S. Protein kinase C signaling and oxidative stress. Free Radic. Biol. Med. 2000; 28(5): 1379–1386.
6. Shashova E.E., Astakhova T.M., Plekhanova A.S., Bogomyagkova Y.V., Lyupina Y.V., Sumedi I.R., Slonimskaya E.M., Erokhov P.A., Abramova E.B., Rodoman G.V., Kuznetsov N.A., Kondakova I.V., Sharova N.P., Choinzonov E.L. Changes in proteasome chymotrypsin-like activity during the development of human mammary and thyroid carcinomas. Bull. of Exper. Biol. and Med. 2013; 156(2): 242–244

ДВУХФОТОННАЯ МИКРОСКОПИЯ ЭКЗОСОМ ПЛАЗМЫ КРОВИ В ДИАГНОСТИКЕ И ПРОГНОЗЕ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Е.А. Тугутова¹, А.И. Князькова², А.А. Цыденова¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

В работе проведено исследование экзосом плазмы крови с помощью мультифотонной томографии (двухфотонной микроскопии). Экзосомы были выделены из плазмы крови больных колоректальным раком и здоровых доноров. Получены изображения флуоресценции экзосом на длине волны 760 нм и генерации второй гармоники на длине волны 380 нм. В результате анализа полученных данных обнаружены качественные различия между образцами от пациентов с колоректальным раком и здоровых доноров. Также обнаружено скопление экзосом в области длительного воздействия интенсивного лазерного излучения.

Ключевые слова: экзосомы, колоректальный рак, двухфотонная микроскопия.

TWO-PHOTON MICROSCOPY OF PLASMA EXOSOMES IN THE DIAGNOSIS AND PROGNOSIS OF COLORECTAL CANCER

E.A. Tugutova¹, A.I. Knyazkova², A.A. Tsydenova¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

Abstract

Exosomes of blood plasma were studied using multiphoton tomography (two-photon microscopy). Exosomes were isolated from the blood plasma of patients with colorectal cancer and healthy donors. Images of fluorescence of exosomes were obtained at a wavelength of 760 nm and second harmonic generation at a wavelength of 380 nm. As a result of the analysis of the obtained data, qualitative differences were found between samples from patients with colorectal cancer and healthy donors. Also, an accumulation of exosomes to the region of prolonged exposure to intense laser radiation was observed.

Keywords: exosomes, colorectal cancer, two-photon microscopy.

В структуре онкологической заболеваемости Российской Федерации и смертности от злокачественных новообразований колоректальный рак занимает третье место. Неуклонный рост заболеваемости и смертности населения от колоректального рака, высокий процент местнораспространенных и метастатических форм делают актуальным вопрос диагностики и прогнозирования данного заболевания [1]. Поскольку в крови онкологических больных присутствуют экзосомы (внеклеточные везикулы размером 30–100 нм), секретируемые опухолевыми клетками и несущие в своем составе биополимеры, характерные для родительских клеток, эти везикулы все чаще используют в качестве материала для «жидкой биопсии» опухолей. На данный момент исследование экзосом для диагностики и мониторинга опухолевого роста является перспективным направлением в онкологии. Это важно как для первичной диагностики, так и для контроля метастатических процессов [2, 3].

Исследование одобрено Биоэтическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ. Образцы крови были получены у 15 больных колоректальным раком T2–4N1–2M1 и у 6 здоровых доноров. Все пациенты полностью информированы о цели исследования и предоставили информированное письменное согласие. Экзосомы из плазмы крови были выделены методом ультрафильтрации с двойным ультрацентрифугированием [4]. Образцы выделенных экзосом были охарактеризованы с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, а также методом проточной цитометрии по содержанию наиболее распространенных мембранных белков экзосом: CD9, CD63, CD81 и CD24 [5, 6]. Визуализация флуоресценции экзосом на длине волны 760 нм и генерации второй гармоники на длине волны 380 нм выполнена на мультифотонном томографе MPTflex (JenLab, Germany).

На рис. 1 показаны изображения флуоресценции экзосом на длине волны 760 нм у больного метастатическим колоректальным раком (рис. 1а), местнораспространенным колоректальным раком (рис. 1б) и здорового донора (рис. 1в). На рис. 1 видно, что концентрация экзосом и их флуоресценция существенно отличаются для случаев метастатического колоректального рака, местнораспространенного колоректального рака и образцов здоровых доноров.

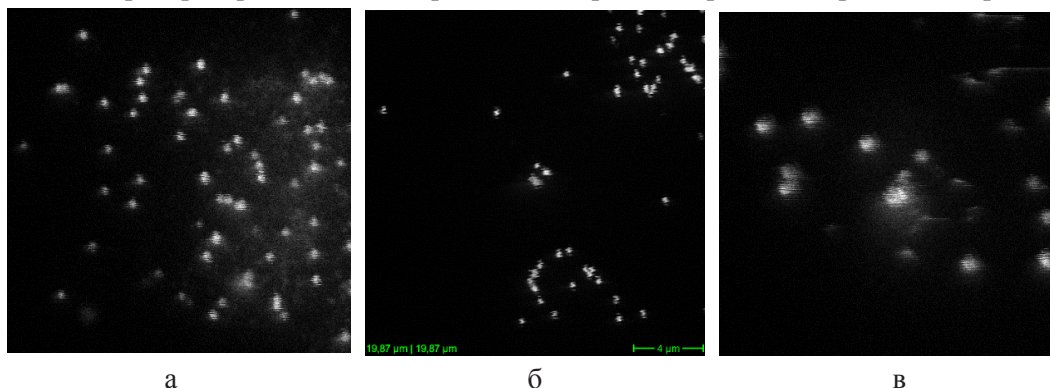


Рис. 1. Флуоресценция экзосом у больного метастатическим колоректальным раком (а), местнораспространенным колоректальным раком (б) и здорового донора (в)

Аналогичная картина наблюдалась при исследовании других образцов из взятой нами выборки. На рис. 2 показаны изображения генерации второй гармоники на длине волны 380 нм у больного метастатическим колоректальным раком (рис. 2а), местно-распространенным колоректальным раком (рис. 2б) и здорового донора (рис. 2в), снятые одновременно с изображениями, показанными на рис. 1, в той же области пространства.

На рис. 2 видно, что утверждения, сделанные для флуоресценции, справедливы и для случая генерации второй гармоники, однако из сравнения рис. 1 и рис. 2 следует, что не все флуоресцирующие экзосомы видны на изображениях генерации второй гармоники и наоборот. Следовательно, с помощью изображений флуоресценции и генерации второй гармоники можно различить несколько типов экзосом либо обнаружить примеси других наночастиц.

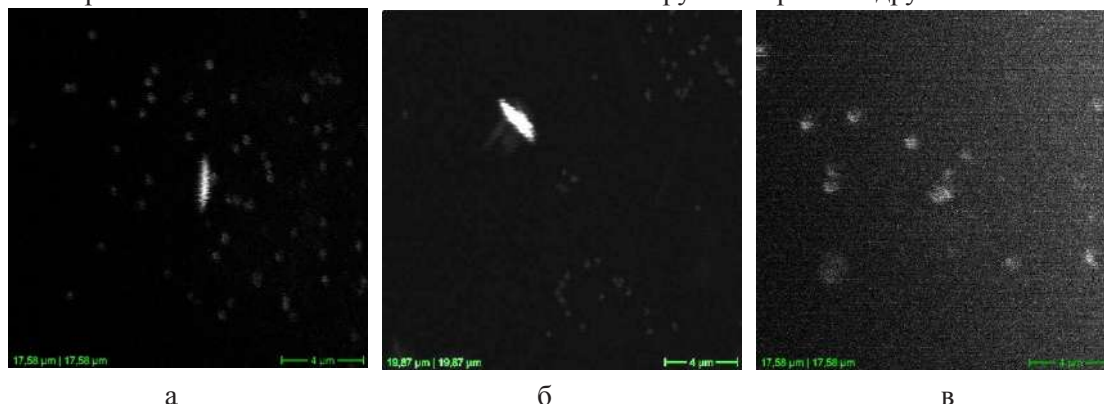


Рис. 2. Изображения генерации второй гармоники экзосом у больного метастатическим колоректальным раком (а), местнораспространенным колоректальным раком (б) и здорового донора (в)

На рис. 3 показаны изображения флуоресценции (рис. 3а) и генерации второй гармоники (рис. 3б) для буферной жидкости (PBS). Из сравнения рис. 1 и 2 с рис. 3 очевидно, что экзосомы обладают достаточно сильной флуоресценцией и отображаются на изображениях генерации второй гармоники.

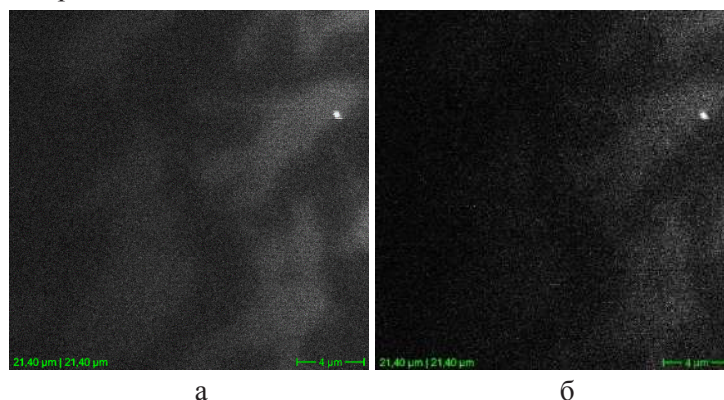


Рис. 3. Изображения флуоресценции (а) и генерации второй гармоники (б) для буферной жидкости (PBS)

На рис. 4 показаны изображения флуоресценции (рис. 4а) и генерации второй гармоники (рис. 4б) для экзосом при длительном воздействии лазера.

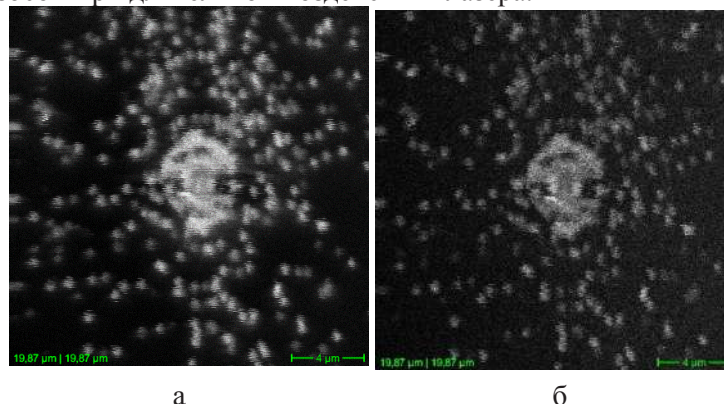


Рис. 4. Изображения флуоресценции (а) и генерации второй гармоники (б) для экзосом при длительном воздействии лазера

Экзосомы обладают сильной флуоресценцией и отображаются при длинах волн 760 нм и 380 нм. В результате анализа полученных данных обнаружены качественные различия флуоресценции экзосом плазмы крови для случаев метастатического, местно-распространенного колоректального рака и здоровых доноров. Таким образом, двухфотонная микроскопия экзосом плазмы крови является перспективным направлением в диагностике и прогнозе колоректального рака.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федоров В.Э., Поделякин К.А. Эпидемиологические аспекты колоректального рака. Медицинский альманах. 2017; 49(4): 145–148.
2. Юнусова Н.В., Тамкович С.Н., Кондакова И.В. Экзосомы в различных биологических жидкостях: состав и функции. Молекулярная медицина. 2017;15(4):14–22.
3. Юнусова Н.В., Кондакова И.В., Коломиец Л.А., Молчанов С.В. Протеасомы и экзосомы при раке яичников: связь с особенностями клинического течения и прогнозом. Сибирский онкологический журнал. 2014; 4: 53–59.
4. Tamkovich S.N., Yunusova N.V., Stakheeva M.N., Somov A.K., Frolova A.Y., Kirushina N.A., Afanasyev S.G., Grigoryeva A.E., Laktionov P.P., Kondakova I.V. Isolation and characterization of exosomes from blood plasma of breast cancer and colorectal cancer patients. Biochemistry. Suppl. Series B: Biomedical Chemistry. 2017; 11(3): 291–295.
5. Yunusova N.V., Tamkovich S.N., Stakheeva M.N., Afanas'ev S.G., Frolova A.Y., Kondakova I.V. The characterization of exosome from blood plasma of patients with colorectal cancer. AIP Conference Proceedings. 1760(1): 020070.
6. Yunusova N.V., Tamkovich S.N., Stakheeva M.N., Grigor'eva A.A., Somov A.K., Tugutova E.A., Kolomiets L.A., Molchanov S.V., Afanas'ev S.G., Kakurina G.V., Choinzonov E.L., Kondakova I.V. The characterization of exosomes from biological fluids of patients with different types of cancer. AIP Conference Proceedings. 2017: 1882020080.

АДЪЮВАНТНАЯ И НЕОАДЪЮВАНТНАЯ ХИМИОГОРМОНОТЕРАПИЯ У БОЛЬНЫХ С НАЛИЧИЕМ МЕТАСТАЗОВ В ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ И ОЛИГОМЕТАСТАЗОВ В КОСТЯХ СКЕЛЕТА ПРИ РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ВЫСОКОГО РИСКА ПРОГРЕССИРОВАНИЯ. СОБСТВЕННЫЙ ОПЫТ

Т.В. Устинова^{1,2}, Л.В. Болотина¹, Б.Я. Алексеев¹, Н.В. Харченко²,
К.М. Ньюшко¹, А.А. Пайчадзе¹

МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» МР, г. Москва, Россия¹
Российский университет дружбы народов (РУДН), г. Москва, Россия²

Аннотация

Рак предстательной железы (РПЖ) является одним из ведущих в структуре онкологической заболеваемости у мужчин. В настоящее время при лечении РПЖ с наличием метастазов в лимфатических узлах и олигометастазов в костях скелета используют химиогормонотерапию, переносимость которой еще не до конца изучена. В нашей работе показано, что этот метод лечения у данной категории больных является малотоксичным. Основными проявлениями токсичности явились гематологическая и гастроинтестинальная, однако они не превышали степень I–II.

Ключевые слова: рак предстательной железы, химиогормонотерапия.

ADJUVANT AND NEOADJUVANT CHEMO-HORMONOTHERAPY IN PATIENTS WITH METASTASES IN LYMPHATIC NODES AND OLIGOMETHASTASES IN BONES OF THE SKELETON WITH PROSTATE CANCER OF HIGH PROGRESS RISK. OWN EXPERIENCE

T.V. Ustinova^{1,2}, L.V. Bolotina¹, B.Ya. Alekseev¹, N.V. Kharchenko²,
K.M. Nyushko¹, A.A. Paichadze¹

Moscow Research Institute of Oncology P.A. Herzen Branch of FGBU «NMI of radiology» of Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia¹
RUDN university, Moscow, Russia²

Abstract

Prostate cancer is one of the leading in the structure of oncological morbidity in men. Currently in the treatment of prostate cancer with the presence of metastases in the lymph nodes and oligometastases in the bones of the skeleton chemo-hormonotherapy is used. The tolerability of this therapy has not yet been fully studied. In our work we showed that this method of treatment in this category of patients is low-toxic. The main manifestations of toxicity were hematologic and gastrointestinal toxicity, but they did not exceed of the III degree.

Keywords: Prostate cancer, chemo-hormonotherapy.

Введение. Рак предстательной железы (РПЖ) в настоящее время является одним из наиболее часто встречающихся злокачественных новообразований у мужчин. В структуре онкологической заболеваемости в России РПЖ занимает 2-е место после рака легкого и 3-е место в структуре смертности. РПЖ у лиц моложе 40 лет отмечается редко, в среднем возраст заболевших составляет 50–70 лет. В 2015 г. в России выявлено 38812 новых случаев РПЖ, при этом средний возраст мужчин с впервые выявленным раком составил 69,6 года (в 2005 году данный показатель был несколько выше – 70,6 года). Стандартизованный показатель заболеваемости РПЖ в 2015 году на 100 тысяч мужского населения в России составлял 40,23. При среднегодовом темпе прироста 6,68 % прирост заболеваемости РПЖ с 2005 по 2015 год достиг 105,65 % [1].

На сегодняшний день взгляд на проблему лечения рака предстательной железы (РПЖ) с наличием метастазов в лимфатических узлах и олигометастазов в костях скелета изменился в сторону применения агрессивного мультимодального подхода с использованием наиболее рациональных комбинаций среди всех имеющихся методов воздействия.

Целью исследования является оценка переносимости и эффективности химиогормонотерапии (ХГТ) у больных раком предстательной железы высокого риска прогрессирования заболевания.

Материал и методы. За период с 07.2016 по настоящее время в исследование включено 42 больных РПЖ высокого риска прогрессирования (Т3aN+, Т3aN+M1) в возрасте 43–72 лет. На старте всем больным выполнялись КТ органов грудной и брюшной полостей, МРТ малого таза, определялся уровень ПСА. Адьювантная (n=21) и неoadьювантная (n=21) ХГТ проводилась каждые 3 нед в режиме: доцетаксел 75 мг/м² в/в в 1-й день 21-дневного цикла на фоне перорального приема преднизолона 10 мг/сут. Гормональная терапия включала аЛГРГ. Длительность лечения составила 6 мес с контрольным обследованием после 3-го и 6-го циклов.

Результаты. Всего проведено 228 курсов ХГТ. Тридцать четыре пациента на момент наблюдения завершили весь объем лекарственного лечения. Тринадцати пациентам выполнена радикальная простатэктомия с расширенной тазовой и парааортальной лимфаденэктомией. По данным планового патоморфологического исследования у 12 пациентов отмечен патоморфоз 2-й степени, у 1 пациента – 3-й степени. На момент наблюдения у 8 больных зарегистрировано прогрессирование заболевания – 4 пациента в группе АХГТ и 4 в группе НАХГТ. Медиана безрецидивной выживаемости (БРВ) в группе адьювантной ХГТ составила 11 мес, в группе неoadьювантной ХГТ – 8 мес.

Основными проявлениями токсичности явились гематологическая (n=13) и гастроинтестинальная (диарея (n=4), стоматит (n=3)), однако они не превышали I–II степень. Гематологическая токсичность III степени была зарегистрирована у 3 пациентов. С целью профилактики развития клинически значимых проявлений 2/3 больных получали КСФ уже с 3-го дня лечебного цикла. У двух пациентов была отмечена фебрильная нейтропения, потребовавшая редукции дозы цитостатика на 20 %. Относительно удовлетворительная переносимость и приемлемый уровень качества жизни позволили подавляющему числу больных проводить лечение в амбулаторных условиях.

Выводы. Предварительные результаты свидетельствуют о низкой токсичности комбинированного лечения у больных при проведении химиогормонотерапии по поводу РПЖ высокого риска прогрессирования, а также демонстрируют эффективность данного режима у отобранного контингента больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 г. (заболеваемость и смертность). М., 2017.

СОСТОЯНИЕ ГЕМОСТАЗА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КОМБИНИРОВАННОЙ АНЕСТЕЗИИ КСЕНОНОМ И ДЕКСМЕДЕТОМИДИНОМ

В.В. Фальтин, С.В. Авдеев, С.Г. Афанасьев, К.В. Шалыгина, И.П. Путеев

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Комбинация антагониста NMDA-рецепторов ксенона и альфа2-агониста дексмететомидина в сочетании с эпидуральной анальгезией оказывает меньшее влияние на физиологическую регуляцию гемостаза на всех этапах радикальных операций по поводу рака желудка. Что не увеличивает риск интра- и послеоперационных геморрагических и тромбозных осложнений.

Ключевые слова: ксенон, дексмететомидин, гемостаз, тромбоз, тромбоэластометрия, рак желудка.

HEMOSTASIS AT USE COMBINED ANESTHESIA BY XENON AND DEXMEDETOMIDINE

V.V. Faltin, S.V. Avdeev, S.G. Afanasiev, K. V.Shalygina, I.P. Puteev

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The combination of xenon and alpha2-agonist dexmedetomidine with epidural analgesia has a lesser effect on the physiological regulation of hemostasis at all stages of radical surgery for gastric cancer. The method does not increase the risk of intra- and postoperative hemorrhagic and thromboembolic complications.

Keywords: xenon, dexmedetomidine, hemostasis, thrombosis, thromboelastometry, stomach cancer.

Актуальность. Нарушения гемостаза у онкологических больных – важный пусковой фактор периоперационных осложнений, в первую очередь интра- и послеоперационных кровотечений, тромбозов и тромбоэмболий [1].

Анестезиологическое пособие рассматривается с двух позиций, во-первых, это фактор, влияющий на гемостаз, способный усугублять влияние операционного стресса на нарушение равновесия в образовании и растворении тромбов, а во-вторых, это средство профилактики тромбоэмболических и геморрагических осложнений в периоперационном периоде [2].

Комплексная защита организма в виде комбинации антагониста NMDA-рецепторов ксенона и альфа2-агониста дексмететомидина в сочетании с эпидуральной анальгезией соответствует концепции мультимодального подхода к анестезиологическому пособию и обеспечивает необходимую степень антистрессовой защиты [3].

Принимая во внимание влияние анестезиологического обеспечения на свертывающую, антикоагулянтную и фибринолитическую системы, периоперационный мониторинг гемостаза при том или ином виде анестезии представляется весьма актуальным.

Цель – изучить изменения гемостаза при использовании комбинированной анестезии ксеноном и дексмететомидином в сочетании с эпидуральной анальгезией при операциях по поводу рака желудка.

Материал и методы. В исследование вошли 53 пациента с операбельным раком желудка. Средний возраст больных составил 56 лет (возрастной диапазон от 26 до 75 лет), из них 30 (56,6 %) мужчин и 23 (43,4 %) женщины, ASA I–III. В плановом порядке пациентам были выполнены следующие оперативные вмешательства: гастрэктомия (n=21), субтотальная дистальная резекция желудка (n=32). Все пациенты были разделены на 2 клинические группы. В основной группе 27 пациентам проводилась комбинированная анестезия ксеноном и дексмететомидином в сочетании с эпидуральной анальгезией. В контрольной группе 26 больным проводилась анестезия севофлюраном в сочетании с эпидуральной анальгезией.

Исследование гемостаза проводили в течение периоперационного периода (I – до операции, II – основной этап операции, III – конец операции, IV – 1-е сут после операции, V – 3-и сут после операции) по показателям классической коагулограммы: ПТВ, АЧТВ, ТВ, РФМК, уровень фибриногена, и показателям тромбоэластометрии (ROTEM): время сгущения (СТ), время формирования сгустка (CFT), угол α , максимальная прочность сгустка (MCF), максимальная гибкость сгустка (MCE). Пациенты не получали перед операцией антикоагулянтной терапии, в послеоперационном периоде проводилась тромбопрофилактика в виде эластической компрессии нижних конечностей и назначением НМГ в рекомендуемых дозах.

Результаты. Показатели классической коагулограммы и тромбоэластометрии (ROTEM) на всех этапах исследования находились в пределах нормированных значений. До операции их значения у больных сравниваемых групп были одинаковыми. У пациентов с комбинированной анестезией ксеноном и дексметомидином во время и после окончания операции свертывающая система по показателям коагулограммы и тромбоэластограммы имела тенденцию к гиперкоагуляции в сравнении с анестезией севофаном, но без значимого изменения в сравнении с исходными значениями. Это говорит о меньшем риске интраоперационного и раннего послеоперационного кровотечения. На 1-е и 3-и сут гипокоагуляция наблюдалась у пациентов обеих групп, но в основной группе действие гепарина было более выражено по показателям как стандартной коагулограммы, так и по данным тромбоэластометрии. MCE в основной группе на 1-е сут после операции ниже ($p < 0,05$) в сравнении с показателями в контрольной группе 181,0 сек и 199,0 сек соответственно. Увеличение максимальной гибкости сгустка достоверно свидетельствует о сверхпропорциональных силовых показателях сгустка, что может, в свою очередь, говорить о потенциальном тромбоэмболическом риске.

Заключение. Комбинация ксенона и дексметомидина в сочетании с эпидуральной анальгезией оказывает меньшее влияние на гемостаз во время операции, с сохранением баланса между свертывающей и антикоагулянтной системой в послеоперационном периоде, что не увеличивает риск интра- и послеоперационных геморрагических и тромбоэмболических осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ishii H. Monitoring of blood coagulation in perioperative care. Masui. 2012 Jan; 61(1): 4756.
2. Любошевский П.А., Забусов А.В., Артамонова Н.И. Влияние области операции и метода анестезии на нарушения гемостаза. Общая реаниматология. 2009; 5(4): 13. doi: 10.15360/1813-9779-2009-4-13
3. Авдеев С.В., Афанасьев С.Г., Фальтин В.В., Шалыгина К.В., Гердт Л.В. Стресс-ответ при радикальных операциях по поводу рака желудка. Сибирский онкологический журнал. 2017; 16(6): 2530. doi: 10.21294/1814-4861-2017-16-6-25-30.

СИМР-ФЕНОТИП КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА АССОЦИИРОВАН С МУТАЦИОННЫМ СТАТУСОМ ГЕНОВ *BRAF, RNF43, ARID1A, MUC6, TP53, APC*

М.С. Федорова¹, Е. Лукьянова¹, Г.С. Краснов¹, А.В. Снежкина¹,
С.Л. Харитонов^{1,2}, Е.А. Пудова¹, М.А. Черниченко², Д.В. Сидоров²,
М.В. Киселева², А.Д. Каприн², А.В. Кудрявцева^{1,2}

Институт молекулярной биологии им. Энгельгардта РАН, г. Москва, Россия¹
Национальный медицинский научно-исследовательский радиологический центр
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия²

Аннотация

Разработан подход к идентификации группы опухолей СИМР (CpG island promoter phenotype)-подобного (НМ+) фенотипа, основанный на анализе глобальных профилей метилирования CpG-сайтов. Проведён детальный анализ взаимосвязи между наличием различных драйверных мутаций в опухолевом образце и установлением СИМР-подобного фенотипа. Отобраны гены, которые являются потенциальными драйверами развития рака толстой кишки (KRAS, BRAF, APC, TP53 и другие), по данным TCGA. Для этих генов проведён корреляционный анализ между присутствием несинонимичных мутаций в опухоли и медианой уровня метилирования по маркерному набору CpG-сайтов как признака наличия СИМР-фенотипа (проанализированы разные критерии отбора маркерных сайтов). Показано, что развитие СИМР-подобного фенотипа может часто сопровождаться мутациями в BRAF, RNF43, ARID1A, MUC6 и обратно коррелирует с наличием мутаций в TP53, APC.

Ключевые слова: колоректальный рак, CIMP-фенотип, драйверные мутации, биоинформатический анализ.

THE CIMP PHENOTYPE OF COLORECTAL CANCER IS ASSOCIATED WITH THE MUTATIONAL STATUS OF THE BRAF, RNF43, ARID1A, MUC6, TP53, APC GENES

M.S. Fedorova¹, E. Lukyanova¹, G.S. Krasnov¹, A.V. Snezhkina¹,
S.L. Kharitonov^{1,2}, E.A. Pudova¹, M.A. Chernichenko², D.V. Sidorov²,
M.V. Kiseleva², A.D. Kaprin², A.V. Kudryavtseva^{1,2}

Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia¹
National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia²

Abstract

Novel approach have been developed to the identification of the CIMP-like (CpG island promoter phenotype, HM+) colorectal tumors. This approach is based on the analysis of global CpG methylation profiles. We have carried out a detailed analysis of the relationship between the presence of driver mutations and the development of a CIMP-like phenotype. Using TCGA data and Oncotator, which includes MutSig, an algorithm for the identifying driver genes and mutations, we selected potential drivers of colorectal cancer (KRAS, BRAF, APC, TP53, etc.). We performed the correlation analysis between the presence of nonsynonymous mutations in driver genes and the median methylation level of the marker set of CpG sites (different selection criteria have been analyzed). It has been shown that the development of a CIMP-like phenotype can often be accompanied by mutations in BRAF, RNF43, ARID1A, MUC6 genes and negatively correlates with the presence of mutations in TP53, APC.

Keywords: colorectal cancer, CIMP phenotype, driver mutations, bioinformatic analysis.

Актуальность. Молекулярный фенотип опухолей толстой кишки, характеризующийся интенсивным гиперметилированием промоторных областей различных генов (CIMP, CpG island methylator phenotype), встречается в 15–20 % всех случаев рака колоректального рака (КРР) [1, 2]. Одна из основных проблем, связанных с выявлением и характеристикой случаев CIMP-фенотипа, объясняется отсутствием чётких критериев, очерчивающих этот подтип КРР. В различных исследованиях предлагаются разные критерии идентификации CIMP. Наиболее часто используют панель метиломных маркеров – гены *MLH1*, *p16*, *MINT1*, *MINT2*, и *MINT31* [1–3]. В эту панель могут быть дополнительно включены и 9 других генов [2, 4]. С расширением арсенала средств и накоплением данных крупномасштабного анализа транскриптома и метилома возросли и возможности поиска более точных и эффективных критериев выявления CIMP-опухолей и анализа взаимосвязи между развитием опухолей CIMP-фенотипа и изменениями в сигнальных и метаболических путях, претерпеваемых клеткой на пути опухолевой трансформации и дальнейшего прогрессирования заболевания [1].

Цель исследования – биоинформатический поиск ассоциации между наличием драйверных мутаций и CIMP-фенотипа при колоректальном раке.

Материал и методы. Для разработки критериев выявления опухолей CIMP-фенотипа и оценки их информативности нами использованы данные The Cancer Genome Atlas (TCGA), а именно результаты оценки степени метилирования около 300 тыс. CpG сайтов генома человека (микрочипы Infinium Human Methylation 450K BeadChip; 297 образцов РТК и 38 образцов прилежащих норм), данные по соматическим мутациям (экзомное секвенирование; 272 образца КРР). Анализ данных проведён с использованием модифицированного приложения CrossHub [5].

Для идентификации потенциальных драйверных генов при КРР нами был применено средство аннотации мутаций Oncotator [<https://portals.broadinstitute.org/oncotator/help/>], а именно алгоритм MutSig [<http://software.broadinstitute.org/cancer/software/genepattern/modules/docs/MutSigCV>].

Результаты. Разработан ряд критериев для отбора опухолей CIMP-подобного фенотипа, основанный на анализе глобальных профилей метилирования CpG-сайтов, для различных видов рака. Подход был применён для выделения CIMP-подобных опухолей среди всех образцов по данным TCGA. Подход включает в себя предварительный отбор сайтов, относящихся к промоторным или энхансерным областям (в зависимости от выбранного критерия; данные ENCODE) и входящих в топ 1–10 % (также в зависимости от критерия) дифференциально метилированных CpG-сайтов по данным TCGA при рассматриваемом виде рака. Такой подход, согласно метиломным данным TCGA, позволяет выявить от 4 до 20 % образцов, характеризующихся повышенным уровнем метилирования, практически для всех проанализированных видов опухолей человека.

При помощи средства аннотации мутаций Oncotator отобраны гены, наиболее вероятно являющиеся драйверами одновременно для нескольких видов рака (такие как *TP53*, *PTEN*, *PIK3CA*, *CDKN2A*, *KRAS* и др.). Также для отдельных видов рака отобрано по 100 наиболее значимых генов-драйверов (для КРР – это гены *APC*, *ACVR2A*, *BRAF* и др.).

Проведена оценка эффективности различных критериев отбора CIMP-подобных опухолей на основе взаимосвязи с присутствием драйверных мутаций в образце и выраженностью изменений экспрессии генов, относящихся к различным биологическим процессам. Для колоректального рака наибольшую корреляцию с присутствием (ин)активирующих мутаций в *APC*, *BRAF*, другими идентифицированными драйверами РТК (*RNF43*, *TP53*, *MUC6*, *ARID1A*), а также общим мутационным фоном показал критерий, предполагающий: 1) отбор CpG сайтов, аннотированных как промоторные как минимум в 2 из 6 клеточных линий из ENCODE; 2) выделение среди них топ 10 % дифференциально метилированных в опухолях; 3) подсчёт 50-го перцентиля, или медианы, уровня метилирования (β -value) для этих сайтов. Превышение полученного значения выше порогового уровня является признаком отнесения опухоли к группе CIMP-подобных.

Заключение. Нами проведён детальный анализ взаимосвязи между наличием различных драйверных мутаций в опухолевом образце и установлением CIMP-подобного фенотипа. Показано, что развитие CIMP-подобного фенотипа может часто сопровождаться мутациями в *BRAF*, *RNF43*, *ARID1A*, *MUC6* и обратно коррелирует с наличием мутаций в *TP53*, *APC* ($p < 0.001$). Это хорошо согласуется с современными представлениями о путях развития CIMP-фенотипа колоректального рака.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-15-01083). Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Геном» ИМБ РАН (http://www.eimb.ru/rus/ckp/ccu_genome_c.php)

ЛИТЕРАТУРА

1. Kudryavtseva A.V., Lipatova A.V., Zaretsky A.R., Moskalev A.A., Fedorova M.S., Rasskazova A.S., Shibukhova G.A., Snezhkina A.V., Kaprin A.D., Alekseev B.Y., Dmitriev A.A., Krasnov G.S. Important molecular genetic markers of colorectal cancer. *Oncotarget* 2016, 7(33): 5395953983. doi: 10.18632/oncotarget.9796.
2. Nazemalhosseini Mojarad E., Kuppen P.J., Aghdaei H.A., Zali M.R. The CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*. 2013; 6(3):120–128.
3. Hawkins N., Norrie M., Cheong K., Mokany E., Ku S.L., Meagher A., O'Connor T., Ward R. CpG island methylation in sporadic colorectal cancers and its relationship to microsatellite instability. *Gastroenterology* 2002; 122(5): 1376–1387.
4. Ogino S., Kawasaki T., Kirkner G.J., Kraft P., Loda M., Fuchs C.S. Evaluation of markers for CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer by a large population-based sample. *The Journal of molecular diagnostics: JMD* 2007, 9(3): 305–314. doi: 10.2353/jmoldx.2007.060170.
5. Krasnov G.S., Dmitriev A.A., Melnikova N.V., Zaretsky A.R., Nasedkina T.V., Zasedatelev A.S., Senchenko V.N., Kudryavtseva A.V. CrossHub: a tool for multi-way analysis of The Cancer Genome Atlas (TCGA) in the context of gene expression regulation mechanisms. *Nucleic acids research* 2016, 44(7): 62. doi: 10.1093/nar/gkv1478.
6. Consortium E.P. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 2012, 489(7414): 57–74. doi: 10.1038/nature11247.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МИНИМАЛЬНО ИНВАЗИВНЫХ ОПЕРАЦИЙ КАК ЭТАПА КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПИЩЕВОДА

Н.В. Хандогин, Р.И. Юрин, О.Ю. Мамонтов, Н.Е. Левченко, Е.Н. Слугин

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Впервые в России на большом клиническом материале (154 пациента группы минимально инвазивных эзофагэктомий и 120 пациентов группы традиционных эзофагэктомий) проведены: сравнение двух подходов в хирургии рака грудного отдела пищевода для оценки безопасности и соблюдения онкологических принципов, оценки преимуществ и недостатков методик эзофагэктомии; анализ непосредственных и отдалённых результатов минимально инвазивной эзофагэктомии после индукционной химиолучевой терапии.

Ключевые слова: минимально инвазивная эзофагэктомия, рак пищевода, тораколапароскопическая эзофагэктомия.

EFFECTIVENESS EVALUATION OF MINIMALLY INVASIVE ESOPHAGECTOMY AS THE PHASE OF ESOPHAGEAL CANCER COMPLEX TREATMENT

N.V. Khandogin, R.I. Yurin, O.Y. Mamontov, N.E. Levchenko, E.N. Slugin

FSBI «N. N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology» of Ministry of Public Health of Russia, Saint-Petersburg, Russia

Abstract

Large number of clinical cases — 154 patients of minimally invasive esophagectomy and 120 patients of conventional esophagectomy — was involved for the first time in Russia to compare two approaches in esophageal surgery by the means of safety, oncological principles abidance, benefits and drawbacks of esophagectomy strategy, immediate and further results of esophagectomy after neoadjuvant chemoradiation.

Keywords: Minimally invasive esophagectomy, esophageal cancer, thoracolaparoscopic esophagectomy.

Цель исследования – оценка онкологической адекватности, непосредственных и отдалённых результатов лечения больных раком пищевода при использовании минимально инвазивных операций как этапа комплексного лечения.

Задачи – оценить воспроизводимость, безопасность и онкологическую адекватность минимально инвазивной эзофагэктомии в хирургии рака пищевода; сравнить основные характеристики минимально инвазивных и традиционных операций; сопоставить характер и степень тяжести осложнений в послеоперационном периоде в зависимости от хирургического доступа; изучить частоту, структуру и причины несостоятельности пищеводно-желудочного анастомоза при минимально инвазивных и открытых оперативных вмешательствах; исследовать частоту, структуру и причины послеоперационной летальности после традиционных и минимально инвазивных оперативных вмешательств; сравнить показатели общей и безрецидивной выживаемости после минимально инвазивных и открытых оперативных вмешательств в зависимости от объёма лимфодиссекции, поражения регионарных лимфатических узлов и наличия предоперационной терапии.

Материал и методы. В исследование включено 274 пациента, которым в период 1995–2017 гг. выполнена расширенная эзофагэктомия с одномоментной пластикой желудочным стеблем в качестве самостоятельного метода лечения или как этапа комплексного лечения рака пищевода (табл. 1).

Таблица 1

Варианты оперативных вмешательств

Операции по McKeown, Lewis, Turner					
Расположение анастомоза	Шея	Плевральная полость	Шея	Плевральная полость	Шея
Доступ	Трансхиатальный	Торакотомия		Торакоскопия	
Лапаротомия	Традиционная эзофагэктомия			Гибридная	Трансбрюшинная
				Эзофагэктомия	
	Turner	Lewis	McKeown	Lewis	McKeown
	4	97	19	0	4

Операции по McKeown, Lewis, Turner					
Лапароскопия	Turner	Гибридная Трансторакальная Эзофагэктомия		Полностью минимально инвазивная эзофагэктомия	
		Lewis	McKeown	Lewis	McKeown
	1	44	3	41	61
Всего			274		

Средний возраст исследуемой популяции составил 59,3 года с возрастным диапазоном от 21 до 81 года.

Традиционная операция выполнялась из торакотомного и лапаротомного доступов. Если резекция пищевода выполнялась тораколапароскопически, то такая операция относилась к минимально инвазивной эзофагэктомии (minimally invasive esophagectomy, MIE). При выполнении одного из этапов открытым доступом операция относилась к гибридной минимально инвазивной эзофагэктомии (hybrid minimally invasive esophagectomy, HMIE).

Регистрировались пол, возраст пациентов, дата первичной морфологической верификации опухоли, гистологический тип опухоли, стадия заболевания, локализация опухоли, дата начала лечения, объём лечения, дата операции, тип операции, наличие конверсии при эндоскопическом вмешательстве, локализация, тип и способ формирования анастомоза, объём кровопотери, продолжительность операции, качество резекции, продолжительность пребывания в отделении реанимации, продолжительность госпитализации, состояние операционного материала (край резекции, наличие полного ответа), количество удалённых лимфатических узлов, метастатических лимфатических узлов, наличие осложнений и их характер, степень тяжести осложнения в соответствии со шкалой, срок возникновения осложнений после операции, факт рецидива или прогрессирования, дата последнего контакта с пациентом, общая и безрецидивная выживаемость, факт летального исхода и его причина.

Выводы. Гибридная минимально инвазивная эзофагэктомия и полностью минимально инвазивная эзофагэктомия являются воспроизводимыми и сопоставимыми с традиционной эзофагэктомией по безопасности и онкологической адекватности методами оперативного вмешательства.

Минимально инвазивные оперативные вмешательства сопровождаются статистически значимо меньшей интраоперационной кровопотерей (медиана — 200 мл, мода — 200 мл) в сравнении с традиционными оперативными вмешательствами (медиана — 600 мл, мода — 500 мл, , ДИ 95 %), длятся дольше (медиана 370 мин и 300 мин соответственно, мода 340 мин и 300 мин соответственно, , ДИ 95 %), способствуют сокращению продолжительности пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии (медиана и мода для минимально инвазивных операций — 1 койкодень, для традиционных операций медиана — 5 койкодней, мода — 4 койкодня, , ДИ 95 %).

Пневмония и респираторные осложнения возникают реже после минимально инвазивных эзофагэктомий (15,8 %), полностью минимально инвазивных эзофагэктомий (28,7 %), чем после традиционных операций (55,4 %) (, ДИ 95 %). Характер и степень тяжести других осложнений в ближайшем и отдалённом послеоперационном периодах не зависят от варианта эзофагэктомии (, ДИ 95 %). Проведение курса неоадьювантной химиолучевой терапии значимо увеличивает количество осложнений после полностью минимально инвазивной эзофагэктомии (57,4 %), чем после традиционных операций (45,0 %) (, ДИ 95 %).

Несостоятельность пищеводножелудочного анастомоза и шва желудочного стебля не зависит от варианта оперативного вмешательства, от способа формирования анастомоза (, ДИ 95 %), развивается реже при формировании анастомоза в плевральной полости (8,8 %) в сравнении с его шейным расположением (23,0 %) (, ДИ 95 %) и чаще — после курса неоадьювантной химиолучевой терапии при полностью минимально инвазивном варианте операции (23,0 %) в сравнении с традиционной эзофагэктомией (0 %) (, ДИ 95 %).

Факторами, увеличивающими частоту летальных исходов после операции, являются пневмония и осложнения дыхательной системы, несостоятельность анастомоза и желудочного шва, осложнения сердечно-сосудистой системы и возраст пациентов (, ДИ 95 %).

Вариант выполненного оперативного вмешательства не влияет на общую и безрецидивную выживаемость (, ДИ 95 %). На безрецидивную выживаемость влияет количество удалённых и метастатических лимфатических узлов (, ДИ 95 %). На общую выживаемость влияют размер первичной опухоли, количество метастатических лимфатических узлов, наличие лёгочных осложнений и возраст (, ДИ 95 %).

БЕЛКИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК MUSASHI В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ И МЕТАСТАЗИРОВАНИИ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Л.В. Харин¹, Н.С. Карнаухов¹, Е.И. Золотарева¹, М.В. Волошин²

ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия¹

ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия²

Аннотация

РНК-связывающие белки Musashi-1 (MSI-1) и Musashi-2 (MSI-2) являются регуляторами многих ключевых биологических процессов, связанных с иницированием рака, прогрессированием и лекарственной устойчивостью. Данное исследование было проведено для изучения экспрессии белка MSI-2 и его корреляции между частотой лимфатического узла и отдаленным метастазом, клинической стадией и выживаемостью. Было обнаружено, что белок MSI-2 был гиперэкспрессирован у 18 (78,2 %) пациентов с немелкоклеточным раком лёгкого (НМРЛ) и был связан с наличием распространенного заболевания ($p=0,046$), метастазами в лимфатических узлах ($p=0,012$) и плохой выживаемостью ($p=0,036$). В колоректальном раке (КРР) MSI-2 был высоко выражен у 16 (80 %) пациентов и был связан с отдаленным метастазом ($p=0,029$), инвазией ($p=0,035$) и низкой выживаемостью ($p=0,022$). В данной работе представлены результаты ИГХ исследований пациентов с НМРЛ и КРР на юге России. Ограничения этого исследования заключаются в том, что ИГХ не может полностью представлять весь образец опухоли ввиду ее гетерогенности и малой выборкой пациентов. Для подтверждения роли РНК-связывающего белка MSI-2 в качестве прогностического биомаркера при КРР и НМРЛ необходимы дополнительные исследования с большими выборками пациентов, которые проводятся нами в настоящее время.

Ключевые слова: РНК-связывающие белки; musashi-2; колоректальный рак, немелкоклеточный рак лёгкого, стволовые клетки, рак, опухолевые стволовые клетки.

MUSASHI STEM CELL PROTEINS IN CARCINOGENESIS AND METASTASIS OF SOLID TUMORS

L.V. Kharin¹, N.S. Karnaukhov¹, E.I. Zolotareva¹, M.V. Voloshin²

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia¹

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia²

Abstract

The RNA-binding proteins Musashi-1 (MSI-1) and Musashi-2 (MSI-2) are emerging as regulators of multiple critical biological processes relevant to cancer initiation, progression, and drug resistance. Current study was designed to investigate the expression of MSI-2 protein and its correlation between incidence of lymph node and distant metastasis, clinical stage and survival. The Musashi proteins were found to be over expressed in 18 (78,2 %) NSCLC patients and was associated with advanced disease ($p=0,046$), lymph node metastasis ($p=0,012$), and poor survival ($p=0,036$). In CRC MSI-2 was highly expressed in 16 (80 %) patients and was associated with distant metastasis ($p=0,029$), invasion ($p=0,035$) and poor survival ($p=0,022$). We present the report of IHC staining of MSI-2 in NSCLC and CRC in South Russia patients. The limitation of this study is that IHC could not be fully represent entire of the tumor and small patients sample. More studies with large samples are needed to confirmation of role RNA-binding protein Musashi-2 as prognostic biomarker in CRC and NSCLC.

Keywords: RNA binding proteins, musashi-2, MSI-2, colorectal cancer, nsclc, cancer stem cells, stem cells.

Актуальность. РНК-связывающие белки Musashi играют ключевую роль в развитии и обновлении стволовых и эмбриональных клеток. В то же время реактивация белков Musashi является критическим элементом в онкогенезе. В отличие от давно открытых сигнальных путей, таких как Wnt, Hedgehog и Notch, роль белков Musashi в процессе метастазирования и канцерогенеза в солидных опухолях остается до конца не изученной.

Цели и задачи. Изучение экспрессии РНК-связывающего белка Musashi-2 в здоровой, опухолевой ткани толстой кишки и лёгкого. Проведение анализа корреляции клинического и молекулярно биологического профиля опухоли с экспрессией Musashi-2. Изучение возможности применения Musashi-2 как прогностического биомаркера в онкологии.

Материал и методы. Экспрессия уровня Musashi-2 была определена у 23 пациентов с немелкоклеточным раком лёгкого (НМРЛ), перенесших резекцию легкого или пневмонэктомию, и 20 пациентов с колоректальным раком после хирургического лечения методом иммуногистохимии. Проводилось изучение уровня инвазии опухоли, лимфатического распространения и наличия отдаленных метастазов. В группе пациентов с НМРЛ проводилось исследование мутации в гене EGFR и ALK, у пациентов с метастатическим КРР – KRAS, NRAS и BRAF. Никто из пациентов не получал предоперационную лекарственную или лучевую терапию по поводу основного заболевания.

Результаты и обсуждение. Гиперэкспрессия Musashi-2 в опухоли была выявлена у 18 (78,2%) пациентов с НМРЛ и была ассоциирована с распространенностью процесса ($p=0,046$), наличием лимфатических метастазов ($p=0,012$) и худшей выживаемостью ($p=0,036$). У пациентов с КРР гиперэкспрессия Musashi-2 в опухоли была выявлена у 16 (80%) пациентов и была связана с наличием отдаленных метастазов ($p=0,029$), инвазией ($p=0,035$) и выживаемостью ($p=0,022$).

У пациентов с мКРР не было выявлено значимой связи с наличием или отсутствием мутации в гене KRAS, NRAS и BRAF. Главный способ генной регуляции Musashi был первоначально обнаружен и широко изучен в стволовых клетках ЦНС. Это привело к идентификации NUMB как основной цели Msi1: было показано, что Msi1 непосредственно влияет на 3'UTR NUMB и уменьшает ее экспрессию, приводя к увеличению в сигнале Notch. Экспрессия Msi2 является самой высокой в стволовых клетках кроветворной системы и уменьшается пропорционально степени дифференциации. Первая генетическая модель с выключенной функцией Msi2 была разработана для определения роли Msi2 при злокачественных новообразованиях кроветворной системы отчасти потому, что Musashi может подавлять NUMB – важное условие в регуляции асимметричного деления и сохранения недифференцированного состояния в гемопоэтических стволовых клетках. Было показано, что нарушение экспрессии Msi2 через ген-ловушку приводит к заметному уменьшению частоты гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников.

В человеческой пуповинной крови CLIP анализ и профилирование транскриптомов идентифицировали сигнальную Арильную углеводородную сигнализацию (AHR) в качестве целевого пути Msi2. Подобно эффектам, наблюдаемым с NUMB, Msi2 связывается с транскриптами CYP1B1 и HSP90 и ингибирует их трансляцию. В 2003 году Msi2 был идентифицирован как часть транслокации с HOXA9 при хронических миелоидных лейкозах, что также подразумевает участие Musashi в онкогенезе. В исследовании была продемонстрирована экспрессия сплавленного белка NUP98-HOXA9, онкогена, типично выраженного при бластном кризе, индуцирует экспрессию Msi2, а также что экспрессия Msi2 необходима для подавления NUMB и клеточной дедифференцировки, которая характеризует бластный криз. Также было обнаружено, что Msi2-индукция Тетраспанина-3 (Tspan3), координирующего множественные сигнальные каскады, является неотъемлемой частью патогенеза острого миелоидного лейкоза с делецией Tspan3, исключающего ответ клеток на хемокины CXCL12 / SDF1.

В исследовании на клеточных линиях солидных опухолей повышенная экспрессия Msi2 (но не Msi1) способствовала метастазированию немелкоклеточного рака легких, поддерживая экспрессию TGFb-рецептора TGFBR1 и TGFb эффектора SMAD3. Также подавлялся синтез белков межклеточных контактов, что, соответственно, способствовало процессам метастазирования опухолевых клеток. Было обнаружено, что Msi2 способствует агрессивному раку молочной железы, частично поддерживая экспрессию белка эстрогенного рецептора ESR1 путем косвенной регуляции WNT и NOTCH, частично путем подавления Jagged1, а также путем индукции пролиферина и тахикинина (TAC1) и ингибирования DKK3. Частично Msi2 способствует миграции и инвазии рака мочевого пузыря путем стимуляции сигнализации через путь JAK2 / STAT3.

Наши текущие знания в отношении сигналов, регулирующих экспрессию белков Musashi, ограничены. В исследованиях экспрессия Msi1 и Msi2 коррелирует со снижением APC и стимуляцией связывания TCF/LEF при раке толстой кишки, а также с подавлением KLF4 при раке поджелудочной железы.

Выводы и заключение. Белки Musashi могут быть валидизированы как прогностические биомаркеры и предикторы ответа на противоопухолевую терапию, однако необходимо проведение дальнейших исследований с большими выборками пациентов. С другой стороны, ИГХ не отражает полностью клеточный состав опухоли, ввиду гетерогенности. Данный момент может быть исключен при оценке множественных срезов опухоли. В перспективе

белки Musashi могут быть определены как терапевтические мишени для таргетной терапии. Однако необходимы дальнейшие многоцентровые исследования с вовлечением большого количества пациентов.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА BRCA1 В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: СВЯЗЬ С ЭФФЕКТОМ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ И ПРОГНОЗОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ

М.М. Цыганов, Е.Е. Перминова, И.В. Дерюшева, М.К. Ибрагимова, П.В. Казанцева

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Введение. Учитывая данные о связи наследственной мутации 5382insC *BRCA1* с высокой эффективностью препаратов платины, можно предположить, что экспрессия гена *BRCA1* также будет ассоциирована с высокой чувствительностью новообразования к препаратам платины, а также с прогнозом заболевания. **Цель работы** – оценить связь экспрессии гена *BRCA1* в опухоли молочной железы с эффективностью неоадъювантной химиотерапии (НХТ) и безметастатической выживаемостью. **Материал и методы.** В исследование включены 105 больных раком молочной железы T₁₋₄N₀₋₃M₀ (IIA–IIIB стадии). Оценена начальная и послеоперационная экспрессия *BRCA1* в опухолевом материале. **Результаты.** Установлено, что объективный ответ на НХТ сопряжен с высоким уровнем *BRCA1* при применении таксотера в монорежиме (p=0,03) и при схеме CAX (p=0,05). Показано, что высокая экспрессия гена (более 1,5) в 70 % случаев обуславливает отсутствие ответа на лечение (p=0,03). Также было показано, что гиперэкспрессия *BRCA1* в опухоли после операции сопряжена с более низкими показателями безметастатической выживаемости больных РМЖ. **Выводы.** Полученные данные о связи экспрессии гена *BRCA1* с эффективностью НХТ и прогнозом заболевания могут являться маркером эффективности лечения у больных раком молочной железы (РМЖ).

Ключевые слова: рак молочной железы, экспрессия генов, *BRCA1*, неоадъювантная химиотерапия, эффективность химиотерапии, прогноз.

EXPRESSION OF BRCA1 GENE IN BREAST TUMOR: ASSOCIATION WITH NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY EFFECT AND DISEASE PROGNOSIS

М.М. Tsyganov, E.E. Perminova, I.V. Deryusheva, M.K. Ibragimova, P.V. Kazantseva

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Background. Given the data on the relationship of the hereditary 5382insC *BRCA1* mutation with the high efficacy of platinum preparations, it can be assumed that the expression of the *BRCA1* gene will also be associated with a high sensitivity of the neoplasm to platinum drugs, as well as a disease prognosis. The purpose of work to evaluate the relationship between the expression of the *BRCA1* gene in a breast tumor with the efficacy of neoadjuvant chemotherapy and non-metastatic survival. Materials and methods. The study included 105 patients with breast cancer T₁₋₄N₀₋₃M₀ (IIA-IIIB stage). The initial and postoperative expression of *BRCA1* in the tumor material was evaluated. The results show that the objective response to NAC is associated with a high level of *BRCA1* when using taxotere in mono mode (p=0.03) and CAX scheme (p=0.05). It was shown that high gene expression (more than 1.5) in 70 % of cases causes absence of response to treatment (p=0.03) that the overexpression of *BRCA1* in the tumor after surgery is associated with lower rates of nonmetastatic burnout vaemosti breast cancer patients. Conclusion. The resulting expression of the

BRCA1 gene communication data with efficiency NAC and prognosis may be a marker of treatment efficacy in patients with breast cancer.

Keywords: breast cancer, genes expression, *BRCA1*, neoadjuvant chemotherapy, chemotherapy efficacy, prognosis.

Введение. Ген *BRCA1* расположен на длинном плече 17 хромосомы (17q21.31) и кодирует ядерный фосфобелок, который участвует в репарации ДНК в клетке и в регуляции клеточного цикла (PubMed; OMIM 113705). Современные исследования данного гена ограничены изучением лишь герминальных мутаций, и мало работ, которые характеризуют различные соматические изменения гена *BRCA1* в опухоли молочной железы и, в частности, экспрессию данного гена. Низкий уровень экспрессии гена (вследствие эпигенетической модификации, down-регуляции, действия микроРНК или других причин), так же как и мутация, может приводить к недостаточности системы репарации, что может играть немаловажную роль в чувствительности опухоли к лечению. Таким образом, **целью работы** явилось изучение связи экспрессии гена *BRCA1* в опухоли молочной железы с эффектом неoadъювантной химиотерапии при разных схемах лечения и прогнозом. **Материал и методы.** В исследование включены 105 больных РМЖ T₁₋₄N₀₋₃M₀ (IIA–IIIB стадии), с морфологически верифицированным диагнозом, в возрасте 26–68 лет (средний возраст 47,7±0,9 года (Mean±SE)). Все больные получали 2–6 курсов неoadъювантной химиотерапии по схемам FAC, CAH, CP и монотерапию таксотером. Далее проводилась операция, затем больным проводили 2 курса адъювантной химиотерапии по схеме FAC. В качестве исследуемого материала были использованы биопсийные опухолевые образцы до лечения и операционные после НХТ. Тотальную РНК выделяли из 105 парных образцов до лечения и операционных образцов после НХТ. Уровень экспрессии гена *BRCA1* оценивали при помощи RT-qPCR.

Результаты. Оценка связи экспрессии исследуемого гена с эффектом НХТ показала, что статистически достоверные различия установлены для группы больных со схемой CAH ($p=0,05$) и для пациентов, пролеченных таксотером в монорежиме ($p=0,03$). В обоих случаях уровень экспрессии исследуемого гена выше в группе пациентов с наличием объективного ответа на химиотерапию. При этом важно отметить, что экспрессия мРНК является вариативной величиной. Таким образом, для более точного определения связи экспрессии исследуемого гена с эффектом НХТ при помощи статистического анализа уровень экспрессии *BRCA1* был разделен на тертили. Высокая экспрессия исследуемого гена (более 1,5) в опухоли молочной железы в 70 % случаев (19/27) обуславливает отсутствие объективного ответа на лечение, по сравнению с низким уровнем экспрессии (группа экспрессии менее 0,3, Fisher test, $p=0,03$). Связь послеоперационного уровня экспрессии *BRCA1* с безметастатической выживаемостью (БВ) удалось выявить при выделении группы гиперэкспрессии (более 1) исследуемого гена (рис. 1).

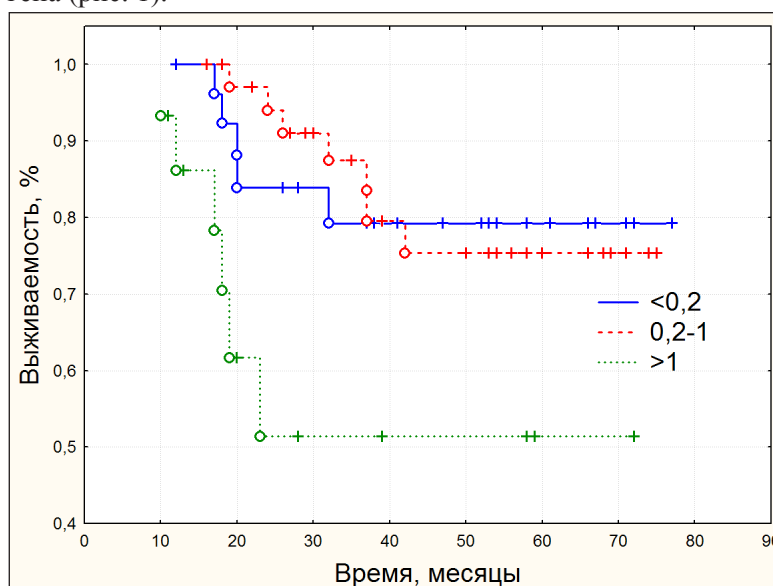


Рис. 1. Показатели безметастатической выживаемости больных РМЖ в зависимости от уровня экспрессии *BRCA1* (log-rank test $p<0,05$)

Наблюдается статистически значимое увеличение показателей БМ при уровне экспрессии *BRCA1* менее 0,2 ($p=0,05$) и при уровне 0,2–1 ($p=0,01$) по сравнению со значением *BRCA1* более 1.

Заключение. Таким образом, в результате проведенного исследования была показана связь экспрессии гена *BRCA1* в опухоли молочной железы с эффективностью неoadъювантной химиотерапии и прогнозом заболевания. На основании полученных данных можно полагать, что экспрессия *BRCA1* также может являться маркером эффективности лечения больных РМЖ, но это требует дальнейшего изучения.

ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОГО И ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ НИЖНЕАМПУЛЯРНОГО ОТДЕЛА ПРЯМОЙ КИШКИ

М.А. Черниченко, Д.В. Сидоров

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Частота и тяжесть послеоперационных осложнений являются основной характеристикой хирургического лечения. Поэтому изучение послеоперационных осложнений после комбинированного и хирургического лечения по-прежнему не теряет своей актуальности. 180 больным раком нижнеампулярного отдела прямой кишки проведено комбинированное (предоперационная химиолучевая терапия) или хирургическое лечение. Группа I – комбинированное лечение – 86 пациентов, группа II – хирургическое лечение – 94 больных. Послеоперационные осложнения разделили на 3 группы: гнойно-воспалительные, урологические и другие. Послеоперационные осложнения в группе комбинированного и хирургического лечения отмечены у 61 (33,9 %) из 180 больных.

Ключевые слова: послеоперационные осложнения, рак прямой кишки, хирургическое, комбинированное лечение.

POSTOPERATIVE COMPLICATIONS AFTER SURGERY WITH NEOADJUVANT CHEMORADIATION VS SURGERY ALONE IN LOW RECTAL CANCER

M.A. Chernichenko, D.V. Sidorov

P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian, Moscow, Russia

Abstract

The frequency and severity of postoperative complications is the main characteristic of surgical treatment. Therefore, evaluation of postoperative complications after surgery with neoadjuvant chemoradiation or surgery alone still does not lose its relevance. Study includes 180 patients with low rectal cancer treated by preoperative chemoradiotherapy or surgery alone. Group I contains patients treatment with preoperative chemoradiotherapy ($n=86$), group II includes surgery alone patients ($n=94$). Postoperative complications were divided into 3 groups: inflammatory, urological and others. Postoperative complications occurred in patients in both groups in 33.9 % (61 of 180 patients).

Keywords: postoperative complications, surgery, neoadjuvant chemoradiation, low rectal cancer.

Актуальность. В структуре онкологической заболеваемости колоректальный рак продолжает прочно удерживать одну из лидирующих позиций в мире, а также в Российской

Федерации [1, 2]. Несмотря на совершенствование хирургической техники и определенный прогресс в проведении неoadъювантной или адъювантной химиолучевой и/или лучевой терапии, при лечении пациентов остается много нерешенных вопросов, связанных, прежде всего, с соблюдением онкологических принципов хирургического вмешательства без ухудшения качества жизни [3–5]. Частота и тяжесть послеоперационных осложнений являются основной характеристикой хирургического лечения. Поэтому изучение послеоперационных осложнений после комбинированного и хирургического лечения по-прежнему не теряет своей актуальности.

Материал и методы. 180 больным раком нижеампулярного отдела прямой кишки (расстояние от дистального края опухоли до анального канала от 0 до 5 см) проведено комбинированное (предоперационная химиолучевая терапия СОД-47Гр) или хирургическое лечение в МНИОИ им. П.А. Герцена с 2006 по 2015 г. Группа I – комбинированное лечение – 86 пациентов, группа II – хирургическое лечение – 94 больных. Послеоперационные осложнения разделили на 3 группы: гнойно-воспалительные (вялое заживление промежностной раны, несостоятельность промежностной раны, некроз низведенной кишки, коло-вагинальные свищи, несостоятельность колоректального анастомоза, абсцесс малого таза), урологические (атония мочевого пузыря, несостоятельность линии резекции мочевого пузыря) и другие (плеврит, пневмония, тромбозы глубоких и поверхностных вен нижних конечностей, инфаркт, инсульт).

Результаты. Послеоперационные осложнения отмечены у 61 (33,9 %) из 180 больных. Из них у 8 пациентов отмечено более одного послеоперационного осложнения. Следовательно, у 61 больного выявлено 69 осложнений. В обеих группах среди гнойно-воспалительных осложнений преобладало вялое заживление промежностной раны, которое отмечено у 12 (14,5 %) больных 1-й группы и у 6 (6,4 %) во 2-й. Коло-вагинальный свищ – у 1 (1,2 %) больной 1-й группы и у 2 (2,1 %) – 2-й группы; абсцесс малого таза – у 2 (1,2 %) и у 3 (3,2 %) соответственно. Кроме того, в группе хирургического лечения у одного больного (1,1 %) отмечен некроз низведенной кишки и у двоих (2,1 %) – несостоятельность колоректального анастомоза. Рефлекторная задержка мочи отмечена у 5 (6,0 %) больных 1-й группы и у 14 (14,9 %) – во 2-й. Кроме того, в обеих группах отмечено по одному пациенту с несостоятельностью стенки мочевого пузыря после ее резекции и пластики (1,2 % и 1,1 % соответственно). Тромбозы вен нижних конечностей у 2 (2,4 %) больных 1-й группы и у 3 (3,2 %) – 2-й. Послеоперационная пневмония у 1 (1,2 %) пациента 1-й группы и у 2 (2,2 %) во 2-й. Различия показателей по группам недостоверны.

Выводы. Таким образом, анализ непосредственных результатов лечения показал, что структура, частота и тяжесть послеоперационных осложнений не зависят от варианта лечения ($p > 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Torre L.A., Bray F., Siegel R.L., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A. Global cancer statistics, 2012. CA: Cancer J. Clin. 2015; 65(2): 87–108.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность). М.: РИИС ФИАН, 2018; 250.
3. Foster J.D., Pathak S., Smart N.J., Branagan G., Longman R.J., Thomas M.G., Francis N. Reconstruction of the perineum following extralevator abdominoperineal excision for carcinoma of the lower rectum: a systematic review. Colorectal Dis. 2012; 14(9): 1052–1059.
4. Yamada K., Ogata S., Saiki Y., Fukunaga M., Tsuji Y., Takano M. Long-term results of intersphincteric resection for low rectal cancer. Dis. Colon Rectum. 2009; 52(6): 1065–1071.
5. Han J.G., Wang Z.J., Wei G.H., Xu H.M., Yi B.Q., Ma H.C. Efficacy evaluation of anal intersphincteric resection with direct coloanal anastomosis for T1-2 ultra-low rectal cancer. Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi. 2010; 13(4): 256–259.

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ МОЛЕКУЛЯРНОГО ФЕНОТИПА КЛЕТОК ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ПРИ АДАПТАЦИИ К РОСТУ IN VITRO

М.Р. Четыркина, С.А. Калужный

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Общепризнанным фактором агрессивности опухолевого процесса является эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), в ходе которого в клетке утрачиваются белки клеточных контактов и выявляется экспрессия мезенхимального белка виментина, что приводит к потере межклеточной адгезии и приобретению взамен подвижности, способствующей метастазированию [1, 2]. Ранее мы показали, что клетки асцитического происхождения больных раком яичников, в отличие от клеток солидного новообразования, экспрессируют маркер ЭМП – мезенхимальный белок виментин [3]. В настоящем исследовании проведена количественная оценка уровня, интенсивности и интегрального индекса экспрессии мезенхимального белка виментина в клетках культур, отличающихся по форме существования в организме, с применением метода иммунофлуоресцентного анализа, ассоциированного с проточной цитофлуориметрией [4]. **Результаты исследования** демонстрируют, что молекулярный фенотип эпителиальной опухоли в организме не всегда предопределяет фенотип опухолевых клеток, адаптированных к росту *in vitro*.

Ключевые слова: эпителиально-мезенхимальный переход, клеточные культуры, виментин, рак яичников, рак молочной железы.

PHENOTYPE MOLECULAR STABILITY EVALUATION OF EPITHELIAL TUMOR CELLS WITH REGARD TO THEIR ADAPTATION TO DEVELOPMENT IN VITRO

M.R. Chetyrkina, S.A. Kaliuzhny

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

The epithelial-mesenchymal transition (EMT) is an acknowledged factor of tumor process aggressiveness, during which the cells lose proteins of cell's junctions and acquire the increased expression of the mesenchymal protein vimentin, which leads to loss of intercellular adhesion and the acquisition of mobility, which promotes metastasis [1,2]. Previously we have shown that the cells from extracellular fluids express the EMT marker – the mesenchymal protein vimentin, in contrast to the cells obtained from solid cancer [3]. At the present study we quantified the level, intensity, and integral index of the protein vimentin *de novo* expression in culture cells using the immunofluorescence assay method associated with flow cytometry [4]. The results of the study demonstrate the molecular phenotype of an epithelial tumor within the organism does not always predetermine the phenotype of cells adapted to growth *in vitro*.

Keywords: epithelial-mesenchymal transition, cell cultures, vimentin, ovarian cancer, breast cancer.

Актуальность. Во многих фундаментальных исследованиях в качестве модельного объекта используются эпителиальные клеточные культуры, источником которых являются не только солидные новообразования, но и экстрацеллюлярные жидкости. Молекулярный фенотип клеток асцитического происхождения отличается высоким уровнем экспрессии мезенхимального маркера виментина от клеток солидного узла, что было показано нами ранее [3]. Поэтому представляется важной оценка «сохранности» эпителиального фенотипа при адаптации клеток к росту *in vitro*, поскольку особенности молекулярного фенотипа клеточных линий, различающихся по форме роста в организме необходимо учитывать при молекулярных исследованиях.

Материал и методы. В настоящем исследовании использованы клеточные линии, полученные из плевральной жидкости (MCF-7, T-47D), молозива (HBL-100), солидного узла (BT-474, HCC1937) больных раком молочной железы (РМЖ) и асцитической жидкости (SCOV-3) пациентки с раком яичников (РЯ). В экспериментах использовали культуры в логарифмической фазе роста.

Проводили иммунофлуоресцентный анализ с использованием первичных антител к виментину (клон SP20, «BIOCARE», США) и вторичных антител, конъюгированных с флуоресцентным красителем DyLight650 («Abcam», Великобритания). Флуоресценцию клеток измеряли на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США). С помощью

критерия Колмогорова – Смирнова, включенного в программу FlowJo 10.0.8, определены следующие параметры экспрессии виментина: уровень – количество специфически флуоресцирующих клеток в % по отношению к контролю (инкубация с вторичными антителами); интенсивность (усл.ед.) – отношение средней специфической интенсивности флуоресценции к аналогичному показателю в контроле; интегральный индекс – произведение доли клеток, экспрессирующих виментин, и интенсивности экспрессии маркера.

Результаты и обсуждение. Несмотря на общность по форме роста в организме, между клетками линий BT-474 и HCC1937, полученных из солидного узла РМЖ, обнаружены существенные различия. Конкретно, в клетках BT-474 уровень экспрессии виментина был ниже более чем в 2 раза (29 % vs 71 %), интенсивность – в 3 раза (2,1 vs 6,4), а интегральный индекс – в 6 раз (0,7 vs 4,8) по сравнению с клетками HCC1937.

При исследовании культур клеток линий MCF-7 и T-47D, несмотря на то, что они были получены из плевральной жидкости больных раком молочной железы, показатели экспрессии маркера оказались низкими, а именно: уровень составил 8 % и 20 %, интенсивность – 1,1 и 1,3, а интегральный индекс экспрессии – 0,2 и 0,4.

В то же время в клетках SCOV-3 и HBL-100, также полученных из экстрацеллюлярных жидкостей (из асцитической жидкости больной раком яичников и из молозива больной раком молочной железы), показатели экспрессии виментина оказались высокими: уровень – 51 % и 75 %, интенсивность – 3,6 и 6,8, интегральный индекс – 1,9 и 5,1 соответственно.

Выводы. При использовании в качестве маркера уровня эпителиально-мезенхимального перехода белка виментина показано, что фенотип опухоли в организме не всегда предопределяет фенотип опухолевых клеток, адаптированных к росту в культуре. При этом выявленные изменения предсказать не представляется возможным.

Так, ожидаемо высокий уровень виментина в клетках, полученных из экстрацеллюлярных жидкостей, может сохраняться (линия HBL-100), умеренно снижаться (клетки SCOV-3) и даже утрачиваться (клетки MCF-7 и T-47D). Последние два примера указывают на возможность мезотелиально-эпителиального перехода, ассоциированного с адаптацией клеток к росту в культуре.

В то же время клетки линии HCC1937, полученные из солидного узла с ожидаемо низкой экспрессией виментина, при росте в культуре приобрели молекулярный фенотип с высоким уровнем экспрессии этого мезенхимальных маркера, т.е. подверглись эпителиально-мезенхимальному переходу.

И только в одном случае – в культуре клеток BT-474, полученных из солидного новообразования, – по показателю экспрессии виментина отмечено сохранение эпителиального фенотипа при росте клеток в культуре.

Полученные результаты согласуются с данными литературы о пластичности молекулярного фенотипа опухолевых клеток и с очевидностью демонстрируют необходимость контроля «сохранности» эпителиального фенотипа клеточных культур рака человека при разного рода молекулярных исследованиях сигналинга эпителиальных клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Davidson B., Holth A., Hellesylt E., Tan T.Z., Huang R.Y., Tropé C., Nesland J.M., Thiery J.P. The clinical role of epithelial-mesenchymal transition and stem cell markers in advanced-stage ovarian serous carcinoma effusions. *Hum Pathol.* 2015 Jan; 46(1): 1–8. doi: 10.1016/j.humphath.2014.10.004.
2. Savagner P., Kusewitt D.F., Carver E.A., Magnino F., Choi C., Gridley T., Hudson L.G. Developmental transcription factor slug is required for effective re-epithelialization by adult keratinocytes. *J Cell Physiol.* 2005 Mar; 202(3): 858–66. doi: 10.1002/jcp.20188.
3. Бозуш Т.А., Калюжный С.А., Дудко Е.А., Кирсанов В.Ю., Тюляндина А.С., Бозуш Е.А., Тюляндин С.А., Давыдов М.М. Молекулярные особенности асцитных клеток рака яичников, выявляемые при иммунофлуоресцентном анализе с привлечением проточной цитофлуориметрии. *Вест. Моск. ун-та.* 2016; 57(5): 330–335.
4. Бозуш Т.А., Шатунова А.С., Дудко Е.А., Жураев Э.Э., Полоцкий Б.Е., Давыдов М.И. Количественная иммунофлуоресцентная оценка с использованием проточной цитофлуориметрии экспрессии эстрогеновых рецепторов β в солидных опухолях человека. *Вест. Моск. ун-та.* 2011; 52(4): 305–312.

ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ОРГАНА ЗРЕНИЯ

А.И. Чумаченко, Ю.Н. Виноградова

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Представлены данные о результатах лучевого или химиолучевого лечения больных лимфомами и солидными злокачественными опухолями с поражением различных структур органа зрения (орбиты, век, конъюнктивы, сосудистой оболочки глаза). Показано, что лучевая терапия (ЛТ) может самостоятельно применяться при локальных поражениях органа зрения и в составе химиолучевого лечения, при этом способствуя переводу частичной ремиссии в полную.

Ключевые слова: лимфомы, солидные образования, орган зрения, лучевая терапия.

RADIOTHERAPY OF MALIGNANT TUMORS OF THE ORGAN OF VISION

A.I. Chumachenko, Y.N. Vinogradova

Federal State Budgetary Institution «Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies of Academician A. M. Granov» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

Abstract

Data on the results of radiotherapy or chemoradiotherapy of patients with lymphomas and solid malignant tumors with damage to various structures of the organ of vision (orbits, eyelids, conjunctiva, and the choroid of the eye) are presented. It is shown that radiotherapy (RT) can be used independently for local lesions of the organ of vision and as part of chemoradiotherapy, while facilitating the transfer of partial remission into complete remission.

Keywords: lymphoma, solid malignant tumors, organ of vision, radiotherapy.

Актуальность. В структуре общей онкологической заболеваемости больные с офтальмо-онкологической патологией составляют небольшую группу, однако заболеваемость опухолями органа зрения растёт с каждым годом [1, 2]. Существует мало сведений о роли дистанционной лучевой терапии (ЛТ) в лечении больных неходжкинскими лимфомами (НХЛ) и солидными опухолями с поражением органа зрения [3]. Имеются разные точки зрения относительно лечения, но до сих пор не выработан алгоритм лечения и ведения больных с данной патологией. Лечение НХЛ и солидных опухолей органа зрения требует комплексного подхода, однако роль ЛТ, в самостоятельном варианте или в комбинации с полихимиотерапией (ПХТ), при данных заболеваниях недостаточно изучена. В связи с этим исследования, направленные на изучение роли дистанционной ЛТ в лечении больных солидными злокачественными опухолями и НХЛ с поражением различных структур органа зрения, являются актуальными.

Материал и методы. В исследование включены 159 пациентов: 101 больной НХЛ и 58 пациентов солидными злокачественными опухолями с поражением различных структур органа зрения (орбиты, век, конъюнктивы, сосудистой оболочки глаза), получавших лечение в ЦНИРРИ (РНЦРХТ) в 1994–2017 гг. Все диагнозы гистологически верифицированы.

Из 101 больного лимфомами 80 первичных больных (из них 49 получали только дистанционную ЛТ на очаги поражения, которые в этой группе локализовались в органе зрения, у 31 лучевому лечению предшествовала иммуноПХТ в виде 26 циклов СНОР или R-СНОР) и 21 – с рецидивами в орган зрения. MALT-лимфома выявлена у 61 пациента, диффузная В-клеточная крупноклеточная – у 16, фолликулярная – у 13, лимфоплазмочитарная – у 6, лимфома мантийной зоны – у 4, гистиоцитоз из клеток Лангерганса – у 1.

Из 58 больных солидными злокачественными опухолями 53 больных местнораспространёнными новообразованиями и 5 больных – с метастазами опухолей в орбиту из других органов (аденокарцинома бронха (2 больных), меланома кожи, семинома и инвазивно-протоковый рак молочной железы (по 1 больному)). ЛТ проводили в качестве первичного лечения после хирургического вмешательства (19 из 58, 32,8 %) или по поводу рецидива или прогрессирования с поражением различных структур органа зрения после первичного нерадикального лечения (39 из 58, 67,2 %), проведённого в других клиниках. В основном новообразования были представлены умеренно- и низкорadioчувствительными опухолями (базальноклеточный рак, плоскоклеточный рак, аденокистозный рак и другие).

Результаты и обсуждение. В группе лимфом у 49 первичных больных, которым проводили только ЛТ, непосредственно через один месяц после лечения у 13 (26,5 %) получен полный ответ, у 34 (69,4 %) – частичный, стабилизацию наблюдали у 2 больных (4,1 %). В группе 31 больного, у которых лучевому лечению предшествовала химиотерапия, после окончания химиолучевого лечения полный ответ был у 10 больных (32,3 %), частичный – у 21. (67,7 %). После ПХТ, т.е. первого этапа лечения, полный ответ был только у 3 из 31 пациента (9,7 %). У 7 из 21 (28 поражённых глаз) пациентов с рецидивами лимфомы, которые получали только облучение, у всех достигнута ремиссия через месяц после него: полная – у 3 больных, частичная – у 4 пациентов. У всех 14 больных, которые получали химиолучевое лечение по поводу рецидива, после этапа лекарственного лечения получен только частичный ответ. Последующая ЛТ приводила к полной или неопределенной полной ремиссии у всех 14 пациентов с комбинированным лечением.

В группе солидных образований после ЛТ объективный ответ был зафиксирован у 47 из 58 (81 %) пациентов; из них у 16 (34 %) – полный местный ответ, 31 (66 %) – частичный местный ответ. Стабилизация была отмечена в 11 наблюдениях (19 %).

Ранние лучевые реакции были у 149 из 159 больных всей группы (93,7 %) в виде конъюнктивита I степени, эпидермита кожи век I степени, которые были купированы и не препятствовали продолжению ЛТ.

Выводы. ЛТ может быть эффективно использована в самостоятельном варианте при локальных поражениях структур органа зрения у больных лимфомами и солидными новообразованиями и является важным, необходимым и иногда единственно возможным методом лечения этой категории больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бровкина А.Ф., Панова И.Е., Саакян С.В. Офтальмоонкология: новое за последние два десятилетия. Вестник офтальмологии. 2014; 130 (6): 1319.
2. Гришина Е.Е., Гузенко Е.С. Лимфомы органа зрения: особенности течения и прогноз. Клиническая офтальмология. 2013; (1): 47.
3. Саакян С.В., Вальский В.В., Мякошина Е.Б. Неходжкинские лимфомы орбиты. Опухоли головы и шеи. 2012; (2): 4547.

СИСТЕМА ТИОРЕДОКСИНА В РОСКОВИТИНОПОСРЕДОВАННОМ СНИЖЕНИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ MCF-7

Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия

Аннотация

Проведена оценка роли системы тиоредоксина в молекулярных механизмах регуляции пролиферации клеток линии MCF-7 при действии ингибитора циклин-зависимых протеинкиназ – росковитина. Культивирование клеток в присутствии росковитина приводило к снижению редокс-потенциала системы глутатиона, активности тиоредоксинредуктазы, увеличению концентрации тиоредоксина и остановке клеточного цикла в G₂/M фазах. Полученные результаты могут использоваться в дальнейшем для разработки персонализированных подходов диагностики и терапии злокачественных новообразований молочной железы.

Ключевые слова: пролиферация, редокс-статус клеток, тиоредоксин, клетки аденокарциномы молочной железы

THIOREDOXIN SYSTEM IN ROSCOVITINE-MEDIATED INHIBITION OF BREAST CANCER CELL PROLIFERATION

E.V. Shakhristova, E.A. Stepovaya

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract

The role of the thioredoxin system in molecular mechanisms of regulating MCF-7 breast cancer cell proliferation under the effect roscovitine – an cyclin-dependent protein kinase inhibitor – was evaluated. Cell culture in the presence of roscovitine resulted in a decrease in the redox potential of the glutathione system, thioredoxin reductase activity, a rise in the thioredoxin level and G₂/M-phases arrest. The obtained results may be further used for developing personalized approaches to diagnostics and treatment of breast tumors.

Keywords: proliferation, cell redox status, thioredoxin, breast adenocarcinoma cells.

Опухолевая прогрессия сопровождается дизрегуляцией пролиферации и апоптоза, что играет важную роль в патогенезе злокачественных новообразований молочной железы и их устойчивости к химиотерапии.

Цель исследования – оценить роль системы тиоредоксина в пролиферации клеток аденокарциномы молочной железы линии MCF-7 при действии росковитина.

Материал и методы. Исследования были выполнены с использованием опухолевой клеточной линии MCF-7. Снижение пролиферации клеток индуцировали добавлением в культуральную среду 20 мкМ росковитина («Sigma Aldrich», США) – ингибитора циклин-зависимых протеинкиназ. В клетках линии MCF-7 определяли содержание тиоредоксина методом вестерн-блоттинга с использованием моноклональных антител («Thermo Scientific», США), экспрессию мРНК гена тиоредоксина 1 (TXN1) и активность тиоредоксинредуктазы – спектрофотометрическим методом. Для функционирования системы тиоредоксина необходим глутатион, поэтому была определена концентрация восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона спектрофотометрическим методом. В результатах исследования приводили только величину отношения GSH/GSSG, поскольку она отражает редокс-статус клетки. Распределение клеток по фазам клеточного цикла по набору «CycleTest PLUS DNA Reagent Kit» («Becton Dickinson», США).

Результаты. Инкубация клеток линии MCF-7 с росковитином приводила к остановке клеточного цикла в G₂/M фазах, поскольку ингибитор способен по конкурентному механизму взаимодействовать с АТФ-связывающими доменами циклин-зависимых протеинкиназ (cdc2/циклин В, cdk2/ циклин А, cdk2/ циклин Е, cdk5/p35). Росковитин способствовал снижению величины отношения восстановленного глутатиона к окисленному в 2,1 раза ($p < 0,05$) по сравнению с интактной культурой (0,81 (0,80–0,83) у.е.). В клетках линии MCF-7, культивируемых в присутствии росковитина, нами было выявлено увеличение содержания тиоредоксина в 1,1 раза ($p < 0,05$) и снижение активности тиоредоксинредуктазы в 1,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с интактной культурой (1,86 (1,83–1,87) у.е. и (3,23 (3,17–3,26) нмоль НАДФН/мин×мг белка соответственно). Экспрессия мРНК гена тиоредоксина 1 достоверно не отличалась от значений показателя в интактной культуре.

Вывод. Тиоредоксин и тиоредоксинредуктаза представляют собой систему, которая, наряду с системой глутатиона, способствует поддержанию редокс-статуса опухолевых клеток. Снижение величины отношения GSH/GSSG и увеличение концентрации тиоредоксина в клетках аденокарциномы молочной железы, культивируемых в присутствии росковитина, отражало высокую потребность опухолевых клеток в антиоксидантах, необходимых для защиты макромолекул от АФК, и, возможно, является одним из механизмов выживания и развития их устойчивости к химиотерапии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (отделение гуманитарных и общественных наук) в рамках научного проекта № 17-36-01029

МЕТФОРМИН: НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ В ХИМИОПРОФИЛАКТИКЕ И ТЕРАПИИ РАКА

А.В. Шестаков

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Аннотация

Современные данные показывают, что бигуанид метформин является лекарственным средством, проявляющим не только сахароснижающий, но и антипролиферативный эффекты. За последние несколько десятилетий было проведено множество исследований, изучающих механизмы действия и эффективность данного препарата у онкологических больных. Неоднократно высказывалась идея о потенциальном использовании метформина в качестве препарата химиопрофилактики и адъювантной терапии разных форм новообразований. В данной работе рассмотрены актуальные исследования метформина в контексте его возможных антинеопластических эффектов.

Ключевые слова: метформин, метилирование, AMPK, сахарный диабет.

METFORMIN: NEW PERSPECTIVES IN CHEMOPREVENTION AND THERAPY OF CANCER

A.V. Shestakov

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract

Modern data shows us that biguanid metformin is a medicine, which combine not only sugar reducing but also an antiproliferative effects. A lot of new studies about this drug were provided during last decades. Many researchers support the idea of metformin as a new medicine for chemopreventive and neoadjuvant cancer therapy. This work conduct analysis of current researches of metformin in context of it's possible antiproliferative effects.

Keywords: metformin, methylation, AMPK, diabetes mellitus.

Актуальность. Метформин (МФ) является самым часто назначаемым препаратом в диабетологии у пациентов, страдающих сахарным диабетом 2 типа (СД2). Современные исследования демонстрируют наличие дополнительных эффектов МФ, а именно: влияние на эпигенетический контроль экспрессии ДНК, снижение риска канцерогенеза, улучшение пятилетней выживаемости пациентов с разными формами рака [1]. На данный момент механизмы антипролиферативного действия МФ до конца не изучены. Однако обнаружены многообещающие механизмы, такие как влияние на активность аденозинмонофосфаткиназы (AMPK) с последующим снижением действия каскада реакций мишени рапамицина млекопитающих (mTOR). Важным является анализ современных исследований по данной теме и поиск наиболее перспективных направлений изучения МФ для нахождения как его механизмов антипролиферативного действия, так и способов интеграции препарата в практическую деятельность врача-онколога.

Целью работы является проведение комплексного обзора современных данных на тему антипролиферативных эффектов МФ для анализа проблемы и поиска перспективных направлений исследования данного препарата.

Материал и методы. Систематический обзор был подготовлен с использованием современных данных, найденных с помощью сервисов «Medical Literature Analysis and Retrieval System» (MEDLINE/PUBMED), «Google Scholar», а также с отсылками на актуальные руководства, отчёты и рекомендации ВОЗ.

Результаты. Молекулярные механизмы МФ на раковую клетку могут быть разделены на опосредованный и прямой пути. Первый, опосредованный, ассоциирован со снижением риска возникновения СД2 и ожирения, коррекцией гипергликемии, контролем уровня инсулина и инсулиноподобного фактора роста [2]. Прямой путь осуществляется главным образом за счёт влияния на работу аденозинмонофосфаткиназы (AMPK) с последующим вовлечением каскада мишени рапамицина млекопитающих (mTOR). Установлено, что в раковых клетках активность mTOR повышена. МФ активирует AMPK, тем самым включая интенсивную работу молекул TSC2 и Raptor, которые, в свою очередь, ингибируют работу C1-фрагмента молекулы mTOR раковых клеток [3]. Кроме того, в опухолевых клетках установлено наличие повышенной концентрации жирных кислот. МФ снижает количество последних за счёт ингибирования фермента синтетазы жирных кислот [3].

Важным антипролиферативным механизмом МФ является его влияние на эпигенетический контроль экспрессии ДНК и, в частности, на процессы метилирования. Установлено, что МФ препятствует возникновению локального гиперметилования, при этом способствует глобальному гиперметилованию ДНК, что взаимосвязано со снижением возникновения неопластических процессов [4]. Современные клинические исследования демонстрируют положительное влияние МФ на риск канцерогенеза, улучшение пятилетней выживаемости пациентов с разными формами рака, а также уменьшение риска метастазирования разных типов опухолей [1, 3, 5]. Помимо всего прочего, были проведены исследования на предмет вероятных гормонально-метаболических и генетических маркеров чувствительности к МФ и эффективности его антипролиферативного эффекта. Был найден генотип СС по гену транспортера органических катионов 1 (OCT1_R61C, rs12208357), носительницы которого в 87,5 % случаях отвечали на антипролиферативный эффект МФ [6]. Однако необходимо дальнейшее изучение данной области.

Заключение. За многие годы бигуанид МФ зарекомендовал себя как эффективный сахароснижающий препарат, обладающий, кроме того, низкой стоимостью на рынке и малым количеством нежелательных эффектов. Обнаружение антипролиферативного эффекта МФ открывает новые перспективы в химиопрофилактике и адъювантной терапии различных форм рака. Однако дополнительные исследования необходимы до полного понимания механизмов действия МФ и внедрения его в стандартные схемы лечения онкологических заболеваний. Во-первых, большинство клинических исследований носят ретроспективный анализ применения МФ; необходимы проспективные исследования для уточнения влияния и эффективных дозировок препарата, изучения лекарственных взаимодействий с другими препаратами химиотерапии. Во-вторых, многие исследования *in vitro* проводились в условиях супрафизиологических концентраций препарата и в высокоуглеводистых средах; важно более детально изучить эффективность МФ в условиях физиологических плазменных концентраций. В-третьих, необходимо установить более детально молекулярные механизмы антипролиферативного действия МФ. В-четвертых, важным направлением является поиск гормонально-метаболических и генных маркеров чувствительности к различным эффектам препарата, что, в свою очередь, станет основой создания критериев и методов отбора пациентов для адъювантной терапии МФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sui X., Xu Y., Wang X., Han W., Pan H., Xiao M. Metformin: A Novel but Controversial Drug in Cancer Prevention and Treatment. *Mol Pharm.* 2015; 12(11): 37833791. doi:10.1021/acs.molpharmaceut.5b00577.
2. Tsilidis K.K., Kasimis J.C., Lopez D.S., Ntzani E.E., Ioannidis J.P. Type 2 diabetes and cancer: umbrella review of meta-analyses of observational studies. *BMJ.* 2015; 350(January): g7607. doi:10.1136/bmj.g7607.
3. Morales D.R., Morris A.D. Metformin in Cancer Treatment and Prevention. *Annu Rev Med.* 2015; 66(1): 17–29. doi:10.1146/annurev-med-062613-093128.
4. Cuyàs E., Fernández-Arroyo S., Verdura S., García R.Á.F., Stursa J., Werner L., Neuzil J. Metformin regulates global DNA methylation via mitochondrial one-carbon metabolism. *Oncogene.* 2017;(November 2016): 1–8. doi:10.1038/onc.2017.367.
5. Guo J., Xu K., An M., Zhao Y. Metformin and endometrial cancer survival: a quantitative synthesis of observational studies. *Oncotarget.* 2017; 8(39): 66169–66177. doi:10.18632/oncotarget.19830.
6. Берштейн Л.М., Васильев Д.А., Иевлева А.Г., Порошина Т.Е., Имянитов Е.Н. Гормонально-метаболические и генетические маркеры чувствительности к метформину при диабете и раке: предсказание и реальность. *Сахарный диабет.* 2014; 1: 21–28

АНАЛИЗ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ РЕКОНСТРУКТИВНО-ПЛАСТИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЯХ У БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВЫ И ШЕИ

А.А. Шиянова, Д.Е. Кульбакин, Е.Л. Чойнзонов

Научно-исследовательский институт онкологии Томского национального исследовательского
медицинского центра Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Хирургическое лечение местнораспространенных стадий опухолей головы и шеи ставит перед хирургом трудную задачу, так как образующиеся после удаления опухоли обширные дефекты трудно закрыть местными тканями. В настоящее время для реконструкции дефекта используют синтетические материалы, перемещенные и свободные реvascularизированные лоскуты. Несомненно, все эти методики имеют как свои преимущества, так и ряд осложнений. В отделении опухолей головы и шеи НИИ онкологии Томского НИМЦ проанализированы результаты лечения 162 больных опухолями го-

ловы и шеи, которым выполнялись реконструктивно-пластические операции. У 60 (37 %) пациентов в послеоперационном периоде отмечались различные осложнения. Причинами подобных осложнений могут быть технические погрешности, патология гемостаза, сопутствующая патология, позиционные смещения, предшествующее лечение [1]. Анализ осложнений позволяет выявить причины и проводить профилактику их развития у данной категории больных.

Ключевые слова: осложнения при реконструктивно-пластических операциях, реконструктивная хирургия, опухоли головы и шеи, свободные и перемещенные лоскуты.

ANALYSIS OF COMPLICATIONS IN RECONSTRUCTIVE-PLASTIC OPERATIONS IN PATIENTS WITH HEAD AND NECK TUMORS

A.A. Shiyanova, D.E. Kulbakin, E.L. Choinzonov

Research Institute of Oncology, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Surgical treatment of locally advanced stages of head and neck tumors poses a difficult task for a surgeon, since extensive defects that are formed after removal of the tumor are difficult to close by local tissues. Currently, synthetic materials, pedicle flaps and free revascularized flaps are used to reconstruct the defect. Undoubtedly, all these techniques have their own advantages, as well as a number of complications. We analyzed the results of 162 reconstructive surgeries for patients with head and neck tumors why were treated in the department of head and neck tumors of Tomsk Scientific Research Institute of Oncology. Various complications were noted for 60 patients (37 %) in the postoperative period. The causes of these complications may be technical errors, pathology of hemostasis, concomitant pathology, positional displacement, previous treatment [1]. The analysis of complications allows to reveal the reasons and will allow to carry out preventive maintenance of their development in this category of patients.

Keywords: complications in reconstructive and plastic surgeries, reconstructive surgery, head and neck tumors, loose and moved flaps.

Актуальность. Злокачественные новообразования органов головы и шеи занимают особое место в структуре опухолей человека. Кроме довольно быстрого и агрессивного течения, малой чувствительности к лекарственным препаратам, плохого прогноза, их лечение сопряжено со значительными косметическими и функциональными дефектами, осложняющими жизнь больного [2]. Существуют различные варианты пластики данных дефектов, но зачастую выполнение реконструктивно-пластических операций сопряжено с развитием осложнений в послеоперационном периоде. Анализ осложнений позволит избежать повторных операций у пациентов, сократить сроки госпитализации, улучшить условия медицинской и социальной реабилитации.

Материал и методы. На базе отделения опухолей головы и шеи НИИ онкологии Томского НИМЦ в период 2008–2018 гг. 162 больным выполнены различные реконструктивно-пластические операции [3]. Мужчин – 107, женщин – 55. Возраст пациентов варьировал от 20 до 74 лет. Распределение больных по локализации опухолевого процесса: полость рта – 93, опухоли верхней и нижней челюсти – 24, рак кожи головы – 16, рак гортани и гортаноглотки – 15, рак верхней и нижней губы – 8, другие – 6. В качестве реконструктивного материала использовались следующие лоскуты: малоберцовый лоскут – 39 (24 %); ALT – 29 (17, 9 %); кожно-мышечный пекторальный лоскут – 27 (16,6 %); подбородочный – 22 (13,6 %); лучевой – 22 (13,6 %); TDF – 6 (3,7 %); медиальный суральный перфорантный лоскут – 5 (3 %); TRAM – 4 (2, 6 %); лопаточный – 4 (2, 6 %); кожно-фасциальный лоскут на височной артерии – 1 (0,6 %); парамедиальный лобный лоскут – 1(0,6 %); большой сальник – 1(0,6 %); подвздошный гребень – 1(0,6 %).

Развитие различного типа осложнений отмечалось у 60 пациентов (37 % от общего числа пролеченных больных). Количество осложнений при использовании малоберцового лоскута – 17 (10,5 %), ALT – 14 (8,6 %), лучевого лоскута – 7 (4,3 %), кожно-мышечного пекторального лоскута – 6 (3,7 %), подбородочного лоскута – 3 (1,9 %), TDF – 3 (1,9 %),

TRAM – 3 (1,9 %), медиального сурального перфорантного лоскута – 2 (1,2 %), большого сальника – 1 (0,6 %), подвздошного гребня – 1 (0,6 %). Отмечались следующие осложнения: полный некроз лоскута – 17 (10,5 %); частичный некроз лоскута – 9 (5,5 %); образование оросвищей – 6 (3,7 %); воспаление – 4 (2,4 %); кровотечение – 3 (1,8 %); диастаз – 2 (1,2 %); венозный тромбоз – 2 (1,2 %); другие – 2 (1,2 %).

Заключение. По данным нашего исследования, большинство пациентов с наличием осложнений (70 %) получали предоперационный курс химиолучевого лечения (из них 52,4 % по радикальной программе) или неоднократное хирургическое лечение (11,7 %), что могло неблагоприятно повлиять на жизнеспособность лоскута. Тогда как осложнения у пациентов с первичным процессом наблюдались в 18,3 % случаев. Основными осложнениями после реконструктивно-пластической операции у пациентов, получавших предоперационный курс ХЛТ, являлись частичный или полный некроз лоскута (12,3 %), образование оросвищей (6,2 %).

Анализ осложнений позволяет более точно оценить причины их возникновения, предотвращать их появление, более настороженно курировать пациентов, находящихся в группе риска по развитию осложнений. Также необходимо проводить отбор пациентов для первичных и отсроченных реконструкций в зависимости от предшествующего лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Романов К.Н., Вараксин В.В., Напольских В.М., Россомахин С.В., Князев А.В., Фадеева Н.Л. Реконструктивная хирургия в лечении опухолей головы и шеи. 2015.
2. Чойнзонов Е.Л., Новиков В.А., Мухамедов М.Р., Шишкин Д.А., Чижевская С.Ю., Сыркашев В.А., Штин В.И., Кульбакин Д.Е. Комбинированное лечение злокачественных новообразований головы и шеи с реконструктивно-пластическими оперативными вмешательствами. Вопросы онкологии. 2015; 61(4): 602–606.
3. Кульбакин Д.Е., Чойнзонов Е.Л., Мухамедов М.Р., Гарбуков Е.Ю., Штин В.И., Хавкин Н.М., Васильев Р.В. Реконструктивно-пластические операции в комбинированном лечении больных местно-распространенными опухолями головы и шеи. Вопросы онкологии. 2017; 6(63): 862–866

КАЛИБРОВКА ДОЗИМЕТРИЧЕСКОЙ ПЛЕНКИ GAFCHROMIC EBT3 НА КЛИНИЧЕСКИХ УСКОРИТЕЛЯХ ЭЛЕКТРОНОВ

**М.С. Шкурупий¹, Б.М. Гавриков³, А.А. Исмаилова¹, А.А. Красных¹,
И.А. Милойчикова^{1,2}, Ю.М. Черепенников¹, С.Г. Стучебров¹**

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»,
г. Томск, Россия¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Московская городская онкологическая больница № 62, г. Москва, Россия³

Аннотация

В докладе представлены результаты калибровки пленочного дозиметра GafChromic EBT3 на различных клинических ускорителях электронов. Экспериментальные исследования проводились на медицинских установках разных типов: линейном ускорителе для дистанционной лучевой терапии и интраоперационном бетатроне. Энергия электронов была 12 и 6 МэВ соответственно. Полученные на разных установках калибровочные кривые находятся в хорошем согласии.

Ключевые слова: медицинские ускорители электронов, лучевая терапия, пучки электронов, пленочные дозиметры.

GAFCHROMIC EBT3 DOSIMETRIC FILM CALIBRATION USING CLINICAL ELECTRON ACCELERATORS

**M.S. Shkurupiy¹, B.M. Gavrikov³, A.A. Ismailova¹, A.A. Krasnykh¹,
I.A. Miloichikova^{1,2}, Yu.M. Cherepennikov¹, S.G. Stuchebrov¹**

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia²

Moscow municipal oncological hospital №62, Moscow, Russia³

Abstract

The report presents the results of calibration of the GafChromic EBT3 film dosimeter using various clinical electron accelerators. Experimental studies were carried out with two different medical installations: a linear accelerator for remote radiation therapy and an intraoperative betatron. The electron beam energies were 12 and 6 MeV, respectively. The obtained calibration shows good agreement of the results for two considered cases.

Keywords: clinical electron accelerators, radiation therapy, electron beams, dosimetric film.

Введение. Количество диагностируемых онкологических заболеваний увеличивается с каждым годом. Одним из наиболее распространенных методов лечения злокачественных образований является лучевая терапия, которая представляет собой воздействие на раковые клетки ионизирующим излучением. Такой подход имеет ряд преимуществ как альтернатива или дополнение к хирургическим методам и химиотерапии, однако существуют риски, связанные с воздействием ионизирующего излучения на здоровые органы и ткани пациента. Для уменьшения негативных последствий лечения необходимо проводить дозиметрическое планирование каждой процедуры.

В работе [1] был предложен метод создания индивидуальных дозиметрических фантомов, изготовленных при помощи аддитивных технологий. Конструкция фантомов предполагает возможность размещения в них пленок для оценки дозовых нагрузок на ткани и органы.

Под воздействием ионизирующего излучения в пленочных дозиметрах GafChromic EBT3 запускается реакция полимеризации с высвобождением красителя синего цвета. Глубина изменения цвета пленки (оптическая плотность) будет зависеть от поглощенной дозы. Таким образом, для проведения дозиметрического анализа необходимо иметь график зависимости оптической плотности полимерной пленки от поглощенной дозы в среде. **Целью работы** было проведение калибровки пленочных дозиметров на клинических пучках электронов с разной энергией.

Результаты и обсуждение. В работе были использованы дозиметрические пленки GafChromic EBT3 из партии №A05151201 [2]. Экспериментальные исследования проводились при помощи клинического линейного ускорителя электронов ONCOR Impression Plus производства компании Siemens в Московской городской онкологической больнице № 62 и при помощи интраоперационного бетатрона МИБ-6Э отделения радиотерапии Научно-исследовательского института онкологии Томского НИМЦ. При проведении экспериментов пленочные дозиметры помещались в твердотельный фантом на глубине максимума дозы в воде для выбранных энергий. Для контроля поглощенной дозы использовались плоскопараллельные ионизационные камеры. Эксперименты проводились при стандартных условиях облучения. Основное оборудование и параметры экспериментов указаны в табл. 1.

Таблица 1

Основное оборудование и параметры экспериментов

	Эксперимент №1	Эксперимент №2
Источник электронов	Линейный ускоритель ONCOR Impression Plus	Интраоперационный бетатрон МИБ-6Э
Энергия электронов, МэВ	12	6
Твердотельный фантом	RW3	SP34
Плоскопараллельная ионизационная камера	PPC-40	Marcus Chamber Type 23343
Дозиметр	DOSE 1	PTW Unidos E

Для оцифровки пленочного дозиметра был использован цветной планшетный сканер Epson Perfection V750 Pro [3]. Дозиметрические пленки сканировались в 48-битном цветовом режиме с пространственным разрешением 72 dpi. Полученные таким образом цифровые изображения были сохранены в формате TIFF и проанализированы с помощью специально разработанного кода в программном пакете MATLAB.

На рис. 1 представлены полученные зависимости поглощенной дозы пучка электронов от оптической плотности дозиметрической пленки.

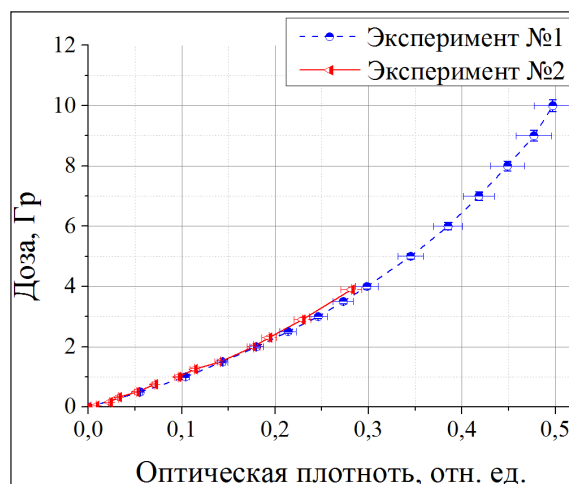


Рис. 1. Зависимость поглощенной дозы пучка электронов от оптической плотности дозиметрической пленки GafChromic EBT3

Заключение. Полученные результаты калибровки пленочного дозиметра GafChromic EBT3 при помощи различных ускорителей электронов на пучках с разной энергией находятся в хорошем согласии. Полученная калибровочная кривая будет использоваться в дальнейшем для оценки дозовой нагрузки на ткани и органы при планировании процедур лучевой терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красных А.А., Милойчикова И.А., Стучебров С.Г. Анализ характера взаимодействия электронных пучков с модифицированным АБС-пластиком. Вестник Национального исследовательского ядерного университета МИФИ. 2017; 6(2): 108112. doi: 10.1134/S2304487X17020080.
2. GAFCHROMIC DOSIMETRY MEDIA, TYPE EBT-3. [Электронный ресурс]. URL: http://www.gafchromic.com/documents/EBT3_Specifications.pdf. (дата обращения: 03.02.2018)
3. Epson Perfection V750. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.epson.ru/catalog/scanners/epson-perfection-v750-pro/>. (дата обращения: 05.02.2018)

ОПЫТ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БРОНХОПУЛЬМОНАЛЬНЫХ КАРЦИНОИДОВ

А.С. Шогенов, И.Н.Туркин

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Бронхопульмональные карциноиды – редкие нейроэндокринные опухоли легкого, составляющие 2,5–3 % от всех злокачественных новообразований данной локализации. Эпидемиологические исследования сообщают об увеличении заболеваемости бронхопульмональными карциноидами в последние десятилетия. В работе представлены результаты хирургического лечения типичных и атипичных легочных карциноидов.

Ключевые слова: бронхопульмональные карциноиды, типичный легочный карциноид, атипичный легочный карциноид.

EXPERIENCE IN THE SURGICAL TREATMENT OF BRONCHOPULMONARY CARCINOIDS

A.S. Shogenov, I.N.Turkin

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Bronchopulmonary carcinoids are rare neuroendocrine tumors of the lung, constituting about 2.53 % of all malignant neoplasms of this localization. Epidemiological studies reported an increase in incidence of bronchopulmonary carcinoids in recent decades. This paper presents the results of surgical treatment of typical and atypical pulmonary carcinoids.

Keywords: bronchopulmonary carcinoids, typical pulmonary carcinoid, atypical pulmonary carcinoids.

Введение. Бронхопульмональные карциноиды – редкие нейроэндокринные опухоли легкого, составляющие 2,5–3 % от всех злокачественных новообразований данной локализации [1]. Эпидемиологические исследования сообщают об увеличении заболеваемости бронхопульмональными карциноидами в последние десятилетия [2]. По нашим данным, количество госпитализированных больных атипичными карциноидами в последнюю декаду достоверно увеличилось до 24,3 % по сравнению с предыдущим периодом – 8,7 % [3]. Вследствие того, что данные опухоли становятся более распространенными в популяции, оценка результатов хирургического лечения, остающегося методом выбора, представляется актуальной.

Цель – изучить в сравнительном аспекте результаты хирургического лечения типичных и атипичных карциноидов легких.

В Ростовском НИИ онкологии за период с 2008 по 2017 г. хирургическое лечение проведено 61 больному бронхопульмональными карциноидами: типичный карциноид установлен у 37 (60,6 %) пациентов, атипичный карциноид – у 24 (39,4 %). Подробная клинико-антропометрическая характеристика сравниваемых групп представлена в табл. 1.

Таблица 1

Клинико-антропометрическая характеристика больных бронхопульмональными карциноидами

Показатели	Типичный карциноид n= 37 а.ч. (%).		Атипичный карциноид n= 24 а.ч. (%).	
Мужчины	14	(37,8%)	11	(45,7%)
Женщины	23	(62,2%)	13	(54,3%)
Возраст 18–29 лет	3	(7,8%)		
30–40 лет	5	(13,2%)	1	(4,1%)
41–50 лет	5	(13,2%)	3	(12,3%)
51–60 лет	15	(40,5%)	15	(61,5%)
61–70 лет	8	(21,6%)	5	(20,5%)
Старше 70 лет	1	(2,7%)	-	
Центральная форма	18	(48,6%)	16	(66,5%)
Периферическая форма	19	(51,4%)	8	(33,5%)

Пневмонэктомии выполнены 8 (21,6 %) пациентам с типичным карциноидом и 4 (16,7 %) с атипичным карциноидом; билобэктомии – 3 (8,1 %) и 4 (16,7 %) больным; лобэктомии – 21 (56,7 %) и 16 (66,5 %) соответственно. Бронхопластические лобэктомии – 2 (5,4 %) и сублобарные резекции – 3 (8,1 %) пациентам с типичным карциноидом. Послеоперационное стадирование бронхопульмональных карциноидов проведено в соответствии с классификацией TNM (7th ed. 2009). Общая кумулятивная выживаемость изучалась методом Каплана – Мейера, результаты сравнивались с помощью Log Rank Test, различия считались достоверными при значении $p < 0,05$.

Результаты. Постхирургические стадии заболевания, установленные по результатам морфологического исследования удаленных препаратов, представлены в табл. 2, которая демонстрирует отсутствие статистически достоверных различий.

Медиана последующего наблюдения составила 47,6 мес. Медиана общей выживаемости как при типичных, так и атипичных карциноидах не достигнута (рис. 1). От прогрессирования атипичных карциноидов умерли 3 больных через 14, 16 и 24 мес после операции. Общая кумулятивная 5-летняя выживаемость при хирургическом лечении типичных карциноидов составила 94,7 %, атипичных карциноидов – 67,2 %; Log Rank Test= -2,57229, $p=0,01$.

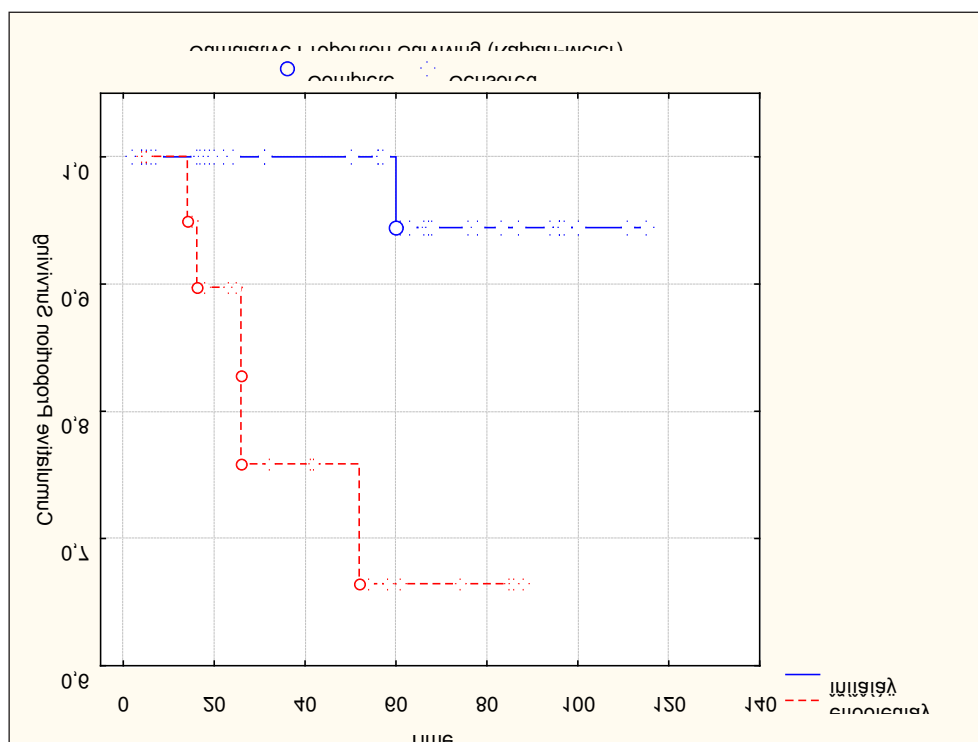


Рис. 1. Общая кумулятивная выживаемость больных карциноидами легких

Выводы. Показатель общей 5-летней выживаемости после хирургического лечения больных атипичными карциноидами достоверно ниже, чем при типичных карциноидах, что подтверждает значимую роль гистологического подтипа бронхопульмональных карциноидов в качестве независимого прогностического фактора. Вместе с тем существует потребность в выработке дополнительных критериев прогноза атипичных карциноидов и предикции необходимости проведения адъювантной терапии на основе изучения новых тканевых биомаркеров в опухолях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fisseler-Eckhoff A., Demes M. Neuroendocrine Tumors of the Lung. *Cancers*. 2012; 4: 777–798.
2. Hendifar A.E., Marchevsky A.M. Tuli R. Neuroendocrine Tumors of the Lung: Current Challenges and Advances in the Diagnosis and Management of Well-Differentiated Disease. *J. Thorac. Oncol.* 2016; 12(3): 425–436.
3. Шогенов А.С., Лазутин Ю.Н., Туркин И.Н. Нейроэндокринные опухоли (НЭО) легких в базе данных Ростовского НИИ онкологии. XXI российский онкологический конгресс. Злокачественные опухоли. 2017; (7): 87–88.

ДНК-ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФОРМ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ

В.П. Шубин, Ю.А. Шелыгин

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Проведен анализ герминальных мутаций в генах MLH1 (NM_000249), MSH2 (NM_000251), MSH6 (NM_000179), PMS1 (NM_000534), PMS2 (NM_000535), APC (NM_000038), STK11 (NM_000455) у 126 больных с разными наследственными формами колоректального рака. Выявлены 34 ранее не описанные мутации.

Ключевые слова: рак толстой кишки, синдром Линча, CATK, синдром Пейтса –Егерса, высокопроизводительное секвенирование

DNA-DIAGNOSTICS OF HEREDITARY FORMS OF COLON CANCER

V.P. Shubin, Yu.A. Shelgin

State Scientific Centre of Coloproctology, Moscow, Russia

Abstract

We analyzed of mutations in the genes MLH1 (NM_000249), MSH2 (NM_000251), MSH6 (NM_000179), PMS1 (NM_000534), PMS2 (NM_000535), APC (NM_000038), STK11 (NM_000455) from 126 patients with different hereditary colorectal cancer syndromes. We identified 34 previously not described mutations.

Keywords: colorectal cancer, Lynch syndrome, FAP, Peutz-Jeghers syndrome, NGS.

Актуальность. Колоректальный рак (КРР) занимает лидирующие позиции в структуре заболеваемости в России среди всех злокачественных новообразований. По распространенности заболевания (2016 г.) на 100 000 населения больных КРР насчитывается ~238 человек (~61000 среди всего населения России) [1]. Колоректальный рак делят на наследственный (5–10 %) и спорадический (90–95 %) [2]. Наследственный рак толстой кишки, как правило, проявляется в раннем возрасте (до 45 лет). Фундаментальные исследования в области колоректального канцерогенеза позволили выявить гены, герминальные мутации которых объясняют возникновение наследственного рака толстой кишки. **Целью работы** явилось изучение характеристик герминальных мутаций при наследственных синдромах рака толстой кишки у российских пациентов. Больные из разных популяций могут иметь не только одинаковые, но и различающиеся мутации.

Материал и методы. В кабинете и отделе лабораторной генетики за период с 2012 по 2017 год было обнаружено 129 герминальных мутаций у пациентов с разными формами наследственного колоректального рака. Выделено три группы пациентов: с неполипозным раком толстой кишки (42 пациента), рак с множественными полипами в толстой кишке (83 пациента) и пациенты с синдромом Пейтса – Егерса (4 пациента). ДНК из лимфоцитов периферической крови выделяли с использованием набора «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА» фирмы ДНК-технология. Для поиска мутаций в генах использовали ПЦР, конформационно-чувствительный электрофорез, высокопроизводительное секвенирование (NGS) на приборе GS Junior 454 фирмы Roche согласно протоколу производителя и капиллярное секвенирование по методу Сэнгера. При обработке результатов использовали программы NetGene2 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2>), «Mutation taster» (<http://www.mutationtaster.org>) и базы данных (<https://insight-database.org>), Human Gene Mutation Database (HGMD®).

Результаты. В проведенном исследовании было выявлено 42 мутации в генах репарации ошибочно спаренных оснований ДНК: MLH1 (NM_000249), MSH2 (NM_000251), MSH6 (NM_000179), PMS1 (NM_000534), PMS2 (NM_000535), ассоциированных с синдромом Линча. Среди 42 мутаций ранее не описанные в вышеуказанных базах данных 6 мутаций были обнаружены в гене MLH1 (с.444_450del, с.445dupC, с.947delT, с.1896+1G>C, с.2073_2074delAT, с.1921_1922insC), 5 в гене MSH2 (с.345_348del, с.1174A>T, с.2086C>T, с.2407dupA), 1 в гене PMS1 и 1 в гене PMS2 [3]. В гене APC (NM_000038) было обнаружено 83 мутации, среди которых 21 мутация (с.423-6A>G, с.866_869delCCAG, с.1332dupT, с.1767_1777del11, с.2353_2360del8, с.2590delC, с.2656delC, с.2708_2714del7, с.3270_3273dupACCA, с.3311C>G, с.3340delC, с.3549T>G, с.3571C>T, с.3929dupA, с.4120G>T, с.4354delG, с.4383_4387dupAAAGA, с.4400delC, с.4473dupT, с.1777dupA, с.3927_3931dupAAAGA) выявлена впервые [4]. В гене STK11 (NM_000455) было обнаружено 4 мутации (с.598-1G>A, с.1009_1010delGT, с.933_936delGAAA, с.200T>C), три из которых не встретились в вышеупомянутых базах данных [5].

Выводы. Среди обнаруженных мутаций в генах, ассоциированных с наследственными формами колоректального рака, число впервые выявленных составило 27 % (34/126). Проведенное исследование показало необходимость исследования всех кодирующих экзонов генов и прилегающих к ним участков интронов (20 нуклеотидов от экзона).

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (Заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена; филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. 250
2. Kastrinos F., Syngal S. Inherited Colorectal Cancer Syndromes Cancer journal. 2011; 17: 405–415. doi: 10.1097/PPO.0b013e318237e408.

3. Цуканов А.С. Стратегия комплексного молекулярно-генетического изучения наследственных форм колоректального рака у российских пациентов [автореф. ...д-ра. мед. наук]. [Москва]; 2017. 48.

4. Цуканов А.С., Поспехова Н.И., Шубин В.П., Кузьминов А.М., Кашников В.Н., Фролов С.А., Шельгин Ю.А. Мутации в гене APC у российских пациентов с классической формой семейного аденоматоза толстой кишки. Генетика. 2017; 3: 356–363. doi: 10.7868/S0016675817030134.

5. Шельгин Ю.А., Поспехова Н.И., Шубин В.П., Кашников В.Н., Фролов С.А., Кузьминов А.М., Майновская О.А., Сачков И.Ю., Цуканов А.С. Пилотное клиничко-генетическое исследование российских пациентов с синдромом Пейтца-Еггерса. Вопросы онкологии. 2016; 1: 112–116.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА УРОВНЯ ЦОК ПРИ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЙ

О.Г. Шульгина, Е.Ю. Златник

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Одним из факторов, влияющих на частоту и вероятность метастазирования опухоли, является уровень циркулирующих в крови опухолевых клеток [1]. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) представляют собой клетки эпителиального происхождения [2]. Они определяются в периферической крови больных с различными формами солидного рака. Изучение ЦОК представляет собой вариант «жидкостной биопсии». Это позволяет в ранние сроки предсказывать рецидив рака, осуществить мониторинг эффективности терапии, прогнозировать течение болезни.

Ключевые слова: циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), рак молочной железы, рак легкого, рак толстой кишки.

COMPARATIVE ASSESSMENT OF CTC LEVELS IN VARIOUS EPITHELIAL TUMORS

O.G. Shulgina, E.Y. Zlatnik

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russian

Abstract

The level of circulating tumor cells is one of the factors influencing the rate and probability of tumor metastases [1]. Circulating tumor cells (CTCs) are cells of epithelial origin [2]. They are detected in the peripheral blood of patients with solid tumors. CTC analysis is a variant of the liquid biopsy. It allows early prediction of cancer recurrence, monitoring the effectiveness of therapy, and predicting the disease course.

Keywords: circulating tumor cells (CTC), breast cancer, lung cancer, colon cancer.

Актуальность. Провести количественную оценку и частоту выявления циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) в крови больных раком молочной железы, легкого, толстой кишки.

Материал и методы. Объектом исследования являлась периферическая кровь 251 больного, из них – 135 больных раком толстой кишки (42–82 года, средний возраст $63,7 \pm 1,9$ года), III–IV стадии; 66 больных раком молочной железы (31–76 лет, средний возраст $50,6 \pm 2,2$ года), IIa–III стадии; 50 больных раком лёгкого (44–76 лет, средний возраст $57,3 \pm 4,8$ года), IIIB–IV стадии. Кровь пациентов в объеме 7,5 мл анализировали с помощью аппарата CellTracks® AutoPrep® System, который в автоматическом режиме, удаляя плазму крови и форменные элементы, иммуномагнитно обогащал образец микрочастицами железа, покрытыми антителами к маркерам адгезии эпителиальных клеток EpCAM, CD45 и цитокератинам 8,18,19. Материал сканировался в анализаторе CellTracks® Analyzer II®, который регистрировал циркулирующие опухолевые клетки. Референсными значениями считалось менее 5 ЦОК в образце при раке молочной железы, менее 3 – при колоректальном раке.

Результаты. У больных раком молочной железы IIa–III стадии ЦОК выявлены в 65 % случаев (у 43 из 66 больных), при этом единичные опухолевые клетки были отмечены в 11 %

случаев (у 5 из 43 больных), от 2 до 5 ЦОК – в 58 % (у 25 из 43 больных), от 5 до 10 ЦОК – в 14 % (у 6 из 43 больных) и свыше 10 ЦОК – в 17 % (у 7 из 43 больных). Из 66 больных, в крови которых определялись ЦОК, в 97 % случаев (63 из 66 больных) отмечена III стадия заболевания, при этом количество выявленных ЦОК колебалось от 0 до 28 клеток. Если при отсутствии метастазов (mts) в лимфатических узлах (л/у) ЦОК выявлены только в 3 случаях из 15 (4 %), то при наличии mts в л/у и тем более в других органах ЦОК выявлены у 41 из 51 больного (62 %) (рис.1).

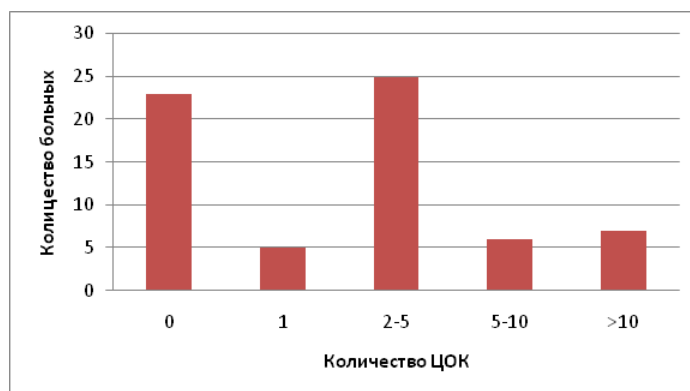


Рис. 1. Количественное соотношение больных раком молочной железы с разным уровнем ЦОК

У больных раком легкого III–IV стадии ЦОК выявлены у 46 больных (92 %) из 50. При этом единичные события отмечены в 5 случаях (11 %). Доля больных с количеством ЦОК от 2 до 5 составила 28 % (у 13 из 46 больных), от 5 до 10 – 13 % (у 6 из 46 больных). Пациенты с ЦОК от 10 до 100 встречались в 20 % случаев (у 9 из 46 больных), при этом стадия заболевания III была отмечена у 5 больных, которым был диагностирован мелкоклеточный рак легкого (МРЛ). У больных с IV стадией (4 из 9) диагностирован немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ). Уровень ЦОК свыше 100 был выявлен у 13 больных (28 %), среди них стадия III отмечена у 5 больных, причем у всех пациентов диагностирован МРЛ, а среди пациентов с IV стадией МРЛ встречался в 4 случаях из 8. Среди общего количества больных стадия III была выявлена в 36 % случаев (у 18 из 50 больных) (рис. 2). У больных колоректальным раком III стадии уровень ЦОК от 1 до 14 отмечен в 45,5 % случаев (у 20 из 44 больных), из которых только 25 % случаев (5 из 20) превысили референсные значения в 3 ЦОК. В IV стадии заболевания опухолевые клетки обнаружены в 83,5 % случаев (у 76 из 91 больных), где уровень ЦОК от 1 до 3 выявлен у 45 больных (59,2 %), и свыше 3 клеток – у 31 больного (40,8 %). Среди больных, у которых количество клеток превысило порог позитивности, отмечено, что от 3 до 10 ЦОК выявлено у 19 больных (в 61,3 %), свыше 10 – у 12 больных (38,7 %) (рис.3).

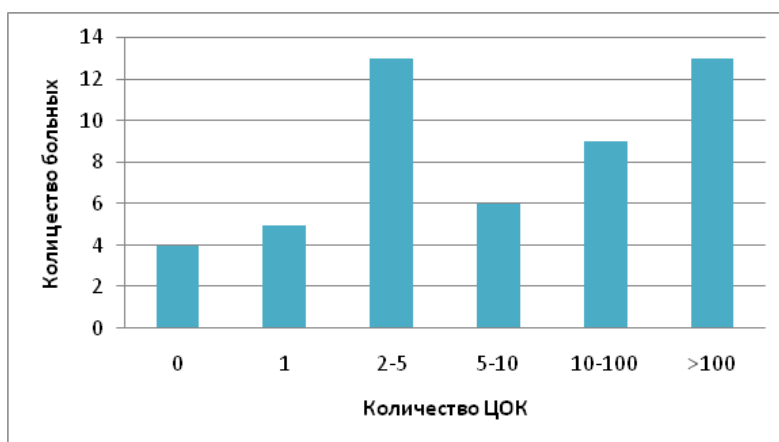


Рис. 2. Количественное соотношение больных раком легкого с разным уровнем ЦОК

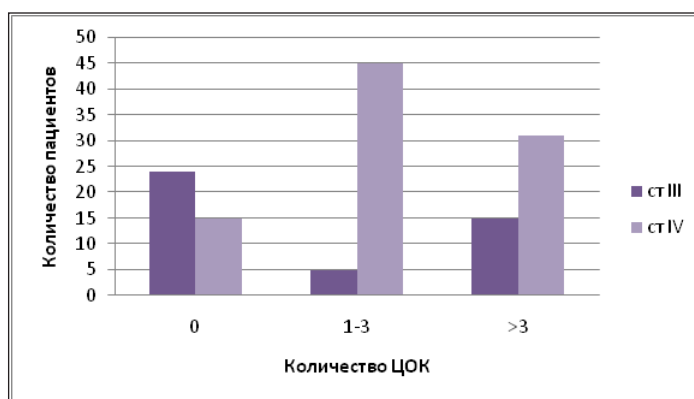


Рис. 3. Количественное соотношение больных колоректальным раком с различной стадией и разным уровнем ЦОК

Выводы. Проведенное нами исследование демонстрирует, что частота выявления и количество ЦОК при опухолях различных локализаций широко варьируют. Отмечено, что при увеличении количества выявленных ЦОК риск обнаружения mts в л/у и отдаленных органах значительно увеличивается. Внедрение технологии определения в периферической крови уровня ЦОК в клиническую практику может быть использовано в качестве динамического показателя как для прогноза течения заболевания, так и для мониторинга состояния больных, получающих системное лечение, что позволит оценить степень его эффективности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer. Cell. 2000 Jan 7; 100(1): 57–70.
2. Fiegl M., Kircher B., Zoja N. Cytogenetic evidence that circulating epithelial cells in patients with carcinoma are malignant. Clin Cancer Res. 2003 Mar; 9(3): 1224–5.

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ КОНЬЮГАТА ПРОСПИДИНА С ФОСФАТОМ ДЕКСТРАНА

Д.В. Юнина, А.В. Заборовский

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Перспективным направлением химиотерапии в онкологии является направленный транспорт лекарственных средств. В статье представлены результаты исследования острой токсичности конъюгата проспидина с фосфатом декстрана на модели асцитной гепатомы Зайдела у крыс. Приводятся наиболее вероятные механизмы снижения токсичности цитостатика при его конъюгации с фосфатом декстрана.

Ключевые слова: химиотерапия, гидрогель, острая токсичность.

ACUTE TOXICITY OF PROSPIDIN CONJUGATE WITH DEXTRAN PHOSPHATE

D.V. Iunina, A.V. Zaborovskiy

Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, Moscow, Russia

Abstract

A promising approach for cancer chemotherapy is the targeted drug delivery. The results obtained from the acute toxicity study of prospidin conjugate with dextran phosphate on the model of ascites Zaidel hepatoma in

rats are presented. The most likely mechanisms for reducing the toxicity of the cytostatic during its conjugation with dextran phosphate are given.

Keywords: chemotherapy, hydrogel, acute toxicity.

Актуальность. Одной из наиболее важных проблем в современной онкологии является поиск и создание новых химиотерапевтических лекарственных препаратов. Большинство лекарственных средств, изученных и использующихся в настоящее время, обладают невысокой избирательностью цитостатического действия на опухолевые клетки, а также значительной общей токсичностью. В связи с этим актуален как дальнейший поиск новых активных соединений, так и совершенствование их лекарственных форм [1]. С этой целью используют различные средства доставки уже изученных лекарственных средств – антитела, липосомы, мицеллы, конъюгация с биополимерами [2]. Для лечения опухолей серозных полостей, которые плохо поддаются системной химиотерапии, перспективно использование конъюгатов химиопрепаратов с фосфатом декстрана, который отличается высокой биосовместимостью, низкой токсичностью и отсутствием антигенных свойств. При использовании таких препаратов увеличивается концентрация, пролонгируется время нахождения препарата в полости, снижается вероятность резкого повышения концентрации в плазме крови, т.е. снижение частоты побочных эффектов [3].

Однако на сегодняшний день нет достаточных данных об эффективности и токсичности гидрогелевых форм химиопрепаратов *in vivo*, поэтому имеется потребность в более подробном их изучении.

Материал и методы. В настоящем исследовании в качестве противобластомного компонента был взят проспидин. Использовалась официальная форма препарата Проспидин-гидрогель, разработанная в НИИ физико-химических проблем БГУ, Минск, и ООО «Биотехнологическая компания ТНК», Москва. Токсичность была изучена на белых лабораторных крысах на модели асцитной гепатомы Зайдела, поскольку применение этих композиций планировалось при опухолях серозных полостей.

В данной серии экспериментов животные были разделены на 2 группы (для официальной формы химиопрепарата и для его конъюгата с ФД). В свою очередь, в каждой из групп было выделено по 6 подгрупп (по 10 животных на 1 дозу препарата).

Проспидин и конъюгат проспидин-ФД вводили внутривентально в дозах 450, 600, 900, 1200, 1800, и 2700 мг/кг в пересчете на проспидин.

Контролем служили 2 группы по 10 животных. В 1-й контрольной группе крысам вводили 0,9 % раствор NaCl в объеме 3,0 мл, во 2-й – 3,0 мл 10 % раствора ФД. Эта доза соответствовала дозе ФД в подгруппе с максимальными дозами химиопрепарата. Наблюдение за животными продолжалось в течение 30 дней, ежедневно фиксировалась летальность. Определение показателей токсичности проводилось с помощью probit-analysis. Рассчитаны LD10, LD50 и LD100 исследуемых субстанций, а также их 95 % доверительные интервалы.

Результаты и обсуждение. При использовании как водорастворимого, так и гидрогелевого препарата максимальная доза проспидина, ограниченная объемом введения, не приводила к гибели 100 % животных. LD100 составила 3310 мг/кг для водорастворимой и 5140 мг/кг для гидрогелевой форм препарата (показатели получены расчетным методом, в эксперименте данная доза не достигалась). LD10 составила 920 мг/кг и 1370 мг/кг, LD50 – 1570 мг/кг и 2520 мг/кг соответственно.

Выводы. Исследование показало, что конъюгирование с ФД снижало токсичность проспидина. LD10 конъюгата в 1,5–2 раза превышала таковую для водорастворимого препарата. Предполагается, что наиболее вероятным механизмом снижения токсичности цитостатика может быть уменьшение скорости поступления в системный кровоток, приводящее к снижению его пиковой концентрации. Все это говорит о перспективности дальнейших исследований и применения химиопрепаратов, конъюгированных с фосфатом декстрана.

ЛИТЕРАТУРА

1. Catalani E., Proietti Serafini F., Zecchini S., Picchiatti S., Fausto A.M., Marcantoni E., Buonanno F., Ortenzi C., Perrotta C., Cervia D. Natural products from aquatic eukaryotic microorganisms for cancer therapy: Perspectives on anti-tumour properties of ciliate bioactive molecules. *Pharmacological Research*. 2016. 113 (Pt A): 409–420. doi: 10.1016/j.phrs.2016.09.018.
2. Трещалин И.Д., Переверзева Э.Р., Бодягин Д.А., Мирчинк Е.П., Бухман В.М. Модификация токсичности противоопухолевых препаратов как метод повышения эффективности химиотерапии злокачественных новообразований. *Российский биотерапевтический журнал*. 2005; 4 (3): 87–94.
3. Бычковский П.П., Юркин Т.Л., Голуб Н.В., Алиновская В.А., Костерова Н.И., Беляев С.А., Александрова Е.Н., Истомин Ю.П., Шибко Д.В., Кладиев А.А. Создание полимер-лекарственной формы проспидина на основе биodeградирующих гидрогелей. Тез. докл. XVI Рос. национального конгресса «Человек и лекарство». М., 2010. 629.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАКА ЖЕЛУДКА В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

Л.Ф. Юсупова¹, А.Х. Нургалиева¹, Ф.Р. Мунасыпов³, Ш.М. Хуснутдинов³,
Д.Д. Сакаева³, Э.К. Хуснутдинова^{1,2}

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет», г. Уфа, Россия¹

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук», г. Уфа, Россия²

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Республиканский клинический онкологический диспансер», г. Уфа, Россия³

Аннотация

Рак желудка – это злокачественная опухоль слизистой оболочки желудка человека, характеризующаяся высоким метастатическим потенциалом и плохим прогнозом. Проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфных локусов rs1143634 и rs16944 гена *IL1β*, rs71941886 гена *IL1RN*, rs4073 гена *IL8*, rs1800872 гена *IL10*, rs16260 гена *CDH1*, а также инсерционно-делеционного полиморфизма гена *PGC* у 221 пациента с установленным диагнозом «рак желудка», а также у 279 неродственных здоровых индивидов, проживающих на территории Республики Башкортостан. Обнаружены ассоциации аллеля С и генотипа С/С полиморфного варианта rs1143634 гена *IL1β* с риском развития рака желудка у мужчин. Выявлено, что аллель С и гомозиготный генотип С/С полиморфного варианта rs16260 гена *CDH1* являются для русских маркерами повышенного риска развития злокачественных опухолей желудка. Также обнаружено, что среди татар гомозиготный генотип rs16260*А/А достоверно чаще встречался у больных раком желудка, чем у индивидов контрольной группы. Кроме того, показаны статистически значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов rs16944 гена *IL1β*, rs1800872 гена *IL10*, а также инсерционно-делеционного полиморфизма гена *PGC* среди больных и индивидов контрольной группы в зависимости от клинических особенностей заболевания. Наши результаты подтверждают роль полиморфных вариантов rs1143634, rs16944, rs1800872, rs16260, а также инсерционно-делеционного полиморфизма гена *PGC* в развитии рака желудка.

Ключевые слова: рак желудка, ассоциация, полиморфный вариант гена.

MOLECULAR-GENETIC STUDY OF GASTRIC CANCER IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

L.F. Yusupova¹, A.Kh. Nurgalieva¹, F.R. Munasypov³, Sh.M. Khusnutdinov³,
D.D. Sakaeva³, E.K. Khusnutdinova^{1,2}

Bashkir State University, Ufa, Russia¹

The Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia²

State Institution of Health Republican Clinical Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Bashkortostan, Ufa, Russia³

Abstract

Gastric cancer is a malignant tumor of the human gastric mucosa, characterized by high metastatic potential and poor prognosis. We analyzed the frequency distribution of alleles and genotypes of the polymorphic variants rs1143634 and rs16944 of the *IL1β* gene, rs71941886 of the *IL1RN* gene, rs4073 of the *IL8* gene, rs1800872 of the *IL10* gene, rs16260 of the *CDH1* gene, and insertion/deletion polymorphism of the *PGC* gene in 221 patients diagnosed with “gastric cancer” as well as in 279 unrelated healthy individuals living in the Republic of Bashkortostan. For men we have identified associations of the allele C and the genotype C/C of the polymorphic variant rs1143634 of the *IL1β* gene with the risk of developing gastric cancer. It was found that the allele C and the homozygous genotype C/C of the polymorphic variant rs16260 of the *CDH1* gene are markers an increased risk of developing malignant gastric tumors for the Russians. It was also found that among Tatars the homozygous genotype rs16260*А/А was significantly more frequent in patients with gastric cancer than in individuals of the control group. In addition, we found statistically significant differences in the distribution of allele frequencies and genotypes of the polymorphic variants of rs16944 of the

IL1β gene, rs1800872 of the *IL10* gene, as well as of the insertion/deletion polymorphism of the *PGC* gene among patients and individuals of the control group, depending on the clinical features of the disease. Our results confirm the role of polymorphic variants rs1143634, rs16944, rs1800872, rs16260, as well as insertion/deletion polymorphism of the *PGC* gene in the development of gastric cancer.

Keywords: Gastric cancer, association, polymorphic variant of the gene.

Актуальность. Рак желудка (РЖ) входит в число лидирующих причин смерти от онкологических заболеваний во всем мире.

Так же как и для большинства распространенных форм рака, в патогенез РЖ вовлечены одновременно как средовые, так и генетические факторы. К наиболее известным средовым факторам риска развития данной патологии следует отнести особенности питания, курение, инфицирование бактерией *Helicobacter pylori* и др. [1]. Наследственную предрасположенность к развитию злокачественных новообразований желудка связывают с носительством мутаций в ряде генов, таких как *CDH1*, *TP53*, *MLH1*, *MSH2* и др. [2]. Однако лишь небольшая часть аденокарцином желудка возникает в рамках явной наследственной предрасположенности, только около 5–10 % больных имеют отягощенный семейный анамнез, в большинстве же случаев встречается спорадический РЖ [3]. В связи с этим для поиска причин возникновения и развития злокачественных опухолей желудка актуальным представляется рассмотрение и других генов, молекулярные события в которых могут стать ключевым фактором в малигнизации клеток. Так, исследователями довольно часто изучается роль генов цитокинов в развитии злокачественных опухолей желудка. Поскольку про- и противовоспалительные цитокины модулируют воспалительную реакцию в слизистой оболочке желудка, то генетические вариации в кодирующих их генах могут влиять на внутренние индивидуальные ответы организма и восприимчивость к болезни. Также весьма актуальным представляется исследование полиморфизма генов, кодирующих пищеварительные ферменты, для определения их роли в развитии заболеваний ЖКТ, поскольку нарушения в экспрессии соответствующих генов могут приводить к атрофии желез желудка и, как следствие, к развитию различных заболеваний этого органа.

Целью работы стал поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов *IL1β*, *IL1RN*, *IL8*, *IL10*, *PGC* и *CDH1* с риском развития РЖ в Республике Башкортостан (РБ).

Материал и методы.

Группа больных состояла из 221 индивида с РЖ, из них 125 мужчин и 96 женщин. В контрольную группу вошли 279 здоровых доноров без каких-либо признаков заболеваний желудочно-кишечного тракта. Контрольную группу составили 206 мужчин и 73 женщины. Группа контроля соответствовала выборке больных РЖ по возрасту и этническому составу. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование проводили с помощью полимеразной цепной реакции синтеза ДНК со специфичными праймерами с последующей рестрикцией и геле-электрофорезом.

Результаты. В ходе исследования полиморфного варианта rs1143634 гена *IL1β* получены следующие результаты: аллель rs1143634*С и генотип rs1143634*С/С являются для мужчин маркерами повышенного риска развития изучаемой патологии ($\chi^2=7,39$; $p=0,007$; OR=1,69; 95 % CI 1,17–2,44 и $\chi^2=7,83$; $p=0,005$; OR=1,96; 95 % CI 1,24–3,09 соответственно), а маркерами пониженного риска для этой же группы испытуемых – аллель rs1143634*Т и генотип rs1143634*С/Т ($\chi^2=7,39$; $p=0,007$; OR=0,59; 95 % CI 0,41–0,86 и $\chi^2=4,75$; $p=0,029$; OR=0,58; 95 % CI 0,37–0,93 соответственно). Кроме этого обнаружено, что у пациентов со 2-й стадией развития РЖ по сравнению с индивидами контрольной группы чаще выявляется аллель rs1143634*С и образованный им гомозиготный генотип rs1143634*С/С ($\chi^2=6,17$; $p=0,013$; OR=2,31; 95 % CI 1,22–4,39 и $\chi^2=7,40$; $p=0,007$; OR=2,94; 95 % CI 1,38–6,27) и реже обнаруживается аллель rs1143634*Т и гетерозиготный генотип rs1143634*С/Т ($\chi^2=6,17$; $p=0,013$; OR=0,43; 95 % CI 0,23–0,82 и $\chi^2=5,49$; $p=0,019$; OR=0,36; 95 % CI 0,16–0,82). Также установлено, что у пациентов с высоко- и умереннодифференцированным РЖ чаще встречаются аллель rs1143634*С и генотип rs1143634*С/С ($\chi^2=8,18$; $p=0,004$; OR=1,87; 95 % CI 1,23–2,85 и $\chi^2=8,25$; $p=0,004$; OR=2,13; 95 % CI 1,29–3,53 соответственно) и реже встречаются аллель rs1143634*Т и генотип rs1143634*С/Т ($\chi^2=8,18$; $p=0,004$; OR=0,53; 95 % CI 0,35–0,81 и $\chi^2=4,86$; $p=0,027$; OR=0,54; 95 % CI 0,32–0,91 соответственно) по сравнению с контрольной выборкой.

Сравнительный анализ распределения частот генотипов полиморфного варианта rs16944 гена *IL1β* между здоровыми индивидами и больными РЖ на разных стадиях развития опухоли выявил статистически достоверные различия для пациентов с 3 стадией развития РЖ: генотип rs16944*T/T обнаружен у индивидов с РЖ на 3 стадии лишь в 12,16 % случаев, тогда как в релевантной контрольной группе – в 21,86 % случаев ($\chi^2=5,41$; $p=0,020$; OR=0,49; 95 %CI 0,28–0,87). Кроме того, нам удалось установить, что этот же генотип rs16944*T/T достоверно реже встречается у пациентов с недифференцированным, либо малодифференцированным РЖ, чем у здоровых доноров ($\chi^2=4,32$; $p=0,038$; OR=0,51; 95 % CI 0,27–0,93).

Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs1800872 гена *IL10* между больными РЖ и здоровыми донорами показал, что генотип rs1800872*A/C достоверно чаще встречается у пациентов с высоко- и умереннодифференцированным РЖ (в 54,44 % случаев), чем у здоровых индивидов (в 40,56 % случаев) ($\chi^2=4,62$; $p=0,032$; OR=1,75; 95 %CI 1,08–2,85).

В распределении частот аллелей и генотипов инсерционно-делеционного полиморфизма гена *PGC* среди больных РЖ и здоровых доноров также обнаружены статистически достоверные различия: у мужчин с РЖ реже встречается аллель 5, чем у мужчин контрольной группы ($\chi^2=6,35$; $p=0,047$; OR=0,39; 95 %CI 0,19–0,79). Кроме того, выявлено, что аллель 5 также реже выявляется у пациентов с 3 стадией развития РЖ по сравнению с индивидами контрольной группы ($\chi^2=6,02$; $p=0,037$; OR=0,40; 95 %CI 0,200,82).

Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs16260 гена *CDH1* между выборкой больных и здоровых индивидов показал этнические различия. Оказалось, что для русских маркерами повышенного риска развития злокачественных опухолей желудка является аллель rs16260*C ($\chi^2=4,02$; $p=0,045$; OR=1,59; 95 %CI 1,03–2,45) и образованный им гомозиготный генотип rs16260*C/C ($\chi^2=4,25$; $p=0,039$; OR=1,77; 95 %CI 1,06–2,95). При этом аллель rs16260*A достоверно чаще обнаружен в контрольной группе, чем в описываемой группе больных среди русских ($\chi^2=4,02$; $p=0,045$; OR=0,63; 95 % CI 0,41–0,97). Среди татар выявлен маркер повышенного риска развития злокачественных новообразований желудка, им оказался гомозиготный генотип rs16260*A/A ($\chi^2=7,35$; $p=0,007$; OR=13,03; 95 %CI 1,60–105,95). Разделение выборки больных и контроля по половому признаку показало, что гетерозиготный генотип rs16260*C/A для женщин является маркером пониженного риска развития РЖ ($\chi^2=4,87$; $p=0,027$; OR=0,52; 95 %CI 0,30–0,90). Кроме того, нами установлено, что у пациентов с недифференцированным либо малодифференцированным РЖ чаще встречается гомозиготный генотип rs16260*C/C ($\chi^2=5,15$; $p=0,023$; OR=1,69; 95 % CI 1,09–2,61) и реже встречается гетерозиготный генотип rs16260*C/A ($\chi^2=7,07$; $p=0,008$; OR=0,53; 95 % CI 0,34–0,83) по сравнению с контрольной выборкой.

При сравнении групп больных РЖ со здоровыми донорами, согласно их этнической и гендерной принадлежности, а также клиническими особенностями заболевания, статистически значимых ассоциаций полиморфного варианта rs71941886 гена *IL1RN* и rs4073 гена *IL8* с риском развития РЖ не обнаружено.

Выводы. Таким образом, полиморфные варианты rs1143634 и rs16944 гена *IL1β*, rs1800872 гена *IL10*, rs16260 гена *CDH1*, а также инсерционно-делеционный полиморфизм гена *PGC* могут вносить вклад в структуру генетической предрасположенности к развитию РЖ у населения РБ. Вместе с тем показано, что полиморфные варианты rs71941886 гена *IL1RN* и rs4073 гена *IL8* не ассоциированы с риском развития злокачественных опухолей желудка для жителей нашего региона.

Исследование поддержано РФФИ (грант №17-44-020497 p_a) и программой поддержки биоресурсных коллекций ФАНО

ЛИТЕРАТУРА

1. Ильянатов Е.Н. Эпидемиология и биология РЖ. Практическая онкология. 2009; 10(1): 1–7.
2. Baniak N., Senger J.L., Ahmed S., Kanthan S.C., Kanthan R. Gastric biomarkers: a global review. World J. Surg. Oncol. 2016 Aug 11; 14(1): 212. doi: 10.1186/s12957-016-0969-3.
3. Oliveira C., Seruca R., Carneiro F. Hereditary gastric cancer. Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 2009; 23(2): 147–157. doi: 10.1016/j.bpg.2009.02.003.

ПСИХИАТРИЯ И НАРКОЛОГИЯ

ОСОБЕННОСТИ РОДИТЕЛЬСКИХ СЕМЕЙ ШКОЛЬНИКОВ С АТАРАКТИЧЕСКОЙ МОТИВИРОВКОЙ УПОТРЕБЛЕНИЯ ПСИХОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

И.И. Белокрылов

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Проведено сравнение между группами школьников, которые сообщили о наличии либо отсутствии атарактической мотивировки употребления психоактивных веществ. Более 20 % опрошенных признали случаи использования алкоголя или табака для отвлечения от проблем. Лица, которые употребляли алкоголь с такой мотивировкой, реже воспитывались в полных семьях. Те, кто с этой же целью использовал табак, чаще выражали неудовлетворенность условиями воспитания и взаимоотношениями в своих семьях.

Ключевые слова: учащиеся школ, употребление психоактивных веществ, мотивации потребления психоактивных веществ, микросоциальные факторы.

CHARACTERISTICS OF PARENTAL FAMILIES OF SECONDARY SCHOOL STUDENTS WITH ATARACTIC MOTIVATION OF SUBSTANCE USE

I.I. Belokrylov

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of
Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Comparison has been carried out between groups of school students who have reported about existence or lack of ataractic motivation of substance use. More than 20 % of respondents admitted that there were cases when they use alcohol or tobacco to distract from problems. People who used alcohol with such motivation lived less often in full families. People who with the same purpose used tobacco smoking expressed dissatisfaction with conditions of education and relationship in the families more often.

Keywords: school students, substance use, substance use motivation, microsocial factors.

Атарактическая мотивировка употребления психоактивных веществ (означающая их употребление с целью ухода от проблем или трудностей) в настоящее время является одной из наиболее распространенных среди молодежи [1]. Данная мотивировка занимает 2-е место в общих рейтингах мотивировок употребления табака и наркотиков лицами молодого возраста [2]. Исследование, проведенное на очень большой (22 тыс. чел.) выборке студентов вузов г. Томска, показало столь же высокую значимость атарактической мотивировки и для употребления алкоголя [3]. Выявлены связи данной мотивировки с повышенным уровнем тревоги, с иррациональной когнитивной установкой низкой фрустрационной толерантности, неадаптивным копинг-стилем [4]. Можно утверждать, что перечисленные особенности (определяющие отношение человека не только к аддикциям, но и к жизни в целом) формируются еще до «студенческого» возраста под влиянием семейного окружения. Однако имеющиеся данные не позволяют провести прямую связь между этим влиянием и мотивировкой аддиктивного поведения. Таким образом, данный вопрос требует углубленного изучения.

Исходя из этого, целью настоящего исследования стало изучение некоторых особенностей родительских семей учащихся общеобразовательных учреждений, сообщивших об атарактической мотивировке употребления ими психоактивных веществ.

Материал и методы. Всего было исследовано 766 учащихся муниципальных общеобразовательных учреждений г. Томска, из них 370 юношей, 396 девушек (средний возраст $15,1 \pm 1,1$). Сплошное анонимное анкетирование проводилось при помощи специальных анкет, разработанных в НИИ психического здоровья, содержащих вопросы об опыте контактов с психоактивными веществами, мотивировках этих контактов, ситуации в семье. На вопрос о наличии либо отсутствии атарактической мотивировки (АМ) табакокурения ответили 454 человека, алкоголизации – 439; все сравнения, которые будут рассмотрены далее, проведены внутри этих подгрупп. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ Statistica.

Результаты. В общей выборке преобладают указания на благополучную ситуацию: полные семьи (67,5 %), теплые отношения в них (70,3 %); алкогольные проблемы в семьях признали только 8,7 % респондентов, низкий уровень материального благополучия – только 1,93 %. По типам условий воспитания выборка распределилась следующим образом: гармоничные – 54,8%, протектирующая гиперопека – 23,5 %, потворствующая гиперопека – 6,9 %, завышенные требования – 6,7 %, бессистемные – 3,9 %, гипоопека – 2 %. Следует отметить, что 22,24 % школьников (от числа ответивших на соответствующий вопрос) сообщили об опыте атарактически мотивированного табакокурения, 21,18 % признали опыт использования алкоголя как средства ухода от проблем (далее: потребители табака с атарактической мотивировкой – ПТАМ, алкоголя – ПААМ).

Среди ПААМ приблизительно вдвое чаще, чем в группе отрицающих АМ алкоголизации (19,53 % vs 9,53 %), встречались лица, воспитывающиеся в семьях, где в роли одного из родителей выступает неродной человек (мачеха или отчим). Данные подгруппы отличаются также по распространенности полных семей (56,98 % vs 71,09 %).

О наличии алкогольных проблем у кого-либо в родительской семье сообщили 15,8 % ПТАМ, в подгруппе с отсутствием АМ курения – 7,93 %. Статистически значимых различий распространенности алкогольных проблем в семьях между ПААМ и соответствующей группой сравнения не выявлено.

Отношения внутри родительских семей оценили как конфликтные 8,6 % ПААМ (без АМ – 3,75 %), 9,9 % ПТАМ (без АМ – 4,24 %). Те, кто охарактеризовал семейные взаимоотношения как «теплые», во всех подгруппах составляют большинство, и лишь у ПТАМ данный показатель несколько отстает от усредненного – 61,38 %.

Процент лиц, которые отнесли условия воспитания в своих семьях к «гармоничному» типу, среди ПТАМ заметно ниже (34,65 %), чем в общей выборке, где таких 54,8 %. Кроме того, в этой подгруппе выше доля лиц, указавших на «чрезмерные требования» в родительских семьях (15,84 %, при этом среди отрицающих АМ табакокурения – 4,53 %).

Выводы. Среди учащихся, которые имеют опыт употребления алкоголя с целью ухода от проблем, относительно повышена доля лиц, воспитывающихся с участием отчима или мачехи, и снижен процент полных семей. Условия воспитания и взаимоотношения в своих семьях чаще не устраивают тех из школьников, кому знакомо отвлечение с помощью курения табака. Представители этой же подгруппы чаще сообщают об алкогольных проблемах у кого-либо из членов своих семей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бохан Н.А., Мандель А.И., Артемьев И.А., Невидимова Т.И., Батухтина Е.И., Воеводин И.В., Аболонин А.Ф., Солонский А.В., Прокопьева В.Д., Тоцакова В.А., Елимахова Е.В., Шушпанова Т.В. Клинико-патобиологические закономерности формирования и патоморфоза алкоголизма и наркоманий в социально организованных популяциях. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2015; 3(88): 5363.
2. Белокрылов И.И., Аболонин А.Ф. Атарактическая мотивировка употребления психоактивных веществ среди молодежи. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2016; 3(92): 3843.
3. Бохан Н.А., Воеводин И.В., Лукьянова Н.А., Пушкаренко А.Б. Аддиктивные и тревожно-депрессивные расстройства у студентов Томской области: динамика, половозрастной и миграционный аспекты. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2017; 3(96): 38–45. doi: 10.26617/1810-3111-2017-3(96)-38-45.
4. Воеводин И.В., Бохан Н.А., Аболонин А.Ф., Белокрылов И.И., Назарова И.А. Структура, динамика и психологические характеристики мотивировок употребления психоактивных веществ у учащихся высших и средних учебных заведений. Обзор психиатрии и медицинской психологии имени В.М. Бехтерева. 2014; 4: 37–42.

ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОГЕНЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ АЛЬЦГЕЙМЕРА

А.Г. Варламова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия

Аннотация

В тезисах произведён краткий теоретический анализ понятий «нейрогенез» и «болезнь Альцгеймера», а также рассмотрены особенности протекания нейрогенеза у пациентов с нейродегенеративными заболеваниями; на основании проведённого теоретического анализа были проанализированы гипотезы о возможном воздействии на скорость нейрогенеза.

Ключевые слова: нейрогенез, болезнь Альцгеймера, нейродегенеративные заболевания, гиппокамп, субвентрикулярная зона.

FEATURES OF NEUROGENESIS IN PATIENTS WITH ALZHEIMER'S DISEASE

A.G. Varlamova

Siberian state medical University, Tomsk, Russia

Abstract

In the theses a brief theoretical analysis of the concepts «neurogenesis» and «Alzheimer's disease» was made, as well as the features of the course of neurogenesis in patients with neurodegenerative diseases; on the basis of the theoretical analysis, hypotheses were analyzed on the possible effect on the rate of neurogenesis.

Keywords: neurogenesis, Alzheimer's disease, neurodegenerative diseases, hippocampus, subventricular zone.

Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой хроническое нейродегенеративное заболевание, характеризующееся развитием деменции и выраженными патоморфологическими изменениями в гиппокампе и коре головного мозга, приводящими к прогрессирующему ухудшению когнитивных функций и, соответственно, функциональной активности пациента. Причиной этому является отложение в мозговых клетках белка β -амилоида, который приводит к постепенному разрушению головного мозга. К первому симптому данного заболевания относится ухудшение когнитивных функций (в первую очередь – нарушения памяти), но по мере прогрессирования болезнь постепенно охватывает все сферы жизнедеятельности человека и становится причиной инвалидности.

Болезнь Альцгеймера поражает людей пожилого возраста и считается наиболее частой причиной старческого слабоумия. На сегодняшний день во всём мире около 30 миллионов людей страдают этим заболеванием. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, к 2030 году число людей, страдающих болезнью Альцгеймера, увеличится до 65,7 миллиона, а к 2050 году превысит рубеж в 115 миллионов человек. Болезнь Альцгеймера входит в десятку основных причин смертности во всём мире [1], но, несмотря на значительный опыт применения лекарственных средств, до сих пор медицина не располагает эффективными средствами для лечения болезни Альцгеймера.

Нейрогенез – это процесс формирования новых клеток нервной ткани, относящихся к функционально ведущей её популяции – собственно нервным клеткам (нейронам). Некоторые авторы для обозначения данного процесса используют термин «нейроногенез», с помощью которого делается акцент на том, что речь идёт именно о формировании новых нейронов.

Нейрогенез во взрослом мозге – это явление, относительно недавно признанное научным сообществом, которое опровергло существовавшую долгое время научную теорию о

статичности нервной системы и её неспособности к клеточной регенерации. Сейчас общепризнанным является тот факт, что нейрогенез постоянно происходит в двух ограниченных областях мозга – в субгранулярной зоне (СГЗ) гиппокампа и субвентрикулярной зоне (СВЗ) боковых желудочков. Новые нейроны, образующиеся в СГЗ, мигрируют в слой гранулярных клеток зубчатой извилины гиппокампа. Нейроны, образующиеся в СВЗ, поступают в ассоциативную новую кору, энторинальную кору и обонятельные луковицы [2].

Недавние исследования показали, что вновь образовавшиеся нейроны во взрослом мозге встраиваются в существующие нейронные сети и получают функциональные входы. Нейрогенез во взрослом мозге регулируется физиологическими и патологическими факторами на всех уровнях, а новые нейроны могут быть необходимы для определенных функций мозга, например обучения и памяти.

Нейрогенез в гиппокампе происходит в течение всей жизни, но также новые нейроны могут возникать из других малодифференцированных клеток нескольких типов, находящихся в разных отделах нервной системы (миндалины, спинной мозг и чёрная субстанция). Обновление популяции интернейронов в таких отделах мозга, как обонятельные луковицы и гиппокамп, происходит на 5 и более процентов в месяц.

Не все новые нейроны, образующиеся в большом количестве, достигают морфологической и функциональной зрелости. Скорость нейрогенеза остается все же недостаточной для возмещения нервных клеток, погибших в результате нейродегенеративных процессов, инсульта или травмы. Тем не менее при инсультах и нейродегенеративных заболеваниях развивается пролиферация стволовых клеток мозга и генерация новых нейронов в различных участках головного мозга.

Установлено, что при повреждении нервной системы может меняться направление миграции клеток-предшественников. Они выходят из роstralного миграционного потока, пунктом назначения которого являются обонятельные луковицы, а основной функцией – поддержание «обонятельного» нейрогенеза, и перемещаются в отдаленные области, где обнаруживается гибель нейронов.

На основе экспериментальных данных показано, что мезенхимальные клетки костного мозга и пуповинной крови оказывают положительное действие при травмах спинного мозга и нейродегенеративных заболеваниях. Введение мезенхимальных стволовых клеток в проведенных экспериментах также уменьшало неврологический дефицит при ишемическом инсульте [3].

Последние исследования показали, что на начальных стадиях БА происходит активация нейрорегенерации, но по мере развития заболевания нейрогенез нарушается. Уровень нейрорегенерации регулируется рядом экзогенных и эндогенных факторов. Как известно, БА характеризуется наличием амилоидных бляшек в тканях мозга и нейрофибриллярных клубков, нагруженных тау-белком, внутри нервных клеток. Данные протеинопатии сопровождаются воспалительными реакциями и массивной потерей нейронов и синапсов. Это свидетельствует о том, что при БА пагубно влияют на регенерацию могут воспалительные реакции, возникающие в ответ на накопление β -амилоида.

В недавнем исследовании было установлено, что после инъекции мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) человека у мышей с моделью БА улучшалась пространственная память, так, например, уже на девятые сутки после трансплантации МКПК человека обнаруживаются свидетельства активации нейрогенеза в гиппокампе этих мышей.

Результаты, полученные в ходе данного исследования, свидетельствуют о необходимости проведения дальнейших исследований в сфере стимуляции процесса нейрогенеза у пациентов с болезнью Альцгеймера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kornetov A. Old age psychiatry: training in Siberia. *Mental Health Reforms*. 2002; 7(2): 7–8.
2. Петухова Е.О., Мухамедшина Я.О., Ризванов А.А., Мухитов А.Р., Зефилов А.Л., Исламов Р.Р., Мухамедьяров М.А. Трансплантация мононуклеарных клеток пуповинной крови человека улучшает пространственную память у APP/PS1 трансгенных мышей с моделью болезни Альцгеймера. *Гены и клетки*. 2014; 9: 40–5.
3. Петухова Е.О., Мухамедшина Я.О., Васильева О.Ю., Аксенова Л.Ю., Соловьева В.В., Гаранина Е.Е., Мухамедьяров М.А. Стимулирование нейрогенеза в гиппокампе при болезни Альцгеймера. *Гены и клетки*. 2015; 10(4): 54–59.

СОЦИАЛЬНОЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ И АДАПТАЦИЯ ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВЫМ ПСИХОТИЧЕСКИМ ЭПИЗОДОМ. ВНУТРЕННЯЯ СТИГМА И СОЦИАЛЬНО-ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

К.Ф. Васильченко

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Омск, Россия

Аннотация

В статье приведены результаты исследования самостигматизации, социального функционирования и адаптации пациентов с первым психотическим эпизодом при шизофрении и шизоаффективном расстройстве. **Цель исследования** – разработка принципов реабилитации у пациентов, перенесших первый психотический эпизод при шизофрении и шизоаффективном расстройстве, на основе оценки их социального функционирования, адаптации, самостигматизации и социально-психологических факторов. **Материал.** 134 пациента с установленным диагнозом шизофрении и шизоаффективного расстройства, соответствующие критериям первого психотического эпизода. **Методы.** клинико-психопатологический, психометрический (PSP, PANSS, «Опросник по самостигматизации») и статистический. Обнаружены статистически значимые различия показателя самостигматизации при разных особенностях воспитания в семье, наследственной отягощенности, семейного положения, образования, а также компенсаторно-приспособительных защитах.

Ключевые слова: шизофрения, самостигматизация, первый психотический эпизод, социальное функционирование, адаптация.

SOCIAL FUNCTIONING AND ADAPTATION PATIENTS WITH THE FIRST PSYCHOTIC EPISODE. INSIDE STIGMA AND SOCIO-PSYCHOLOGICAL FACTORS

K.F. Vasilchenko

Omsk State Medical University, Omsk, Russia

Abstract

In the article results of the investigation of the internalized stigma and social functioning among patients with schizophrenia and schizoaffective disorder are shown. Aim of the study is the development of rehabilitation for early episode patients with schizophrenia and schizoaffective disorder, based on the estimation of their social functioning, adaptation, internalized stigma, social and psychologic factors. Methods. Sample – 134 patients with early episode of schizophrenia or schizoaffective disorder. Clinical and psychopathological, psychometric (PANSS, PSP, «Internalized stigma test» and statistical methods are used. The significant difference of the internalized stigma depending on the upbringing type, psychopathologic train, marriage, education and compensational protection types are found.

Keywords: schizophrenia, internalized stigma, early episode, social functioning, adaptation.

Введение. Социальное функционирование и адаптация пациентов с психическими расстройствами в последние годы представляют большой интерес для исследований в силу установившейся в современной психиатрической науке биопсихосоциальной модели [1, 2]. Адаптация во многом зависит не только от внутренних резервов пациента, но и от его социального окружения, в первую очередь от самого близкого – его родных. В обществе по-прежнему существуют нелицеприятные стереотипы о людях с психическими расстройствами [3]. Когда пациент впервые оказывается в стенах психиатрического стационара, известные ему предубеждения обращаются против него самого, формируя такой феномен, как «самостигматизация» или «внутренняя стигма» [4]. В свою очередь, это может приводить к

депрессивным реакциям на наличие психического расстройства либо снижению комплайенса [5, 6]. Именно на ранних этапах заболевания проводимое фармакологическое лечение и реабилитационные мероприятия имеют наилучший ответ в силу сохранения пластичности психопатологических процессов [7].

Цель исследования – разработка принципов реабилитации у пациентов, перенесших первый психотический эпизод при шизофрении и шизоаффективном расстройстве, на основе оценки их социального функционирования, адаптации, самостигматизации и социально-психологических факторов.

Материал и методы. В исследовании приняли участие 134 пациента с установленным диагнозом шизофрении (F20.096, F20.016) и шизоаффективного расстройства (F25), госпитализированных в отделение первого психотического эпизода (БУЗ Омской области «КПБ им. Н.Н. Солодников») в период с 2015 по 2017 г. Критериями включения были следующие условия: установленный, согласно МКБ-10, диагноз параноидной шизофрении или шизоаффективного расстройства, длительность заболевания не более 5 лет, количество госпитализаций в анамнезе – не более трех, а также наличие переживаний внутренней стигмы. Не соответствующие данным критериям пациенты не были включены в исследование. Всеми пациентами подписано добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

По гендерному признаку выборка была разделена следующим образом: 45,5 % (n=61) мужчин и 54,5 % (n=73) женщин. Медиана возраста в группе мужчин составила 24 (22; 29,5) года, в группе женщин – 30 (26; 38) лет.

Пациенты с установленным диагнозом параноидной шизофрении заняли наибольший объем в выборке: для группы с периодом наблюдения менее года (F20.096) объемная доля составила 40,3 % (n=54), для пациентов со второй и третьей госпитализацией (F20.016) – 41 % (n=55). Оставшиеся 18,7 % (n=25) представлены группой больных шизоаффективным расстройством (F25).

Основные методы нашего исследования представлены клинико-психопатологическим, психометрическим и статистическим. Для объективизации и количественной оценки психического состояния пациентов нами использована «Шкала позитивных и негативных синдромов» PANSS (Positive and Negative Syndrom Scale). Оценка социального функционирования проводилась с помощью «Шкалы личного и социального функционирования» PSP (Personal and Social Performance). Изучение выраженности внутренней стигмы, а также ее типологических особенностей проводилось нами посредством «Опросника по самостигматизации» [8]. Основным инструментом исследования явилась разработанная нами «Базисная карта пациента с первым психотическим эпизодом при шизофрении (изучение самостигматизации)».

Согласно методике Г.В. Логвинович и А.В. Семке [9], нами определены типы адаптации, а также компенсаторно-приспособительные реакции пациентов.

Статистическая обработка данных проводилась в пакете ПО SPSS Statistics 23. Значимость различий в независимых выборках с распределением показателей, отличных от нормального, определялась с помощью непараметрических методов и вычислением медианы и квартилей (Me [Q1; Q3]). Анализ распределения частот категориальных переменных проводился с помощью критерия хи-квадрат и точного критерия Фишера.

Результаты и обсуждение. В проведенном исследовании нами изучено взаимовлияние социального функционирования, согласно шкале PSP, а также клинических и социальных уровней адаптации [9] с использованием корреляционного анализа Кендала. Обнаружена положительная корреляционная связь между показателями социального функционирования и клиническим уровнем адаптации ($Tau=0,661$; $p<0,001$). Кроме того, положительная корреляционная взаимосвязь обнаружена между социальными уровнями адаптации и количеством баллов по шкале PSP ($Tau=0,653$; $p<0,001$). Полученный результат свидетельствует о значимой взаимосвязи клинических проявлений болезни и адаптационных возможностей пациента.

Так, по типу компенсаторно-приспособительной защиты пациенты распределились следующим образом: пациенты с «гиперперчивой защитной капсулой», а также «экологической нишей» и «укрытием под опекой» заняли равный объем в выборке (30,6 %, n=41), доля пациентов с типом компенсаторно-приспособительной защиты «социальная оппозиция» составила 8,2 % (n=11).

В изучаемой выборке больных также исследованы четыре типа адаптации: интегративный, деструктивный, интравертный и экстравертный. Первый тип, интравертный, занимал наибольший объем 83,6 % (n=112). На экстравертный и интравертный типы пришлось рав-

ное количество пациентов – по 4,5 % ($n=6$). Примечательно, что доля деструктивного типа адаптации оказалась 7,5 % ($n=10$).

Кроме того, обнаружена статистически значимая разница показателя самостигматизации в группах пациентов с разными типами адаптации ($p=0,001$). Однако сравнение той же переменной между когортами больных, сформированных по типу компенсаторно-приспособительной защиты, не обнаружило статистически значимых отличий ($p=0,294$). Вместе с тем точный критерий Фишера показал наличие статистически значимых различий между типами адаптации в зависимости от типа компенсаторно-приспособительной защиты ($p=0,012$). Такие результаты позволяют говорить о вероятной косвенной связи внутренней стигмы и компенсаторно-приспособительной защиты.

В дальнейшем нами изучены особенности показателей самостигматизации в группах пациентов, разделенных по полученному образованию. Так, в число наименее стигматизированных вошли пациенты с окончанным высшим образованием (38,8 %, $n=52$), где медиана стигмы составила 33,5 (23,25; 92) балла. Наибольшее значение общего балла самостигматизации представлено в группе лиц с неоконченным высшим образованием (10,4 %, $n=14$), что составило 80 (43,75; 122,5) баллов, а также прошедшие постдипломную подготовку в аспирантуре, магистратуре или в бакалавриате (4,5 %, $n=6$). Значение их внутренней стигмы составило 76 (69,25; 96,5) баллов. При этом различия в данных группах обнаружили свою статистическую значимость ($p=0,023$).

Последующий анализ показал отсутствие статистически значимых различий показателя внутренней стигмы в группах с различным родом занятий: работник физического труда, умственного труда, либо имеющих инвалидность. Однако при оценке стигмы с учетом параметра «семейное положение» были выявлены статистически значимые различия в группах. Так, наибольшая выраженность самостигматизации (71 (36; 98) балл) была выявлена среди пациентов, не состоящих в браке и не имеющих семейных отношений на момент обследования. Менее выраженная стигма (29 (20,5; 41) баллов) была выявлена среди тех, кто сожительствовал с партнером.

Между группами больных, выросших с отцом/без него/с отчимом, статистически значимые различия обнаружены не были. Выявлена значимая роль матери либо мачехи в выраженности стигмы. Так, наибольшее значение самостигматизации (59 [31; 100,25] баллов) определено среди тех больных, кто воспитывался в полной семье, с матерью.

Особенности воспитания в семьях пациентов также, вероятно, влияют на выраженность самостигматизации. Нами установлено различие значений общего балла стигмы в группах пациентов из семей с разными особенностями воспитания ($p=0,042$). В семьях, где имели место частые семейные скандалы родителей, алкоголизация, воспитание в условиях повышенной моральной ответственности, количественный показатель самостигматизации составил наибольшее значение – 82,5 (38,25; 105) баллов.

Психопатологически отягощенная наследственность также находит свое отражение в уровне самостигматизации. Установлено, что наибольшее значение стигмы имеет место среди пациентов, наследственный анамнез которых отягощен алкоголизмом со стороны отца (82,5 (71; 133) балла) и психопатоподобным поведением со стороны матери (147,5 (78,5; 157,75) баллов).

Выводы. Результаты нашего исследования подтверждают многофакторную природу самостигматизации. Установлена значимая роль социально-психологических факторов в проявлении внутренней стигмы. Вероятно опосредованное влияние стигмы на тип компенсаторно-приспособительной защиты и социальное функционирование пациентов с первым психотическим эпизодом при шизофрении и шизоаффективным расстройством. Для уточнения результатов необходимо дальнейшее изучение внутренней стигмы, социального функционирования, адаптации и социально-психологических факторов. Полученные данные позволяют разработать дифференцированные программы реабилитации для данной когорты пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутма Б.Г., Коцюбинский А.П., Слѣзин В.Б. Биопсихосоциальная модель как концептуальная основа дифференциальной диагностики шизотипических расстройств и прогрессивных форм шизофрении. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2012. 6(75): 12–16.
2. Коцюбинский А.П., Еричев А.Н., Клайман В.О., Шмонина О.Д. Биопсихосоциальная модель шизофрении и ранние неадаптивные схемы часть 1. Уязвимость-диатез-стресс. Обзор психиатрии и медицинской психологии имени В.М. Бехтерева. 2016; 2: 3–7.
3. Ениколопов С.Н. Стигматизация и проблема психического здоровья. Медицинская (клиническая) психология: традиции и перспективы (К 85-летию Юрия Федоровича Полякова). 2013; 109–121.

4. Link B.G., Struening E.L., Rahav M. On stigma and its consequences: evidence from a longitudinal study of men with dual diagnosis mental illness and substance abuse. *Journal of Health and Social Behaviour*. 1997; 38: 177–190.

5. Семке А.В., Микелев Ф.Ф., Корнетова Е.Г. Клиникосоциальные характеристики пациентов, страдающих расстройствами шизофренического спектра с ипохондрической симптоматикой. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2013; 5(80): 40–44.

6. Лутова Н.Б., Сорокин М.Ю., Вид В.Д. Психиатрическая стигма – ее проявления и последствия. *Обзор психиатрии и медицинской психологии имени В.М. Бехтерева*. 2017; 3: 4–145.

7. Гурович И.Я., Шмуклер А.Б., Сторожакова Я.А. Психосоциальная терапия и психосоциальная реабилитация психически больных. *Российский психиатрический журнал*. 2006; 2: 61–64.

8. Ястребов В.С., Михайлова И.И. Самостигматизация больных при основных психических заболеваниях. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2005; 105(11): 50–54.

Логвинович Г.В., Семке А.В. Первичные и вторичные нарушения адаптации при шизофрении. Томск, 1995. 216.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ СОЦИАЛЬНОЙ ДЕПРИВАЦИИ НА ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕТЕЙ, ПРОХОДЯЩИХ ЛЕЧЕНИЕ В ПРОТИВОТУБЕРКУЛЁЗНОМ СТАЦИОНАРЕ

В.С. Выходков

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия

Аннотация

В статье обосновывается потребность в знаниях о влиянии социальной депривации на детей, проходящих курс лечения от туберкулеза. Кратко сделан обзор имеющейся литературы по этой теме. Описано разрабатываемое исследование влияния социальной депривации на психологические характеристики детей, проходящих лечение в противотуберкулезной больнице. Рассмотрено планируемое практическое применение его результатов.

Ключевые слова: туберкулез, дети, социальная депривация.

PROSPECTS OF THE STUDY THE IMPACT OF SOCIAL DEPRIVATION ON THE PSYCHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CHILDREN UNDERGOING TREATMENT IN AN ANTI-TUBERCULOSIS HOSPITAL

V.S. Vyskochkov

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Siberian State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk, Russia

Abstract

The article substantiates the analysis of the need for knowledge about the impact of social deprivation on children undergoing treatment for tuberculosis. The review of available literature on the topic is briefly described. The developed study of the impact of social deprivation on the psychological characteristics of children undergoing treatment in an anti-tuberculosis hospital is described. The practical application of its results is considered.

Keywords: Tuberculosis, children, social derivation.

Туберкулез является одной из 10 ведущих причин смерти в мире. В 2016 году туберкулезом заболели 10,4 миллиона человек, из них 1 миллион детей. 250 000 детей умерли от него. В глобальных масштабах заболеваемость туберкулезом снижается примерно на 2 % в год, однако его распространённость все еще высока. За год человек, больной туберкулезом, может инфицировать до 10–15 других людей, с которыми он имеет тесные контакты. Если рассматривать ситуацию среди детей и подростков, можно с уверенностью заключить, что

дети и подростки имеют очень тесные контакты как минимум в школах. Без надлежащего лечения в среднем 45 % ВИЧ-негативных людей с туберкулезом и почти все ВИЧ-позитивные люди с туберкулезом умрут. Как это ни печально, ВИЧ-позитивные пациенты встречаются также и среди детей и подростков. Исходя из вышесказанного, критически важным является грамотное лечение детей и подростков от туберкулеза [1].

Туберкулез у ребенка требует длительного стационарного лечения, отрыва от семьи и привычного окружения. Это важно для предотвращения инфицирования МБТ здоровых детей и для полноценного излечения ребенка. Однако госпитализация для несовершеннолетнего пациента является социальной депривацией, определяемой как принудительная изоляция, когда общество обособляет людей вне зависимости от их желания, а нередко и вопреки ему. Количество социальных контактов ребенка снижается до группы детей, проходящих лечение вместе с ним, и медицинского персонала [2].

Стоит учитывать также и особенности детей, находящихся на лечении. Как правило, они растут в социально неблагополучных семьях с выраженными девиациями у матерей в период беременности, что должно учитываться при оказании помощи [3]. Нередко у таких детей впоследствии возникает делинквентное поведение. В свою очередь, делинквентное поведение ребенка отражается на персонале, ускоряя его эмоциональное выгорание. И в этом заключается одна из особенностей социальной депривации детей, находящихся на лечении в противотуберкулезных больницах: социальная среда не только неизменна, но и неблагоприятна для развития ребенка. Очевидно, что последствия социальной депривации не являются позитивными для ребенка, поэтому можно утверждать о необходимости в практической деятельности медицинского психолога знаний о влиянии социальной депривации на детей во время лечения в противотуберкулезном стационаре.

Однако тема социальной депривации недостаточно изучена даже в психолого-педагогической литературе. Распространенное ранее мнение о необратимости последствий депривации в детском возрасте в настоящее время подвергается сомнению [2]. Были изучены личностные характеристики детей и подростков, больных туберкулезом органов дыхания, при наличии и отсутствии контакта с источником инфекции. В данной работе рассматривается сравнения групп здоровых детей, а также групп больных с контактом и без него [4]. Также изучены психологические характеристики переживания отчуждения у детей, больных туберкулезом, однако исследование основано на сравнении групп здоровых детей и больных туберкулезом, заранее обладающих разными психологическими характеристиками [5]. Имеется ряд работ, направленных на изучение особенностей реабилитации детей, больных туберкулезом, в которых даны рекомендации относительно необходимости проведения работы с психологом, но без должной конкретики [6]. Таким образом, можно говорить об изучении психологических предикторов туберкулеза, а также о способах работы с детьми после длительного лечения.

Было проведено исследование психологического нарушения у детей, находившихся на длительном лечении в противотуберкулезном стационаре как проявление социальной депривации. Однако в данном исследовании можно выделить несколько существенных особенностей: исследование проводилось с помощью сравнения групп здоровых и больных детей, имеющих, как отмечалось ранее, заранее разные психологические характеристики. Кроме этого, исследование не является лонгитюдным. Исходя из этого, достаточно трудно утверждать, что в исследовании показаны именно особенности влияния депривации, а не просто констатация факта разницы групп здоровых и больных детей. Стоит также отметить неоспоримую практическую значимость данной работы в виде выданных рекомендаций по работе с детьми в условиях стационара [2].

Таким образом, проведенный теоретический анализ показал необходимость дальнейших исследований влияния социальной депривации на детей во время лечения в противотуберкулезном стационаре. На данный момент нами разрабатывается лонгитюдное исследование, целью которого является выявить изменения в психологических особенностях детей, длительно находящихся на лечении в противотуберкулезном диспансере. Мы предполагаем, что длительная социальная депривация негативно влияет на психологические особенности детей (увеличение тревожности, снижение когнитивных способностей, снижение параметров жизнестойкости и усиления симптомов депрессии). Сейчас нами проводится подбор соответствующего методического инструментария для проведения исследования. Мы предполагаем, что полученные данные можно будет использовать для выстраивания обоснованных программ психологического сопровождения детей, проходящих лечение от туберкулеза, с учетом профилактики негативных последствий длительной социальной депривации.

В заключение отметим, что туберкулез все еще остается существенной проблемой в мире и в России в частности. Детский возраст является критически важным для развития личности, однако дети, проходящие лечение от туберкулеза, длительно изолируются от социума, что имеет негативные последствия для их развития. Исходя из этого, нами разрабатывается исследование, направленное на изучение влияния длительной социальной депривации на психологические особенности детей. Полученные нами данные лягут в основу разработки программ психологического сопровождения детей, проходящих лечение от туберкулеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. ВОЗ. Туберкулез. Информационный Бюллетень октябрь 2017 [Интернет-ресурс]. Всемирная организация здравоохранения [дата обращения: 11.02.2018]. Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/ru>.
2. Мордык А.В., Панина Е.В., Кондря А.В., Турица А.А., Руднева Ю.В. Психологические нарушения у детей, находившихся на длительном лечении в противотуберкулезном стационаре. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2015; 4: 116–121.
3. Морева С.А., Силаева А.В., Корнетов А.Н., Бородин Е.Н., Янковская А.Е., Прядухина Н.И., Головаха Н.Э., Обуховская В.Б. Психологические механизмы формирования девиаций в период подготовки к материнству. Бюллетень сибирской медицины. 2015; 14(1): 126–133. doi: 10.20538/1682-0363-2015-1-126-134.
4. Золотова Н.В., Ахтямова А.А., Стрельцов В.В., Баранова Г.В., Овсянкина Е.С., Юхименко Н.В. Личностные характеристики детей и подростков, больных туберкулезом органов дыхания, при наличии и отсутствии контакта с источником инфекции. Туберкулез и болезни легких. 2017; 95(3): 41–47. doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-3-41-47.
5. Александрова Е.В., Капустина Т.В., Кадыров Р.В., Люкина Д.С. Психологические характеристики переживания отчуждения у детей, больных туберкулезом. Экология человека. 2017; 11: 47–50.
6. Александрова Е.Н. Реабилитация детей и подростков, состоящих в группах диспансерного наблюдения по туберкулезу. Стратегии и тренды развития науки в современных условиях. 2017; 1(3): 41–43.

РОЛЬ ГЕНОВ КИНАЗНЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В ПАТОГЕНЕЗЕ ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ И ОТВЕТЕ НА АНТИДЕПРЕССИВНУЮ ТЕРАПИЮ

Н.М. Вялова

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Проведенное исследование выявило ассоциацию полиморфных вариантов rs10430590 и rs10828317 гена *PIP5K2A* и полиморфного варианта rs1743939 гена *SGK1* с депрессивными расстройствами. Носительство генотипа A/A полиморфного варианта rs1057293 гена *SGK1* является предрасполагающим к терапевтическому ответу в течение первых 2 нед антидепрессивного лечения, а с относительно отставленным (на 28-й день) ответом на антидепрессивную терапию ассоциированы полиморфные варианты rs1743939 (оценка по шкале Гамильтона) и rs1743964 (оценка по шкале CGI-I) гена *SGK1*.

Ключевые слова: депрессивные расстройства, фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназа тип 2 альфа, сыворотко- и глюкокортикоид-индуцируемая киназа 1, полиморфизм генов, ответ на антидепрессивную терапию.

ROLE OF GENES OF KINASE SIGNALING PATHWAYS IN THE PATHOGENESIS OF DEPRESSIVE DISORDERS AND RESPONSE TO ANTIDEPRESSANT THERAPY

N.M. Vyalova

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The study revealed the association of the polymorphic variants rs10430590 and rs10828317 of the *PIP5K2A* gene and the polymorphic variant rs1743939 of the *SGK1* gene with depressive disorders. The carrier of the A/A genotype of the polymorphic variant rs1057293 of the *SGK1* gene is predisposing to the therapeutic response during the first 2 weeks of antidepressant treatment, and the polymorphic variants rs1743939 (score

on the Hamilton scale) and rs1743964 are associated with a relatively delayed (on the 28th day) response to antidepressant therapy (CGI-I score) of the *SGK1* gene.

Keywords: depressive disorders, phosphatidylinositol-4-phosphate-5-kinase type 2 alpha, serum and glucocorticoid-inducible kinase 1, gene polymorphism, response to antidepressant therapy.

Введение. В последние годы активно изучается роль протеинкиназных сигнальных путей с участием фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназы тип 2 альфа (*PIP5K2A*), сыворотко- и глюкокортикоид-индуцируемой киназы 1 (*SGK1*) в патогенезе депрессивных и биполярных аффективных расстройств, обусловленной их значимой ролью в функционировании нервной ткани в норме и при патологии мозга [1, 2]. У больных с депрессивными расстройствами при проведении антидепрессивной фармакотерапии важным аспектом является прогноз эффективности терапии в связи с тем, что выраженный антидепрессивный эффект наступает к 3–4 неделе применения [3]. Развитие терапевтической резистентности существенно увеличивает длительность госпитализации и стоимость лечения, влияет на качество жизни пациентов. Знание генетического профиля пациента, носительство им определенного генотипа исследуемых генов, ассоциированного с более ранним или поздним ответом на получаемую терапию, может являться основой для разработки методов, позволяющих индивидуализированно подойти к выбору лекарственного средства и режима его дозирования, а в некоторых случаях и к тактике ведения пациентов, что и лежит в основе персонализированной медицины [4].

Целью нашего исследования стало изучение ассоциации полиморфных вариантов генов *PIP5K2A* и *SGK1* с депрессивными расстройствами и ответом на антидепрессивную терапию.

Материал и методы. Обследовано 306 пациентов с текущей депрессией (в рамках единственного депрессивного эпизода или рекуррентного депрессивного расстройства (F32 и F33 по МКБ-10)) в возрасте от 20 до 60 лет, проходивших курс лечения в отделении аффективных состояний клиник НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. Формирование групп, клиническая верификация диагноза выполнены на базе отделения аффективных состояний НИИ психического здоровья (руководитель отделения – д.м.н., профессор Е.Д. Счастный). В качестве контрольной группы обследованы 230 психически и соматически здоровых лиц, соответствующих по полу и возрасту обследуемой группе больных.

Ответ на антидепрессивную терапию оценивался по шкале HDRS-17 (терапевтическим ответом считалось уменьшение балла более чем на 50 % по сравнению с началом терапии), а также по шкале CGI-I (терапевтическим ответом считали 2 балла и менее). Оценку по шкале HDRS-17 производили на 0, 14-й и 28-й дни терапии, по шкале CGI-I на 14-й и 28-й дни терапии.

У обследованных лиц для генетических исследований забиралась кровь из локтевой вены с последующим выделением геномной ДНК с использованием фенол-хлороформенного микрометода. Генотипирование полиморфных вариантов rs1417374, rs946961, rs1132816, rs11013052, rs943190, rs10828317, rs10430590, rs746203, rs8341 гена *PIP5K2A* и полиморфных вариантов rs1057293, rs9373085, rs1743964, rs1743966, rs1743939, rs1743940 гена *SGK1* проводили методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, США) с использованием наборов TaqMan1 Validated SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, США).

Статистическая обработка результатов произведена с помощью программы SPSS, версия 20,0. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверено на соответствие равновесию Харди – Вайнберга с помощью критерия хи-квадрат. Для оценки связи качественных признаков с исследуемыми генетическими маркерами использован критерий хи-квадрата Пирсона с поправкой Йейтса на непрерывность при числе степеней свободы, равном 1. Сравнение частот генотипов и аллелей в исследуемых группах проводили по критерию хи-квадрат. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Об ассоциации разных генотипов с развитием заболевания судили по величине отношения шансов (OR).

Результаты. В ходе исследования не было обнаружено отклонения частот генотипов генов *PIP5K2A* и *SGK1* от равновесия Харди – Вайнберга ($p > 0,05$). Исследование показало, что частота *T* аллеля полиморфного варианта rs10430590 гена *PIP5K2A* в выборке больных депрессивными расстройствами в 1,5 раза выше, чем в группе здоровых доноров (ОШ=1,58, 96 % ДИ=1,062,36, $p=0,03$). Генотипы *A/T* и *T/T* по полиморфизму rs10430590 гена *PIP5K2A* в выборке больных депрессивными расстройствами встречаются статистически значимо

чаще, чем в группе здоровых индивидов (ОШ=1,65, 95 % ДИ=0,962,85, $p=0,04$). Также нами показано, что частота аллеля *T* по полиморфизму rs10828317 гена *PIP5K2A* в выборке больных депрессивными расстройствами в 1,5 раза ниже, чем в группе психически здоровых индивидов (ОШ=1,42, 95 % ДИ=1,041,93, $p=0,03$). Статистически значимых различий по полиморфным вариантам rs1417374, rs946961, rs1132816, rs11013052, rs943190, rs746203, rs8341 гена *PIP5K2A* выявлено не было.

Выявлена ассоциация полиморфного варианта rs1743939 гена *SGK1* с депрессивными расстройствами: частота встречаемости генотипа *C/C* у больных депрессивными расстройствами статистически значимо ниже, чем в группе здоровых лиц (1,0 % и 4,7 % соответственно) (ОШ=0,20, 95 % ДИ=0,041,02, $p=0,003$). Статистически значимых различий по остальным SNP гена *SGK1* выявлено не было ($p>0,05$).

С целью исследования ассоциации полиморфных вариантов генов *PIP5K2A* и *SGK1* с ответом на антидепрессивную терапию проведено изучение распределения генотипов SNP исследуемых генов в группах пациентов, отвечающих (респондеры) и не отвечающих на терапию (нон-респондеры). В процессе получаемой фармакотерапии наблюдалось статистически значимое снижение балла по шкалам HDRS-17 и CGI-I, что соответствовало улучшению клинического состояния пациента ($p<0,01$).

Оценка ответа на терапию по шкале Гамильтона выявила статистически значимые различия в частотах встречаемости генотипов SNP rs1057293 гена *SGK1* в сравниваемых группах на 14-й день терапии. Аллель *A* и генотип *A/A* чаще встречались в группе респондеров (17,0 % и 6,8 % соответственно) по сравнению с группой нон-респондеров (9,0 % и 2,8 % соответственно) ($p=0,01$). Также достоверные отличия выявлены и для rs1743939 гена *SGK1* на 28-й день терапии: аллель *T* чаще встречался у респондеров (91,8 %) по сравнению с группой нон-респондеров (50,0 %) (OR=0,29, 95 % CI=0,120,71) ($p=0,0001$). Генотип *T/T* также достоверно чаще встречался в группе респондеров (84,4 %) по сравнению с группой нон-респондеров (20,0 %) ($p=0,0001$). Статистически значимых различий по остальным SNP гена *SGK1* выявлено не было ($p>0,05$).

Оценка ответа на терапию по шкале CGI-I на 14-й и 28-й дни терапии и исследование ее зависимости от генотипов и аллелей SNP генов *PIP5K2A* и *SGK1* в группах респондеров и нон-респондеров показали статистически значимые различия для полиморфного варианта rs1743964 гена *SGK1*. Аллель *A* достоверно чаще встречался в группе респондеров (65,0 %), чем у нон-респондеров (46,4 %) ($p=0,05$). Генотип *A/A* в два раза чаще встречался в группе респондеров (40,9 %) по сравнению с группой нон-респондеров (21,4 %) ($p<0,05$).

Выводы. Полученные данные подтверждают нашу гипотезу об участии генов основных киназных систем (*PIP5K2A*, *SGK1*) в патогенезе депрессивных расстройств. Выявлены ассоциации полиморфных вариантов rs10430590 и rs10828317 гена *PIP5K2A* и полиморфного варианта rs1743939 гена *SGK1* с депрессивными расстройствами. Носительство генотипа *A/A* полиморфного варианта rs1057293 гена *SGK1* является предрасполагающим к терапевтическому ответу в течение первых двух недель антидепрессивного лечения. С относительно отставленным ответом (к 28-му дню) на антидепрессивную терапию ассоциированы полиморфные варианты rs1743939 (оценка по шкале Гамильтона) и rs1743964 (оценка по шкале CGI-I) гена *SGK1*.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 17-29-02205 «Разработка молекулярно-генетической панели депрессивных расстройств на основе полиморфизмов генов нейрональных киназ, нейротрофических белков и генов серотонинэргической системы»

ЛИТЕРАТУРА

1. Anacker C., Cattaneo A., Musaelyan K., Zunszain P.A., Horowitz M., Molteni R., Luoni A., Calabrese F., Tansey K., Gennarelli M., Thuret S., Price J., Uher R., Riva M.A., Pariante C.M. Role for the kinase SGK1 in stress, depression, and glucocorticoid effects on hippocampal neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013 May 21; 110(21): 8708–13. doi: 10.1073/pnas.1300886110.
2. Stopkova P., Saito T., Fann C.S., Papolos D.F., Veveva J., Paclt I., Zukov I., Stryjer R., Strous R.D., Lachman H.M. Polymorphism screening of PIP5K2A: a candidate gene for chromosome 10p-linked psychiatric disorders. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2003 Nov 15; 123B(1): 50–8. doi: 10.1002/ajmg.b.20012.
3. Losenkov I.S., Vyalyova N.M., Simutkin G.G., Bokhan N.A., Ivanova S.A. An association of AKT1 gene polymorphism with antidepressant treatment response. *The World Journal of Biological Psychiatry* 2016; 17(3): 239–242. doi: 10.3109/15622975.2015.1112921
4. Losenkov I.S., Vyalyova N.M., Simutkin G.G., Bokhan N.A., Ivanova S.A. Proteins of Akt1/GSK-3 β -signaling pathway in peripheral blood mononuclear cells of patients with affective disorders. *Neurochemical Journal* 2014; 8(3): 208–213. doi 10.1134/S1819712414030106.

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ У ЛИЦ С АДДИКТИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ В УСЛОВИЯХ ОЛЬФАКТОРНОЙ СТИМУЛЯЦИИ

С.А. Галкин

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Запись и оценка таких электрофизиологических параметров, как кожно-гальваническая реакция и вариабельность сердечного ритма в условиях ольфакторной стимуляции, позволяет выявить функциональные нарушения вегетативной нервной системы у лиц с аддитивными расстройствами. Показаны значимые различия в ответной реакции на одоранты среди группы условно здоровых лиц и пациентов с аддитивными расстройствами. Был сделан вывод о том, что данная методика способствует повышению достоверности диагностики аддикции и может служить для оценки эффективности терапии аддитивных расстройств.

Ключевые слова: кожно-гальваническая реакция, вариабельность сердечного ритма, ольфакторная стимуляция, аддитивные расстройства.

ELECTROPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PERSONS WITH ADDICTIVE DISORDERS IN OLFACATORY STIMULATION

S.A. Galkin

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Recording and evaluation of electrophysiological parameters such as skin-galvanic reaction and heart rate variability in olfactory stimulation allows to identify functional disorders of the autonomic nervous system in persons with addictive disorders. Significant differences in the response to odorants among the group of conditionally healthy individuals and patients with addictive disorders are shown. It was concluded that this technique improves the reliability of diagnosis of addiction and can serve to evaluate the effectiveness of treatment of addictive disorders.

Keywords: skin-galvanic reaction, heart rate variability, olfactory stimulation, addictive disorders.

Актуальность. Исследованиями, проведенными в лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии НИИ психического здоровья, установлено, что обонятельная система участвует в формировании аддитивных расстройств и возможно использование разных ольфакторных стимулов для диагностики аддикции [1]. Поскольку в настоящее время трудно выявить склонность к аддитивному поведению на ранних стадиях, оценка электрофизиологических параметров, отражающих баланс симпатической и парасимпатической активности в условиях ольфакторной стимуляции, может значительно упростить диагностику данных расстройств [2–4].

Цель – изучение электрофизиологических параметров ольфактации у лиц с аддитивными расстройствами, вызванными употреблением психоактивных веществ.

Материал и методы. Исследование проведено на базе отделения аддитивных состояний НИИ психического здоровья ТНИМЦ РАН. В основную группу вошли 34 пациента с психическими и поведенческими расстройствами, вызванными с употреблением психоактивных веществ (F10- F19 по МКБ-10). Средний возраст пациентов составил 26 ± 5 лет. Группу сравнения составили 23 условно здоровых человека из числа студентов Томских вузов, средний возраст которых 22 ± 2 года. Исследование проводилось на программно-аппаратном комплексе «БОСЛАБ Профессиональный» (ООО «Компьютерные системы биоуправления», г. Новоси-

бирск). В качестве электрофизиологических параметров регистрировались: вариабельность сердечного ритма (оценивалась частота сердечных сокращений (ЧСС) и соотношение маркеров симпатического/парасимпатического тонуса (LF/HF)) и кожно-гальваническая реакция (по методу Фере). В качестве одорантов использовались тимол и изопропанол [5].

Результаты. По данным кожно-гальванической реакции в условиях ольфакторной стимуляции было выявлено, что кожная проводимость (ПрК) у пациентов имеет тенденцию к снижению во время предъявления запаха тимола, тогда как предъявление того же тимола в группе условно здоровых лиц приводит к повышению ПрК. Кожная проводимость во время предъявления изопропанола в группе пациентов значительно снижается, тогда как в группе условно здоровых лиц этот одорант не вызывает каких-либо значимых изменений. Из соотношения LF/HF было получено, что в группе пациентов предъявление тимола и изопропанола приводит к снижению симпатического тонуса вегетативной нервной системы. В группе условно здоровых лиц данных изменений не наблюдалось.

Выводы. Обнаруженные в данном исследовании различия в ольфакторных электрофизиологических параметрах среди аддиктивных больных и условно здоровых лиц могут служить потенциальными маркерами аддиктивных расстройств. В связи с этим данная методика может стать основой для выявления лиц с психическими и поведенческими расстройствами, вызванными употреблением психоактивных веществ, а также служить критерием эффективности терапии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-313-00147.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бохан Н.А., Невидимова Т.И., Мастерова Е.И., Савочкина Д.Н. Цитокины, ноцицепция и патологическая ольфакция при формировании зависимости от психоактивных веществ. Томск: Изд-во «Иван Федоров», 2016. 134.
2. Анохин П.К. Принципиальные вопросы общей теории функциональных систем. Принципы системной организации функций. М.: Наука, 1973. 5–61.
3. Анохина И.П. Биологические механизмы предрасположенности к зависимости от психоактивных веществ. Вопросы наркологии. 2006; 1: 21–30.
4. Brewer W.J., Castle D., Pantelis C. Olfaction and the Brain. New York: Cambridge University Press, 2006.
5. Батухтина Е.И., Бас В.В., Невидимова Т.И. Физиологическая оценка склонности к аддиктивному поведению. Современные проблемы биологической психиатрии и наркологии: Материалы второй Всероссийской конференции с международным участием. Томск, 2008.

ПОИСК ФАКТОРОВ РИСКА АКАТИЗИИ У ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ

А.А. Гончарова

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Акатизия – нейропсихиатрический синдром, негативно влияющий на течение шизофрении. Развитие данного феномена неотъемлемо связано с приемом антипсихотической терапии. Наши цели состояли в исследовании распространенности акатизии, факторов риска у 198 пациентов, находящихся на стационарном лечении.

Ключевые слова: акатизия, шизофрения.

SEARCH ON THE RISK FACTORS OF AKATHISIA IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

A.A. Goncharova

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Akathisia is a neuropsychiatric syndrome with a negative effect on schizophrenia. The development of akathisia is associated with antipsychotic therapy. Our goals were to investigate prevalence, risk factors for the development of akathisia, in 198 patients treated in a hospital.

Keywords: akathisia, schizophrenia.

Актуальность. Частота встречаемости акатизии у пациентов с шизофренией, получающих антипсихотическую терапию, варьирует, по данным разных исследований, так, распространенность акатизии у лиц с шизофренией, связанной с приемом типичных антипсихотиков, составила 25 %, а получающих атипичный препарат – 18,5 % [1]. Акатизия может оказывать негативное влияние на течение шизофрении, провоцирует чувство тревоги и дискомфорта, дисфорические реакции у пациентов, увеличивается риск суицидального поведения [2], что в целом снижает приверженность к лечению и ухудшает прогноз. Результаты большинства исследований, в которых изучались факторы риска развития акатизии отличаются противоречивостью [3]. Следовательно, возможность прогнозирования возникновения акатизии представляет важный клинический интерес не только у пациентов, длительно получающих терапию [4], но и пациентов с первым эпизодом [5]. Влияние клинических или демографических факторов, предрасполагающих к развитию акатизии остаются неопределенными.

Цель: выявить частоту встречаемости акатизии у больных шизофренией, получающих лечение в стационаре, а также идентификация факторов риска, участвующих в развитии акатизии.

Методы исследования. Проведено обследование 198 пациентов с шизофренией, проходивших стационарное лечение на базе ОГБУЗ «Томская клиническая психиатрическая больница» и ОГБУЗ «Кемеровская клиническая психиатрическая больница», клиниках НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ. В исследование вошли лица от 18 до 65 лет с длительностью заболевания $14,2 \pm 11,3$ лет, состояние которых на момент осмотра соответствовало критериям рубрики F20 МКБ-10. При проведении исследования были соблюдены принципы информированного согласия Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации. Для регистрации симптомов акатизии использовалась шкала Барнса [6], с учетом последнего пункта пациенты были разделены на группы: с акатизией, без акатизии. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica for Windows (V. 10.0).

Полученные результаты. Частота встречаемости акатизии составила 36 %, в 56,5 % случаях пациенты получали галоперидол. Среди возможных установленных факторов, влияющих на частоту возникновения акатизии можно выделить следующие: наличие негативной симптоматики ($p=0,001$) и длительности заболевания более 5 лет ($p=0,003$), прием типичного антипсихотика ($p=0,007$).

Заключение. Полученные результаты не противоречат другим исследованиям о частоте встречаемости акатизии у больных шизофренией, получающих антипсихотическую терапию. Также, исходя из полученных результатов, можно предположить, что негативная симптоматика и длительность заболевания более 5 лет вносят существенный вклад в развитие акатизии, наряду с приемом типичных антипсихотиков в качестве базисной терапии. Полученные результаты необходимо сопоставлять с другими влияниями на риск развития акатизии, в частности, конституционально-биологическими и социально-демографическими, что при их определенном сочетании обуславливает тяжесть лекарственно-индуцированных двигательных нарушений. Понимание их взаимосвязей создает условия для разработки адекватных мер профилактики акатизии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Berna F, Misdrhi D., Boyer L., Aouizerate B., Brunel L., Capdevielle D., Chereau I., Danion JM., Dorey JM., Dubertret C., Dubreucq J., Faget C., Gabayet F., Lancon C., Mallet J., Rey R., Passerieux C., Schandrin A., Schurhoff F., Tronche AM., Urbach M., Vidailhet P., Llorca PM, Fond G.; FACE-SZ (FondaMental Academic Centers of Expertise for Schizophrenia) group; FACE-SZ FondaMental Academic Centers of Expertise for Schizophrenia group. Akathisia: prevalence and risk factors in a community-dwelling sample of patients with schizophrenia. Results from the FACE-SZ dataset. *Schizophr. Res.* 2015; 169(13): 255–61. doi: 10.1016/j.schres.2015.10.040.
2. Seemüller F, Lewitzka U., Bauer M., Meyer S., Musil R., Schennach R., Riedel M., Doucette S., Möller H.J. The relationship of Akathisia with treatment emergent suicidality among patients with first-episode schizophrenia treated with haloperidol or risperidone. *Pharmacopsychiatry*. 2012; 45(7): 292–6. doi: 10.1055/s-0032-1309004.
3. Juncal-Ruiz, Ramirez-Bonilla M., Gomez-Arnaiz J., Ortiz-Garcia de la Foz V., Suarez-Pinilla P., Martinez-Garcia O., Neergaard K.D., Tabares-Seisdedos R., Crespo-Facorro B. Incidence and risk factors of acute akathisia in 493 individuals with first episode non-

affective psychosis: a 6-week randomized study of antipsychotic treatment. *Psychopharmacology* (Berl). 2017; 234(17): 2563–2570. doi: 10.1007/s00213-017-4646-1

4. Микилев Ф.Ф., Корнетова Е.Г., Лобачева О.А., Корнетов А.Н., Семке А.В. Психометрическая оценка симптомов и клиническая динамика шизофрении в зависимости от конституционально-морфологического типа больных. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15(2): 58–64. doi: 10.20538/1682-0363-2016-2-58-64

5. Корнетова Е.Г., Семке А.В. К проблеме терапии первого психотического эпизода. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2009; (4): 1719.

6. Barnes T.R. A rating scale for drug-induced akathisia. *Br. J. Psychiatry* 1989; 154(5): 672–676. doi: 10.1192/bjp.154.5.672.

КОГНИТИВНО-СТИЛИСТИЧЕСКИЕ ПРЕДПОСЫЛКИ СУИЦИДАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ

А.А. Давыдов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия

Аннотация

В тезисах произведён краткий теоретический анализ понятий «суицидальное поведение», «когнитивный стиль» и рассмотрены дихотомии когнитивного стиля; на основании вышеуказанного теоретического анализа выдвинуты и проанализированы гипотезы возможных конкретных связей определённых когнитивно-стилистических особенностей и суицидального поведения.

Ключевые слова: суицид, суицидальное поведение, личностные особенности суицидента, когнитивные особенности суицидента, когнитивный стиль, дихотомии когнитивного стиля.

COGNITIVE-STYLISTIC PREREQUISITES OF SUICIDAL BEHAVIOR

A.A. Davydov

Siberian state medical University, Tomsk, Russia

Abstract

The abstract presents a brief theoretical analysis of the concepts of “suicidal behavior”, «cognitive style» and considers the dichotomies of cognitive style; on the basis of the above theoretical analysis, hypotheses of possible specific relationships of certain cognitive stylistic features and suicidal behavior are proposed and analyzed.

Keywords: suicide, suicidal behavior, personal characteristics of the suicidal, cognitive characteristics of the suicidal, cognitive style, dichotomy of cognitive style.

Суицид – это преднамеренный акт убийства самого себя [1]; некоторые авторы дополняют это определение формулировкой «самостоятельное и добровольное». Актуальность исследования суицида: ежегодно в мире фиксируется более 800 тысяч завершённых суицидов и более 3 миллионов суицидальных попыток [1]. Факторами повышенного риска самоубийства выступают: 1) попытки самоубийства в анамнезе; 2) психические расстройства; 3) пол; 4) возраст; 5) семейный анамнез; 6) состояние здоровья; 7) социальные катаклизмы и потеря социального статуса и ряд других факторов [2]. В современной биомедицинской науке активно развиваются междисциплинарные исследования суицидального поведения, в частности, с использованием методологии медицинской психологии, в которой, в свою очередь, широко применяется методология фундаментальной психологии и психологии личности. Актуальность применения подходов психологии личности обусловлена следующим фактом: лишь отдельно взятые субъекты совершают суицидальные попытки при прочих равных с остальными субъектами факторами риска и возможными причинами. Это позволяет предположить, что в качестве предпосылок к суицидальному поведению должен рассматриваться комплекс индивидуально-типологических особенностей субъекта. Одной из ключевых таких особенностей является стиль процесса поиска решения проблемы, т.е. когнитивный стиль.

Когнитивный стиль – интегральная система личности инструментального порядка, т.е. способы и средства для достижения целей (Г. Олпорт); гипотетический конструкт, отражающий познавательные стратегии (Дж. Кагана). Наиболее актуальным подходом к пониманию когнитивного стиля является классификация дихотомических переменных, среди которых наиболее обоснованными являются следующие: «полезависимость – полнезависимость»; «рефлексивность – импульсивность»; «ригидность – гибкость»; «высокая когнитивная сложность – низкая когнитивная сложность»; «широкий диапазон эквивалентности – узкий диапазон эквивалентности»; «абстрактность – конкретность» [3].

Учитывая особенности личности, исключая пациентов с психотическими расстройствами [4], при суицидальном поведении и особенности дихотомических переменных когнитивного стиля, можно выдвинуть ряд предположений (гипотез) о возможных когнитивно-стилистических предпосылках суицидального поведения. Следует отметить, что данные гипотезы выдвинуты на основе теоретического анализа и в настоящий момент не имеют эмпирически подтвержденных данных.

Дихотомия «полезависимость – полнезависимость»: связь с суицидальным поведением отсутствует, так как влияние контекста фрустрирующей ситуации в принятии решения совершить суицидальную попытку, вероятно, малозначимо.

Дихотомия «рефлексивность – импульсивность»: более «рефлексивный» субъект менее склонен к суицидальному поведению, чем «импульсивный», так как более широкий анализ решений и более медленное принятие окончательного решения позволяют субъекту найти и осознать ряд иных способов совладания с проблемной ситуацией (помимо суицидальной попытки).

Дихотомия «ригидность – гибкость»: более «ригидный» субъект более склонен к суицидальному поведению, чем «гибкий», так как переоценивает значимость и сложность фрустрирующей ситуации и находит суицидальное поведение единственным вариантом решения.

Дихотомия «высокая когнитивная сложность – низкая когнитивная сложность»: субъект, склонный к высокой когнитивной сложности решения проблемной ситуации, будет находить больше эмоционально нейтральных компонентов в проблеме и вследствие этого будет менее склонен к суицидальному поведению, чем субъект с низкой когнитивной сложностью решения.

Дихотомия «широкий диапазон эквивалентности – узкий диапазон эквивалентности»: диапазон эквивалентности не имеет связи с суицидальным поведением, так как, вероятно, в данном контексте не принципиально, рассматривает субъект большее число решений фрустрирующей ситуации, схожих по своему содержанию, или же меньшее число решений фрустрирующей ситуации, наиболее различное по содержанию.

Дихотомия «абстрактность – конкретность»: абстрактность и конкретность не имеют связи с самим фактом суицидального поведения, так как, вероятно, в данном контексте не принципиально, рассматривает субъект проблемную ситуацию в целом широко или в частности узко; однако данная дихотомия когнитивного стиля может влиять или быть связана с выбором способа суицида и потенциальной летальностью суицидального акта.

Таким образом, на основании теоретического анализа и формирования теоретических гипотез связи дихотомий когнитивного стиля и суицидального поведения можно сделать следующий вывод: с высокой долей вероятности, когнитивно-стилистическими предпосылками суицидального поведения являются импульсивность, ригидность, низкая когнитивная сложность.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Preventing suicide: a global imperative*. Geneva: World Health Organization, 2014. 92.
2. Шелехов И.Л., Кашианова Т.В., Корнетов А.Н., Толстолец Е.С. *Суицидология: учебное пособие*. Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2011. 203.
3. Корнилова Т.В., Парамей Г.В. Подходы к изучению когнитивных стилей: двадцать лет спустя. *Вопросы психологии*. 1989; (6): 140–7.
4. Корнетова Е.Г., Семке А.В. К проблеме терапии первого психотического эпизода *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2009; (4): 17–9.

ПРЕМОРБИДНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ, ПОНИЖАЮЩИЕ ПРИВЕРЖЕННОСТЬ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ТЕРАПИИ

Е.Г. Дмитриева

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Выявлен ряд преморбидных особенностей больных шизофренией, указывающих на низкую приверженность медикаментозной терапии: мужской пол; возраст старше 50 лет, наличие психических расстройств более чем у одного родственника; возбудимый склад личности; воспитание по типу «гипопротекции»; низкий уровень образования; низкий профессиональный статус; разведенные и вдовы, одинокое проживание; злоупотребление психоактивными веществами.

Ключевые слова: медикаментозный комплаенс, шизофрения, психофармакотерапия.

PREMORBID FEATURES OF PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA, REDUCING ADHERENCE TO DRUG THERAPY

E.G. Dmitrieva

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Premorbid features of patients with schizophrenia, reducing adherence to drug therapy have been revealed; they are: male sex; age over 50 years, the presence of mental disorders for more than one relative; aggressive personality features; upbringing with the low level of protection; low level of education; low professional status; marital status is divorced or widow; living alone; substance abuse.

Keywords: medication compliance, schizophrenia, psychopharmacotherapy.

Актуальность. Основной задачей при лечении и реабилитации больных с таким инвалидизирующим хроническим заболеванием, как шизофрения, является достижение длительных и стойких ремиссий, формирующихся во многом за счет высокой приверженности больных предписанной поддерживающей психофармакотерапии. В связи с этим существует необходимость выявления групп больных, имеющих склонность к низкой приверженности предписанному лечению уже при первой госпитализации в отсутствие катамнестических сведений [1, 2].

Материал и методы. В психиатрическом стационаре обследовано 120 больных с диагнозом Шизофрения согласно МКБ-10 [3]; возраст обследуемых от 18 лет, катамнестический период от 1 года. Были заполнены: «Шкала оценки медикаментозного комплаенса в психиатрии» [4], «Базисная карта стандартизованного описания пробанда и родственника» [5]. Затем проводился анализ уровня медикаментозного комплаенса с преморбидными особенностями пациентов с помощью статистической обработки результатов с использованием пакета статистических программ STATISTICA 8.0 с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни и метода Краскел – Уоллиса. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты. Статистически значимые отличия были выявлены в следующих группах. Половая принадлежность: у мужчин средний медикаментозный комплайнс составил $30,5 \pm 5,1$ балла и достоверно был ниже, чем у женщин – $34,3 \pm 7,6$ балла. Наследственная отягощенность: достоверно ниже средний балл медикаментозного комплайнса был в подгруппе имевших несколько близких родственников с психическим расстройством и составил $28 \pm 8,8$ балла; в подгруппе не имевших наследственной отягощенности – $30 \pm 6,0$ балла; в подгруппе

имевших одного близкого родственника с психическим расстройством – $30 \pm 8,1$ балла; в подгруппе имевших одного дальнего родственника с психическим расстройством – 33 ± 0 балла; в подгруппе имевших нескольких дальних родственников с психическим расстройством – $32 \pm 2,1$ балла. Преморбидный склад личности: достоверно ниже медикаментозный комплаенс был в подгруппе с возбудимым складом личности – $24 \pm 4,2$ балла; в подгруппе с шизоидным складом балл составил $34,5 \pm 4,6$; с паранойальным складом личности – $28 \pm 1,0$ балл; с эпилептоидным – $49 \pm 1,1$ балла; с истерическим – $30 \pm 3,8$ балла; с тревожно-мнительным – $33 \pm 8,6$ балла. Тип воспитания в родительской семье: достоверно ниже уровень медикаментозного комплаенса был в подгруппе воспитывавшихся по типу гипопротекции – $25,5 \pm 2,6$ балла; в подгруппе с доминирующей гиперпротекцией – $40 \pm 7,2$ балла; в подгруппе с потворствующей гиперпротекцией – $30 \pm 7,8$ балла; в подгруппе с воспитанием в культе болезни – $28 \pm 1,2$ балла; в подгруппе с воспитанием по типу эмоционального отвержения – $27 \pm 1,3$ балла; в подгруппе с воспитанием по типу повышенной моральной ответственности – $34,5 \pm 1,1$ балла; в подгруппе с противоречивым типом воспитания – $28 \pm 5,0$ баллов. Возрастная группа: достоверно ниже приверженность терапии была в возрастной подгруппе 50 лет и более, где средний балл медикаментозного комплаенса составил 23 ± 0 ; в остальных возрастных подгруппах распределилась следующим образом: в подгруппе 21–25 лет – $30 \pm 3,7$ балла, в подгруппе 26–29 лет – 31 ± 0 балл, в подгруппе 30–39 лет – $35 \pm 6,97$ балла, в подгруппе 40–49 лет – $29 \pm 8,3$ балла. Уровень образования: достоверно ниже, уровень приверженности терапии был в подгруппе с неполным средним и начальным образованием и составил 27 ± 11 баллов; в подгруппе с полным средним образованием – $32,5 \pm 6$ балла; в подгруппе со средним специальным и высшим образованием – $35,5 \pm 5,4$ балла. Профессиональная группа: достоверно ниже уровень медикаментозного комплаенса был в подгруппе неработающих и неучащихся и составил $20 \pm 0,5$ баллов; в подгруппе учащихся – $35 \pm 5,4$ балла; в подгруппе неквалифицированных рабочих – $35 \pm 7,2$ балла; в подгруппе высококвалифицированных рабочих – $30,5 \pm 4,2$ балла; в подгруппе работников интеллектуального труда – $26 \pm 3,1$ балла. Семейное положение: достоверно ниже уровень медикаментозного комплаенса был в подгруппе разведенных и составил $28 \pm 6,6$ баллов, в подгруппе не состоящих в браке составил $31 \pm 7,5$ балл; в подгруппе состоящих в браке средний балл составил $35,5 \pm 2,6$. Состав семьи: достоверно ниже уровень медикаментозного комплаенса был в подгруппе одиноких и составил $21,5 \pm 1,6$ балла; в подгруппе проживающих с родителями составил $34 \pm 5,5$ балла; у проживающих только с детьми – $28 \pm 1,2$ балла; у проживающих с супругами и другими родственниками – $35,5 \pm 2,6$ балла; в подгруппе проживающих с другими родственниками – $27 \pm 1,1$ балла. Наличие и вид неблагоприятных онтогенетических факторов: достоверно ниже уровень медикаментозного комплаенса был в подгруппе употреблявших психоактивные вещества – $20 \pm 1,3$ балла; в подгруппе с отсутствием данных факторов – $30 \pm 6,8$ балла; у имевших черепно-мозговую травму – $31 \pm 7,9$ балла; у перенесших нейроинфекцию – $34 \pm 1,1$ балла; у имевших хроническое соматическое заболевание – $32 \pm 4,2$ балла; у имевших другие неблагоприятные онтогенетические факторы – $31 \pm 7,5$ баллов.

Выводы. Принадлежность к мужскому полу; наличие психических расстройств более чем у одного родственника; возбудимый склад личности в преморбидном периоде; воспитание в родительской семье по типу «гипопротекции»; низкий уровень образования; низкий профессиональный статус; разведенные или вдовы; одинокое проживание; злоупотребление психоактивными веществами; возраст старше 50 лет указывают на более низкий медикаментозный комплаенс больных шизофренией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Корнетова Е.Г., Семке А.В. К проблеме терапии первого психотического эпизода. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2009; 4: 17–19.
2. Микилев Ф.Ф., Корнетова Е.Г., Лобачева О.А., Корнетов А.Н., Семке А.В. Психометрическая оценка симптомов и клиническая динамика шизофрении в зависимости от конституционально-морфологического типа больных. Бюллетень сибирской медицины. 2016; 15(2): 58–64.
3. Чуркин А.А., Мартюшов А.Н. Краткое руководство по использованию МКБ-10 в психиатрии и наркологии. М.: Изд-во Триад-Х, 1999. 232.
4. Лутова Н.Б., Борцов А.В., Вукс А.А., Вид В.Д. Метод прогнозирования медикаментозного комплаенса в психиатрии. Санкт-Петербургский научно-исследовательский психоневрологический институт им. В.М. Бехтерева, 2007. 24.
5. Рицнер М.С., Логвинович Г.В., Красик Е.Д., Корнетов Н.А. Указания и глоссарий по заполнению «Базисной карты стандартизованного описания пробанда и родственника». Томск, 1985. 80.

РАЗЛИЧИЯ В ПРОТЕОМЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

Е.М. Дмитриева¹, А.А. Серегин¹, А.А. Летова², В.В. Дубровская¹

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия²

Аннотация

В статье представлены предварительные результаты сравнительного протеомного анализа белков сыворотки крови у пациентов с шизофренией и здоровых доноров. В результате масс-спектрометрического анализа выявлены три белка, которые обнаруживаются только у пациентов с шизофренией: тирозин-протеинкиназа (EC 2.7.10.2) – 128263 Да, ядерный клеточно-специфичный эпителиальный гаплоидный белок 1 – 25933 Да, альфа-актин-3 – 41850 Да. Обнаруженные белки могут стать потенциальными патогенетическими маркерами шизофрении.

Ключевые слова: шизофрения, маркеры шизофрении, протеомный анализ белков.

DIFFERENCES IN THE PROTEOME OF SERUM IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA AND HEALTHY INDIVIDUALS

Е.М. Dmitrieva¹, А.А. Seregin¹, А.А. Letova², V.V. Dubrovskaja¹

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

Abstract

The article presents the preliminary results of a comparative proteomic analysis of serum proteins in patients with schizophrenia and healthy donors. As a result of mass spectrometry analysis three proteins are revealed, which are found only in patients with schizophrenia: tyrosine-protein kinase (EC 2.7.10.2) – 128263 Da, haploid germ cell-specific nuclear protein 1 – 25933 Da, alpha-actin-3 – 41850 Da. The detected proteins may be potential biomarkers of schizophrenia.

Keywords: schizophrenia, markers of schizophrenia, proteomic analysis of proteins.

Распространенность шизофрении составляет 1 % от популяции, это социально значимое заболевание является одной из частых причин инвалидизации больных в молодом возрасте.

Методы протеомного анализа представляют собой мощный инструмент для выявления и количественного определения не только белков, но и их посттрансляционных модификаций, что широко используется в исследованиях нейродегенеративных и психических расстройств [1]. С помощью протеомных подходов при шизофрении было обнаружено большое количество белков, связанных с нарушением регуляции различных метаболических путей, энергетического обмена, митохондриальной дисфункцией, процессов миелинизации олигодендроцитов [2, 3]. Выявление биологических маркеров шизофрении, кроме решения фундаментальных проблем, позволит в перспективе способствовать появлению новых методов параклинической диагностики и, возможно, выявлению патогенетических мишеней для новых лекарственных препаратов [1].

Целью работы является проведение сравнительного протеомного анализа белков сыворотки крови больных шизофренией и здоровых лиц.

Материал и методы. В работе проанализирован белковый спектр сыворотки крови 35 человек. 22 человека находились на лечении в отделении эндогенных расстройств НИИ психического здоровья г. Томска. Из них 15 человек имели диагноз параноидная шизоф-

рения, 7 – простая шизофрения. Группу контроля составили 13 психически и соматически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с исследуемыми группами.

Критериями исключения из обследования для всех групп являлось наличие соматических заболеваний в острой фазе, хронических заболеваний, прием лекарственных средств. Исследование проведено с соблюдением протокола, утвержденного комитетом по биомедицинской этике НИИ психического здоровья и в соответствии с Хельсинской Декларацией для экспериментов, включающих людей.

У обследуемых лиц брали кровь из локтевой вены утром натощак с использованием пробирок типа Vacuette. С целью отделения 14 мажорных белков в исследуемой сыворотке крови была проведена аффинная хроматография на хроматографе фирмы ÄKTA pure (GE Healthcare). Концентрированные белки разделяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии SDS по методу Laemmli. Полученные гели фотографировали и анализировали с помощью системы гель документации Alliance 2.7 Uvitec производство Кембридж. Затем белки подвергали трипсинолизу в геле. Масс-спектрометрия проведена на базе ЦКП «Протеом человека» «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича». Идентификацию белков сыворотки крови с помощью масс-спектрометрии проводили с использованием ионной ловушки LTQ VELOS (Thermo Scientific). Идентификацию белков проводили путем поиска совпадения значений экспериментальных масс с массами белков, аннотированных в соответствующих базах данных с использованием программного обеспечения Mascot Ver. 2.1 (www.matrixscience.com, «Matrix Science» США). Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных статистических программ STATISTICA 10.0. Достоверность различий между группами определяли с помощью точного критерия Фишера с поправкой Йетса и непараметрического критерия Манна – Уитни. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Сравнение электрофореграмм сыворотки крови больных и здоровых лиц показало достоверные отличия в белковых областях, содержащих белки массой 206 кДа, 180 кДа, 97 кДа, 94 кДа, 88 кДа, 40 кДа, 32 кДа, 30 кДа, 28 кДа, 20 кДа, 15 кДа, 12 кДа [4].

По результатам масс-спектрометрии в сыворотке крови больных шизофренией была обнаружена тирозин-протеинкиназа ABL 2 (EC 2.7.10.2). В головном мозге тирозинкиназа может регулировать нейротрансмиссию путем фосфорилирования белков в синапсах. Также известно, что одна из разновидностей цитоплазматической тирозинкиназы участвует в ремоделировании актина путём фосфорилирования тирозинового остатка белков, контролирующей динамику цитоскелета, напрямую связывая F-актин и актин цитоскелета. Не исключено, что именно этот процесс лежит в регуляции синаптической пластичности при изменении уровня нейротрансмиссии при шизофрении.

В сыворотке крови больных шизофренией также выявлен актин гладкой мышцы 41850 Да. Альфа-актин-3 или гамма-актин-2 – другие названия этого белка. Этот тип актина осуществляет механизм клеточной миграции: регулирует механизм процесса, с помощью которого популяции клеток подвергаются направленному движению. В последнее время появились работы, говорящие о том, у больных шизофренией вследствие дисфункции между медиаторами, обеспечивающими нормальный баланс всех эндотелий зависимых процессов, выявлен симптомокомплекс эндотелиальной дисфункции. Это играет важную роль в патогенезе нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера при шизофрении.

В сыворотке крови больных шизофренией идентифицирован ядерный клеточно-специфичный эпителиальный гаплоидный белок 1 с молекулярным весом 25933 Да. Альтернативные названия белка: Haspin – сокращённое название от гаплоидный ядерный белок зародышевых клеток, специфичных киназе. Он был обнаружен в тимусе, костном мозге, печени плода и других тканях плода, а также во всех пролиферирующих протестированных клетках. Данный белок экспрессируется исключительно в гаплоидных зародышевых клетках, локализуется только в их ядрах.

Выводы. Выявленные белки указывают на активацию клеточного метаболизма у данных групп больных, косвенно свидетельствуют о наличии симптомокомплекса эндотелиальной дисфункции и нарушении архитектоники мышечной и нервной ткани. При увеличении количества обследуемых лиц и групп сравнения можно предположить использование выявленных белков в качестве потенциальных патогенетических маркеров этих расстройств.

Работа поддержана грантом РНФ №18-15-00053 «Поиск периферических маркёров ассоциированных с нарушением миелинизации головного мозга и патогенезом заболевания при шизофрении» 2018–2020 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Freeman W.M., Hemby S.E. Proteomics for protein expression profiling in neuroscience. *Neurochem Res.* 2004; 29: 1065–1081.
2. Filiou M.D., Turck C.W., Martins-de-Souza D. Quantitative proteomics for investigating psychiatric disorders. *Proteomics Clin Appl.* 2011 Feb; 5(1–2): 38–49. doi: 10.1002/prca.201000060.
3. Martins-de-Souza D. Proteome and transcriptome analysis suggests oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2010; 44(3): 149–156. doi: 10.1016/j.jpsychires.2009.07.007.
4. Логинова Л.В., Смирнова Л.П., Коваль В.В., Фёдорова О.С., Семке А.В., Иванова С.А. Масс-спектрометрический анализ белков сыворотки крови больных шизофренией. *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* 2011; 31(6): 63–68.

МОНИТОРИНГ ЖИРОВОЙ КОМПОНЕНТЫ СОСТАВА ТЕЛА У ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ В ПРОЦЕССЕ АНТИПСИХОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

В.В. Дубровская

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Одним из наиболее частых нежелательных явлений, возникающих в процессе антипсихотической терапии шизофрении, является проблема ожирения. Известно, что различные антипсихотические препараты могут по-разному влиять на набор избыточной массы тела. **Целью** данного исследования являлась оценка изменений жировой компоненты состава тела больных шизофренией с применением биоимпедансометрии в процессе антипсихотической терапии.

Ключевые слова: ожирение, шизофрения, биоимпедансометрия.

MONITORING OF FAT COMPONENTS OF BODY COMPOSITION IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA IN THE PROCESS OF ANTIPSYCHOTIC THERAPY

V.V. Dubrovskaya

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

One of the most common adverse events that occur during the antipsychotic therapy of schizophrenia is the problem of obesity. It is known that various antipsychotics can affect the set of excess body weight in different ways. The aim of this study was to assess the changes in the fat component of the body composition of schizophrenic patients with the use of bioimpedanceometry in the process of antipsychotic therapy.

Keywords: obesity, schizophrenia, bioimpedanceometry.

Актуальность. Пациенты, страдающие шизофренией, имеют повышенный риск развития ожирения. Риск повышения массы тела значительно усугубляется на фоне лечения атипичными антипсихотическими препаратами [1]. Однако нередко пациенты с шизофренией, имеющие нормальный индекс массы тела, тем не менее имеют повышенное количество висцеральной жировой ткани [2]. Висцеральное ожирение является наиболее значимым в плане повышения риска развития различных метаболических и сердечных заболеваний [3]. Разработка методов его ранней диагностики в процессе антипсихотической терапии позволит снизить заболеваемость и смертность вследствие заболеваний, ассоциированных с избыточной массой тела.

Цель — оценка изменений жировой компоненты состава тела больных шизофренией с применением биоимпедансометрии в процессе антипсихотической терапии.

Методы. Проведено обследование 30 пациентов с шизофренией (15 мужчин – 50 %, 15 женщин – 50 %), проходивших стационарное лечение на базе клиник НИИ психического

здоровья, Томского НИМЦ. 14 получали базисную терапию рисперидоном, а 16 – оланзапином на протяжении не менее 12 нед. В исследование вошли лица от 18 до 65 лет, средняя длительность заболевания составила $14,5 \pm 19,2$ года, состояние которых на момент осмотра отвечало критериям рубрики F20 МКБ-10. При проведении исследования были соблюдены принципы информированного согласия Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации. Биоимпедансометрия проводилась медицинским прибором Omron BF508, измерение роста осуществлялось опорным ростомером. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica for Windows (V. 10.0). Применяли критерии χ^2 Пирсона и U-критерия Манна – Уитни для сравнения независимых выборок.

Результаты. В обеих группах зарегистрировано повышение индекса массы тела у обоих полов в процессе антипсихотической терапии, при этом исходный индекс массы тела не оказывал влияния на его повышение. Наибольшее содержание жировой ткани в организме регистрировалось у пациентов с шизофренией обоих полов, получающих в качестве базового препарата оланзапин, хотя достоверных различий с группой принимающих рисперидон не отмечалось. Объем талии и уровень висцерального жира в группе оланзапина у обоих полов был немного выше, чем у пациентов, принимающих рисперидон, однако достоверных отличий не наблюдалось.

Заключение. Согласно результатам исследования, в процессе назначения антипсихотической терапии нельзя ориентироваться на исходный индекс массы тела пациентов с шизофренией. Проведение биоимпедансометрии позволяет более точно оценить риск развития такого нежелательного явления, как ожирение и ассоциированных с ним заболеваний, что позволит разработать персонализированные терапевтические алгоритмы пациентов, страдающих шизофренией [4].

Работа поддержана грантом РНФ № 18-15-00011 «Шизофрения, сочетанная с метаболическим синдромом: клинικοконституциональные факторы и молекулярные маркеры» 2018–2020 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tek C., Kucukgoncu S., Guloksuz S. Antipsychotic-induced weight gain in first-episode psychosis patients: a meta-analysis of differential effects of antipsychotic medications. *Early Intervention in Psychiatry*. 2016; 10(3): 193–202 doi: 10.1111/eip.12251.
2. Konarzewska B., Stefańska E., Wendolowicz A., Cwalina U., Golonko A., Malus A., Kowzan U., Szulc A., Rudzki L., Ostrowska L. Visceral obesity in normal-weight patients suffering from chronic schizophrenia. *BMC Psychiatry*. 2014; 14: 35. doi: 10.1186/1471-244X-14-35.
3. Saarni S.E., Saarni S.I., Fogelholm M., Heliövaara M., Perälä J., Suvisaari J., Lönnqvist J. Body composition in psychotic disorders: a general population survey. *Psychological medicine*. 2009; 39: 801–811. doi: 10.1017/S0033291708004194
4. Микилев Ф.Ф., Корнетова Е.Г., Лобачева О.А., Корнетов А.Н., Семке А.В. Психометрическая оценка симптомов и клиническая динамика шизофрении в зависимости от конституционально-морфологического типа больных. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15(2): 58–64. doi: 10.20538/1682-0363-2016-2-58-64

ВЛИЯНИЕ МАТЕРИНСКОЙ ПРИВЯЗАННОСТИ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ У ДЕТЕЙ С ПСИХИЧЕСКИМ НЕДОРАЗВИТИЕМ

М.В. Егорова, Е.А. Черенева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный педагогический университет им. В.П. Астафьева», г. Красноярск, Россия

Аннотация

В данной статье освещена проблема влияния материнской привязанности на психическое здоровье ребенка, в частности, рассматривается, какие виды привязанности существуют и какие из них способствуют психическому недоразвитию, что затрудняет социальную адаптацию ребенка.

Ключевые слова: материнская привязанность, психическое здоровье, психическое недоразвитие, социальная адаптация.

INFLUENCE OF MATERNAL ATTACHMENT ON THE FORMATION OF MENTAL HEALTH IN CHILDREN WITH MENTAL UNDERDEVELOPMENT

M.V. Egorova, E.A. Chereneva

Krasnoyarsk State Pedagogical University named after V.P. Astafyev, Krasnoyarsk, Russia

Abstract

This article deals with the problem of the influence of maternal attachment on the mental health of the child, in particular, what kinds of attachment exist, and which of them contribute to mental underdevelopment, which makes social adaptation of the child more difficult.

Keywords: maternal attachment, mental health, mental underdevelopment, social adaptation.

Формирование психического здоровья у человека является многофакторным процессом, который зависит от личностных характеристик человека, его соматического здоровья, социально-экономического положения и т. д. Термин «психическое здоровье» был введен Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ). Сарториус Н., директор охраны психического здоровья ВОЗ, определил психическое здоровье (1978) как:

- 1) отсутствие выраженных психических расстройств;
- 2) определенный резерв сил человека, благодаря которому он может преодолеть неожиданные стрессы или затруднения, возникающие в исключительных обстоятельствах;
- 3) состояние равновесия между человеком и окружающим миром, гармония между ним и обществом, сосуществование представлений отдельного человека с представлениями других людей об «объективной реальности» [1].

В исследованиях В.М. Бехтерева, В.С. Мухиной, Б.С. Братусь, Барабаш Е.Ю., Р.К. Мамедовой указываются ведущие факторы, влияющие на формирование психического здоровья личности. Одним из таких факторов является эмоциональная привязанность ребенка к матери в раннем возрасте. Как указывает Дж. Боулби, материнская привязанность – это биологический инстинкт, в котором ребёнок начинает искать близости к значимому взрослому, когда чувствует угрозу или дискомфорт. Поведение на основе привязанности ожидает ответ от значимого взрослого, который в силах снять эту угрозу или дискомфорт.

Психическое недоразвитие проявляется в разных формах. Тяжелые формы недоразвития – имбицильность и идиотия, легкая форма – дебильность. К легкой форме можно отнести также задержку психического развития. Данный диагноз существует только в России. Задержка психического развития (ЗПР) – это неравномерное формирование процессов познавательной деятельности, обусловленное недоразвитием речи и мышления, а также присутствие расстройств в эмоционально-волевой сфере [2].

Причиной психического недоразвития детей могут быть, например, факторы органического генеза: наследственность, нарушение белкового и углеводного обмена в организме, а также различные заболевания ребенка, перенесенные в младенчестве [3]. Существует ряд других факторов, влияющих на психическое недоразвитие. Мы хотели бы обратить внимание на социальный фактор, а именно на материнскую привязанность и то, как она влияет на развитие ребенка. Основные исследования, направленные на изучение привязанности, были проведены в 1958 г. Джоном Боулби, который ввел понятие привязанности. Это связь, которая устанавливается между матерью и ребенком с первых дней жизни. Жизнь и развитие младенца полностью зависят от прочности и качества этой связи.

Более поздние исследования, но не менее значимые, провела Мэри Эйнсворт, которая вывела несколько типов привязанностей: небезопасная привязанность избегающего типа, надежная безопасная привязанность, привязанность тревожно-сопротивляющегося типа и небезопасная привязанность дезорганизованного типа. В случае утраты объекта привязанности или установления «невротической связи» между матерью и ребенком возникает нарушение привязанности [4]. Согласно МКБ-10, в рамках клинической психиатрии раннего возраста, выделяются критерии расстройства привязанностей. Возникновение расстройства привязанности возможно с 8-месячного возраста. Патологическими являются двойственные типы привязанности – небезопасная привязанность тревожно-сопротивляющегося типа, небезопасная привязанность избегающего типа рассматривается как условно-патологическая.

Эти искажения привязанностей приводят к социально-личностным расстройствам, затрудняют школьную адаптацию, межличностные отношения, установление эмоциональных связей в своей семье. Различные исследователи показывали негативное влияние как краткосрочной, так и долгосрочной разлуки с матерью на дальнейшее развитие ребенка. Исследования М. Эйнсворта, Э. Эриксона позволили сделать вывод, что «нарушения взаимодействия ребенка с матерью могут привести к формированию таких негативных личностных образований, как тревожная привязанность и недоверие к окружающему миру, вместо нормальной привязанности и базового доверия» [5].

После теоретического анализа литературы мы можем сделать вывод, что патологическое типы привязанностей создают «травмирующую» среду для ребенка. Следствием нарушения привязанности могут стать психическое недоразвитие и другие нарушения развития.

Формирование психического здоровья у детей с психическим недоразвитием является не изученной темой в клинической психологии. Эта тема представляет для нас научно-исследовательский интерес так как, по нашему мнению, материнская привязанность является одним из механизмов, позволяющих понимать личность и ее формирование при нарушениях интеллектуального развития. По классификации В.В. Лебединского, «психическое недоразвитие» относится к нарушениям интеллектуального развития (умственная отсталость и ЗПР) [6]. Современные диагностические подходы позволяют опираться на МКБ 10, в которых выделены основные формы ментальных нарушений. Как указывают многие источники, основной причиной психического недоразвития являются органические поражения мозга. Но, как указывают О.К. Агавелян, С.А. Домишкевич, В.В. Коркунов, К.С. Лебединская, В.И. Лубовский, М.С. Певзнер, Е.А. Черенева и др. об усугублении интеллектуальной патологии (как первичной, так и вторичной) как следствии нарушений детско-родительских отношений и социально-психологической адаптации. Вследствие анализа теоретической литературы мы можем сделать вывод, что нарушение материнской привязанности является негативным фактором психического недоразвития детей, что затрудняет их дальнейшую социальную адаптацию в обществе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения. Психическое здоровье. 2016; [Электронный ресурс]. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs220/ru/> (дата обращения: 24.03.2018).
2. Черенёва Е.А. Актуальные подходы в исследовании личности детей с нарушениями интеллектуального развития. Первые Корниловские чтения. Современные подходы к оказанию специализированной психиатрической помощи населению сибирского региона. Сборник тезисов. 2016; 263–266.
3. Черенёва Е.А. Проблема изучения бессознательных детерминант социально-психологической адаптации лиц с ментальными нарушениями. В книге: Современные проблемы охраны психического здоровья населения Сибири сборник тезисов научно-практической конференции. 2016; 180–184.
4. Ainsworth M.D.S., Blehar M.C., Waters E., Wall S. Patterns of attachment: A psychological study of the strange situation: [Электронный ресурс]. URL: <https://www.simplypsychology.org/mary-ainsworth.html> (дата обращения: 24.03.2018).
5. Тебенева О.В., Новаковская В.С. Особенности формирования психологического здоровья дошкольников с ограниченными возможностями здоровья [Электронный ресурс]. URL: https://nauchforum.ru/archive/mnf_humanities/2.pdf (дата обращения: 28.03.2018)
6. Черенёва Е.А., Черенёв Д.В. Психологические критерии исследования личности младших школьников с нарушениями интеллектуального развития. Инклюзивное образование в профессиональных образовательных организациях: проблемы и решения. Материалы XVIII Всероссийской научно-практической конференции. 2017; 209–213.

РЕАБИЛИТАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Е.Н. Ельчининов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск, Россия

Аннотация

Изучена клиническая динамика алкоголизма с сочетанной хронической соматической патологией у 55 больных с зависимостью от алкоголя средней стадии, госпитализированных в наркологическое отделение. Проведено распределение пациентов с низко-, средне- и высокопрогредиентным течением основного заболевания, отмечено модифицирующее влияние коморбидной соматической патологии. С дополнительным учетом социально-психологических параметров обследованных выявлен уровень их реабилитационного потенциала, определяющий особенности пациент-ориентированного лечебно-реабилитационного подхода.

Ключевые слова: зависимость от алкоголя, коморбидность, соматическая патология, реабилитационный потенциал, реабилитационный прогноз.

REHABILITATION POTENTIAL OF PATIENTS WITH CHRONIC SOMATIC PATHOLOGY

E.N. Elchininov

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russia

Abstract

Dynamic of alcoholism with chronic somatic pathology has been studied in 55 patients with middle phase of alcohol abuse hospitalized in the narcological dispensary. The distribution of patients with low-, medium- and high-progredient course of the main disease was done. It is noted that the modifying effect of comorbid somatic pathology took place. With additional consideration of the socio-psychological parameters of the patients, the level of their rehabilitation potential was revealed, which determines the characteristics of the patient-oriented treatment and rehabilitation approach.

Keywords: alcohol dependence, comorbidity, somatic pathology, rehabilitation potential, rehabilitation forecast.

Актуальность. В современной структуре аддиктивной патологии традиционно преобладают алкогольные расстройства. Несмотря на то, что численность больных алкоголизмом и алкогольными психозами, зарегистрированных наркологической службой, в последние годы имеет некоторую тенденцию к снижению, она достигает значительных цифр. Так, в 2016 году за наркологической помощью обратились 1 888 358 пациентов с алкогольными расстройствами (1288,6 на 100 тыс. населения, 1,3 % от численности населения страны). И показатель долгосрочной ремиссии не превышает 10,4 на 100 больных [1]. При этом правильно организованная сфера реабилитации признается практически прямой современной формой инвестирования как в общество, так и в национальную экономику [2]. Но при реализации пациент-ориентированного подхода [3] с предоставлением медицинских услуг, соответствующих индивидуальным предпочтениям, потребностям и ценностям пациентов, и привлечением больного к сотрудничеству нельзя обойтись без детального учета всех параметров пациента, тем более, когда имеют место сочетанные заболевания. Указанное послужило основанием для проведения исследования реабилитационных возможностей больных алкоголизмом с хронической соматической патологией.

Материал и методы. Обследовано 55 мужчин в возрасте 18–60 лет (средний возраст 43,02 года) с зависимостью от алкоголя средней стадии (F 10.2.4.2), получавших специализированную помощь в стационарных условиях в Красноярском краевом наркологическом диспансере № 1 в 2016–2017 гг. Все пациенты имели хроническую патологию одной или нескольких систем органов, которая осложняла течение основного заболевания. Заболевания были верифицированы в соответствии с МКБ-10, длительность болезни свыше 3 лет. Лица с сопутствующим психическим заболеванием, потреблением наркотиков и ненаркотических психоактивных веществ в анамнезе в исследование не включены. Применены клинко-психопатологический, клинко-динамический, социо-психологический, социологический, статистический методы.

Результаты. Низкопрогредиентное течение алкоголизма (НПА группа) было выявлено у 15 (27,3 %) пациентов (средний возраст 44,3 года). Оно характеризовалось невысокой толерантностью к алкоголю, долговременным периодом формирования алкогольного абстинентного синдрома, актуальная госпитализация в стационар была у 67 % пациентов единственной, не наблюдалось нарастания отрицательной клинической динамики. Для данной группы было характерно наличие нетяжелой соматической патологии с редкими, быстро купируемыми обострениями хронических заболеваний паренхиматозных органов: явления стеатоза печени (93 %), нефропатии (33,3 %). Существенный вес имела легко протекающая патология бронхо-легочной системы (у 53,3 % диагностирован необструктивный бронхит). Повышение артериального давления у 33,3 % больных было в рамках гипертензионного

синдрома, у 13,3 % больных (все в возрасте 55–60 лет) диагностирована ИБС (I, II ФК). У 53,4 % больных этой группы не выявлено поражения сердечно-сосудистой системы. Средне-прогредиентное течение (СПА группа) было определено в 17 (30,9 %) случаях (средний возраст пациентов 43,5 года). Больные демонстрировали умеренно быстрый переход от I ко II стадии алкоголизма, госпитализации в стационар чаще повторные, ежегодные. Соматическая патология была представлена не только стеатозом печени (70,6 %), но и гепатитом (29,4 %), достоверно чаще встречалась нефропатия (41,2 %), выявлен панкреатит (5,9 %). Гипертензионный синдром встречался не чаще, чем в группе НПА, но ИБС (II ФК) достоверно преобладала (35,3 %), как и хронический бронхит (70,6 %). Течение хронических заболеваний в целом соответствовало динамике основного заболевания, отмечены более частые (до 2 раз в год) обострения со сложностью достижения ремиссии в стандартные сроки. Высокопрогредиентное течение (ВПА группа) наблюдалось наиболее часто у 23 (41,8 %) больных (средний возраст 41,8 года). У всех отмечено раннее начало алкоголизации, быстрое развитие алкогольного абстинентного синдрома. Присоединение хронических заболеваний: прежде всего гепатита (47,8 %) и цирроза печени (13,3 %), нефропатии (60,9 %), панкреатита (21,7 %), достоверно чаще представленных в этой группе, гипертонической болезни (21,7 %), ИБС (II, III ФК) у 17,4 %, хронического бронхита (82,6 %), в том числе обструктивного (в 68,4 % случаев), и частые их обострения резко усугубили отрицательную клиническую динамику основного процесса, что подтверждается частыми повторными госпитализациями (у трети больных – 2 и более раз в год) в связи с утяжелением состояния.

В исследовании определялись следующие характеристики семейного и социального статуса: уровень образования (оказался достоверно выше в группах НПА и СПА), профессиональная занятость (87,3 % всех больных ее не имели на момент обследования), наличие и состояние места жительства (только 7,3 % больных основное время проводили на улице или в специализированных социальных учреждениях ночного пребывания), брачность (из 29,1 % состоящих в браке большинство – пациенты групп НПА и СПА), количество детей, служба в вооруженных силах (значимых различий по этим показателям не выявлено), наличие криминального анамнеза (32,7 % были судимы, но достоверных различий выявлено также не было).

По уровню реабилитационного потенциала пациенты были разделены на 3 группы. Первую группу составили 7 (13 %) пациентов (средний возраст 46,86 года) с высоким реабилитационным потенциалом. В данную группу вошли исключительно социально адаптированные пациенты группы НПА с высшим либо средне-специальным образованием, у которых имелись благоприятные условия проживания, присутствовала неформальная критика к своему заболеванию. Вторая группа из 37 (67 %) больных (средний возраст 41,86 года) характеризовалась средним реабилитационным потенциалом. В эту группу вошли 8 больных группы НПА, все представители группы СПА и 12 (52 %) пациентов группы ВПА. У всех отмечен средний социальный статус (среднее специальное образование, имеют место жительства, но часто проживают там одни, холосты или разведены), некоторая формальность критики к болезни. Третья группа – 11 (20 %) человек (средний возраст 44,45 года) с низким реабилитационным потенциалом. Ее составили исключительно больные группы ВПА с низким социальным статусом и формальной критикой к заболеванию. Все больные были включены в лечебно-реабилитационные программы в соответствии с их реабилитационным потенциалом.

Выводы

1. Хроническая сочетанная с алкоголизмом соматическая патология представлена прежде всего поражением паренхиматозных органов и бронхо-легочной системы.
2. Степень тяжести течения хронической соматической патологии четко коррелирует с темпом прогредиентности алкоголизма.
3. При определении реабилитационного потенциала у больных алкоголизмом с хронической соматической патологией обосновано учитывать не только темп прогредиентности основного заболевания, но и выраженность органических поражений. Сохранившаяся социальная адаптация и наличие критики к болезни улучшают реабилитационный прогноз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Киржанова В.В., Григорова Н.И., Киржанов В.Н., Сидорюк О.В. Основные показатели деятельности наркологической службы в Российской Федерации в 2015–2016 годах: Статистический сборник. М.: ФГБУ «ФМИЦПНим. В.П. Сербского» Минздрава России, 2017. 183.
2. Иванов В.П. Необходимость создания новой сферы реабилитации как ответ на вызовы современных обществ. Наркология. 2014; 5: 3–5.
3. Хальфин Р.А., Сырцова Л.Е., Львова Д.П., Кобяцкая Е.Е. Пациент-ориентированный подход: базовые понятия. Проблемы стандартизации в здравоохранении. 2017; 12: 9–13.

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА *RS1387923* ГЕНА *NTRK2* С ФЕНОТИПИЧЕСКИМИ ВАРИАЦИЯМИ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ТРЕВОЖНОСТИ

Р.Ф. Еникеева, А.В. Казанцева, А.Р. Романова, С.Б. Малых,
Э.К. Хуснутдинова

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», г. Уфа, Россия

Аннотация

В настоящее время математика становится все более важной в высокотехнологичном обществе. Даже повседневная жизнь требует от человека хороших математических знаний, которые, в свою очередь, являются основой любой инновационной научной деятельности. В современном обществе наличие трудностей при использовании математических операций (зачастую связанное с развитием математической тревожности, МТ) негативно сказывается на успешности человека. Гены, семейства нейротрофинов, вовлечены в регуляцию синаптической пластичности являющейся одним из механизмов формирования рабочей памяти, а значит, способности справиться со стрессовой ситуацией. Целью данного исследования являлась оценка основного эффекта полиморфного локуса гена *NTRK2* (*rs1387923*) в формировании математической тревожности. Полученные данные указывают на вовлеченность локуса *rs1387923* гена *NTRK2* в развитие межиндивидуальных различий в уровне МТ.

Ключевые слова: генетика поведения, математическая тревожность, *NTRK2*.

ASSOCIATION ANALYSIS OF POLYMORPHIC MARKER-*S1387923* OF THE *NTRK2* GENE WITH PHENOTYPIC VARIATIONS OF MATHEMATICAL ANXIETY

R.F. Enikeeva, A.V. Kazantseva, A.R. Romanova, S.B. Malykh,
E.K. Khusnutdinova

Bashkir State University, Ufa, Russia

Abstract

Mathematics has become highly important in today's hightech life. Success in everyday life requires the presence of mathematical knowledge, which, in turn, appears to be the basis for any innovative scientific activity. Nowadays mathematics difficulties frequently caused by increased mathematical anxiety (MA) negatively affect individual's life success. The proteins encoded by *NTRK2* are involved in the regulation of synaptic plasticity representing one of the mechanisms of working memory and, hence, in resistance to stressful life events. The present study aimed to estimate the main effect of *NTRK2* (*rs1387923*) gene polymorphism in mathematics anxiety. Revealed findings evidence association of *NTRK2* gene with individual variations in MA.

Keywords: Genetics of behavior, mathematical anxiety, *NTRK*.

Актуальность. Согласно данным метаанализа, проведенного по результатам 151 публикации, математические способности негативно коррелируют с математической тревожностью (МТ) (коэффициент корреляции: $-0,25 \dots -0,40$) [1]. МТ характеризует состояние, при котором индивиды испытывают отрицательные эмоции (избегание, тревожность, стресс) и даже болезненные ощущения при необходимости решения задач, требующих использования математических навыков [2]. Проявление МТ впервые становится заметным в младшем школьном возрасте и развивается до 9–10 класса [1]. Согласно литературным данным, повышенная МТ встречается у 4 % студентов высшей школы, а около 85 % студентов отмечают у себя умеренные ее проявления [3]. В настоящее время проведено множество близнецовых исследований, доказывающих роль наследственности в появле-

нии трудностей в обучении математике, коэффициент наследуемости при этом составил 0,2–0,9 [4]. Исследования, проведенные на животных, показывают, что у мышей-нокаут по гену *NTRK2* повреждены процессы выживания и дифференцировки неокортикальных нейронов, а также нарушены процессы обучения и поведения при стрессовых ситуациях. Таким образом, ген *NTRK2* может рассматриваться как ген-кандидат при изучении причин возникновения МТ.

Материал и методы. В исследовании приняли участие 523 здоровых индивида из Республики Башкортостан (средний возраст 20,3±3,87 года), прошедшие оценку МТ с помощью опросника MARS-E. Генотипирование проводили с помощью ПЦР-ПДРФ. Статистический анализ был осуществлен с использованием программы Plink v.1.07.

Результаты. Результаты оценки распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса гена *NTRK2* (*rs1387923*) соответствовали распределению Харди–Вайнберга. Согласно данным проекта НарМар, частоты генотипов изученного маркера гена *NTRK2* совпадали с таковыми для европейских популяций. Значения показателей уровня математической тревожности в изученной выборке подчинялись закону нормального распределения ($W=0,91$, $p=0,054$). В результате линейного регрессионного анализа была выявлена ассоциация полиморфного локуса *rs1387923* гена *NTRK2* с уровнем МТ в общей выборке ($\beta = 2,997$; $P_{FDR} = 0,043$).

Выводы. Полученные данные указывают на вовлеченность гена *NTRK2* с различиями в уровне МТ.

Работа выполнена при поддержке грантов Российского гуманитарного научного фонда 17-16-02009 а(р) Российского фонда фундаментальных исследований 17-29-02195. Исследование поддержано программой развития биоресурсных коллекций ФАНО.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hembree R. The nature, effects, and relief of mathematics anxiety. J. Res. Mathemat. Educat. 1990 Jan; 21(1): 33–46. doi: 10.2307/749455.
2. Ashcraft M.H., Moore A.M. Mathematics anxiety and the affective drop in performance. J. Psychoeducat. Assessment. Apr. 2009; 27(3): 197–205. doi: 10.1177/0734282908330580
3. Chin S. Mathematics anxiety in secondary students in England. Dyslexia. Feb. 2009; 15(1): 61–68. doi: 10.1002/dys.381.
4. Kovas Y., Haworth C.M., Harlaar N., Petrill S.A., Dale P.S., Plomin R. Overlap and specificity of genetic and environmental influences on mathematics and reading disability in 10 years old twins. J. Child Psychol. and Psychiatry. 2007; 48(9): 914–922. doi:10.1111/j.1469-7610.2007.01748.x

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЛЕЙ ЛИТИЯ НА ЦИТОПРОТЕКЦИЮ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС МОНОНУКЛЕАРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛИЗМОМ

Е.В. Епимахова¹, И.С. Лосенков¹, Е.В. Плотников²

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, Томский политехнический университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Изучено влияние литийорганических соединений (пирувата лития, фумарата лития, сукцината лития) на цитопroteкцию и окислительный стресс мононуклеаров периферической крови лиц, больных алкоголизмом. Обнаружен выраженный цитопroteкторный эффект пирувата лития, заключающийся в снижении процента клеток как в состоянии раннего апоптоза, так и в состоянии позднего апоптоза/некроза. Выявлено снижение процента клеток с активными формами кислорода при инкубации с солями, что свидетельствует об антиоксидантных свойствах исследуемого соединения.

Ключевые слова: литий, пируват лития, окислительный стресс, цитозащита, апоптоз.

INFLUENCE OF ORGANIC LITHIUM SALTS ON CYTOPROTECTION AND OXIDATIVE STRESS OF PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS IN PATIENTS WITH ALCOHOLISM

E.V. Epimakhova¹, I.S. Losenkov¹, E.V. Plotnikov²

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

Research School of Chemistry & Applied Biomedical Sciences, National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia²

Abstract

The influence of lithium compounds (lithium pyruvate, lithium fumarate, lithium succinate) on the cytoprotection and oxidative stress of peripheral blood mononuclear cells in alcoholic patients was studied. Strong cytoprotection effect of lithium pyruvate manifested by decrease percentage of early apoptotic and late apoptotic/necrotic cells. A decrease in the percentage of cells with reactive oxygen species was revealed during the incubation of cells with salts, which indicates the antioxidant properties of the tested compound.

Keywords: lithium, lithium pyruvate, oxidative stress, cytoprotection, apoptosis.

Убедительные данные о том, что хроническое поступление алкоголя в организм приводит к состоянию окислительного стресса и повышенной гибели различных клеток, позволяют сделать заключение, что включение цитопротекторных препаратов в комплекс базисной терапии больных алкоголизмом может быть полезным и перспективным. Особый интерес в данном направлении представляют соединения лития, обладающие протекторным [1–3] и антиоксидантным [4, 5] эффектами, механизм действия которых в настоящее время продолжает активно изучаться.

Целью данной работы явилось изучение влияния литийорганических соединений на цитопroteкцию и процессы окислительного стресса в мононуклеарах периферической крови больных алкоголизмом.

Материал и методы В качестве экспериментальной модели использованы мононуклеары периферической крови 10 пациентов, больных алкоголизмом. Забор венозной крови проводили утром, натощак. Мононуклеары выделяли из гепаринизированной крови на градиенте плотности фиколла («Sigma-Aldrich», США). Далее клетки культивировали в течение 24 часов при 37 °C в среде RPMI 1640 и 5 % углекислого газа с тестируемыми веществами: среда RPMI 1640 (контроль); 50 мкМ гидроперекиси третичного бутила (ГПТБ), моделируя ситуацию окислительного стресса; концентрация ионов лития в лунке составила 1,2 мМ/л пирувата лития; 1,2 мМ/л сукцината лития; 1,2 мМ/л fumarата лития. Мононуклеары инкубировали с солями лития в присутствии и без ГПТБ.

Уровень окислительного стресса определяли на проточном цитолуоориметре «Muse Cell Analyzer» (Merck Millipore, Германия) с использованием набора реагентов «Oxidative stress» (Merck Millipore, Германия). Долю клеток, подвергшихся клеточной гибели, оценивали методом проточной цитофлуориметрии с использованием набора реактивов «Annexin V & Dead Cell Assay Kit» (Merck Millipore, Германия). Статистический анализ и обработку данных проводили с помощью программы SPSS (версия 20.0). Рассчитывали медиану, первый и третий квартили. Для сравнения количественных переменных использовался критерий Манна – Уитни. Различия считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. По результатам нашего эксперимента, инкубация *in vitro* мононуклеаров периферической крови пациентов, больных алкоголизмом, с гидроперекисью третичного бутила приводила к достоверному увеличению доли клеток, находящихся на стадии раннего апоптоза по сравнению с контрольными значениями (38,95 (32,05–43,55) % и 7,89 (6,97–16,23) %, соответственно, $p < 0,05$) и к достоверному увеличению доли клеток, находящихся на стадии позднего апоптоза/некроза по сравнению с контрольными значениями (38,30 (37,17–61,80) % и 9,15 (5,55–12,81) % соответственно, $p < 0,05$). Также содержание активных форм кислорода в клетках, культивированных с ГПТБ, достоверно выше значений в контроле (73,37 (53,62–78,74) % и 8,13 (5,67–12,97) % соответственно, $p < 0,05$).

При добавлении в культуральную среду соединений лития (fumarат лития, сукцинат лития, пируват лития) было отмечено наиболее выраженное цитопротекторное влияние пирувата лития. Так, в культурах, подвергнутых действию ГПТБ, пируват лития существенно снижал

долю мононуклеаров в ранней стадии апоптоза, по сравнению с инкубацией в тех же условиях без добавления протектора (22,38 (19,20–28,46) % и (38,95 (32,05–43,55) % соответственно, $p=0,001$) и достоверно уменьшал процент мононуклеаров в поздней стадии апоптоза/некроза, по сравнению с инкубацией в тех же условиях без добавления соли (18,22 (12,77–24,01) % и 38,30 (37,17–61,80) % соответственно, $p<0,05$); пируват лития приводил к достоверному снижению содержания мононуклеаров с активными формами кислорода, по сравнению с инкубацией в тех же условиях без добавления протектора (28,88 (21,93–32,16) % и 73,37 (53,62–78,74) % соответственно, $p=0,001$).

Таким образом, представленные выше экспериментальные данные демонстрируют анти-оксидантное действие пирувата лития и цитопротекторные свойства в отношении клеточной гибели мононуклеаров периферической крови пациентов, больных алкоголизмом в условиях окислительного стресса.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-20045) «Действие органических солей лития на клетки и плазму крови больных с расстройствами аффективного спектра и синдромом зависимости».

ЛИТЕРАТУРА

1. Liechti F.D., Stüdle N., Theurillat R., Grandgirard D., Thormann W., Leib S.L. The mood stabilizer lithium prevents hippocampal apoptosis and improves spatial memory in experimental meningitis. PLoS One. 2014 Nov 19; 9(11): e113607. doi: 10.1371/journal.pone.0113607.
2. Xu Y., Wang Q., Li D., Wu Z., Li D., Lu K., Zhao Y., Sun Y. Protective effect of lithium chloride against hypoglycemia-induced apoptosis in neuronal PC12. Neuroscience. 2016 Aug 25; 330: 100–8. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.05.047.
3. Zhou X., da Li W., Yuan B.L., Niu L.J., Yang X.Y., Zhou Z.B., Chen X.H., Feng X. Lithium Treatment Prevents Apoptosis in Neonatal Rat Hippocampus Resulting from Sevoflurane Exposure. Neurochem Res. 2016 Aug; 41(8): 1993–2005. doi: 10.1007/s11064-016-1909-x.
4. Khairova R., Pawar R., Salvadore G., Jurueña M.F., de Sousa R.T., Soeiro-de-Souza M.G., Salvador M., Zarate C.A., Gattaz W.F., Machado-Vieira R. Effects of lithium on oxidative stress parameters in healthy subjects. Mol Med Rep. 2012 Mar; 5(3): 680–2. doi: 10.3892/mmr.2011.732.
5. Kim Y.H., Rane A., Lussier S., Andersen J.K. Lithium protects against oxidative stress-mediated cell death in α -synuclein-overexpressing in vitro and in vivo models of Parkinson's disease. J Neurosci Res. 2011 Oct; 89(10): 1666–75. doi: 10.1002/jnr.22700.

РНК-ГИДРОЛИЗУЮЩИЕ АНТИТЕЛА КАК НОВЫЙ МАРКЕР ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

Е.А. Ермаков

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В работе впервые показано, что иммуноглобулины класса G, выделенные из сыворотки крови больных шизофренией, обладают РНК- и микроРНК-гидролизующей активностью. При этом уровень активности коррелировал с клиническими параметрами заболевания. Предполагается, что абзимы с нуклеазной активностью могут играть роль в патогенезе шизофрении. Обнаружение антител, гидролизующих РНК и микроРНК, является новым доказательством иммунологических нарушений при шизофрении.

Ключевые слова: шизофрения, антитела, абзимы, микроРНК, иммунологические нарушения.

RNA-HYDROLYZING ANTIBODIES AS A NEW MARKER OF IMMUNOLOGICAL DISTURBANCES IN SCHIZOPHRENIA

E.A. Ermakov

The Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

It was shown for the first time that IgG isolated from the serum from schizophrenic patients possessed RNA and microRNA-hydrolyzing activity. At the same time, the level of activity correlated with the clinical parameters of the disease. It is suggested that abzymes with nuclease activity may play a role in the pathogenesis of schizophrenia. The detection of antibodies, hydrolyzing RNA and microRNA is a new evidence of immunological disturbances in schizophrenia.

Keywords: schizophrenia, antibodies, abzymes, microRNA, immunological disturbances.

Актуальность. Несмотря на длительный период изучения шизофрении, этиология и патогенетические механизмы этого тяжелого психического расстройства остаются неясными. Согласно современным представлениям, важная роль в патогенезе шизофрении отводится иммунологическим нарушениям [1, 2]. Большое эпидемиологическое исследование ясно показало, что тяжелые инфекции и аутоиммунные расстройства матери или плода в пренатальном периоде значительно повышают риск развития шизофрении во взрослой жизни [3]. Одним из признаков иммунологических нарушений является появление каталитически активных антител или абзимов, обнаруживаемых среди всего пула антител организма. Недавно нами показано наличие ДНК-гидролизующих антител при шизофрении [4]. Мы предположили, что антитела с нуклеазной активностью могут гидролизовать не только молекулы ДНК, но и РНК, а также микроРНК. Известно, что микроРНК играют важную роль в созревании нейронов и синаптической пластичности. Кроме того, у больных шизофренией обнаружено снижение экспрессии некоторых микроРНК в крови и различных областях головного мозга. Показано, что изменение уровня циркулирующих микроРНК может приводить к психопатологическим симптомам [5].

Данная работа посвящена исследованию РНК-гидролизующей активности IgG больных шизофренией.

Материал и методы. В исследование были отобраны 35 больных шизофренией (простая и параноидная форма) и 10 здоровых доноров. Средний возраст в группе пациентов составил $35,8 \pm 8,9$ года, длительность заболевания – $9,1 \pm 5,4$ года. Электрофоретически и иммунологически гомогенные препараты IgG получали аффинной хроматографией на Protein G Sepharose. РНК-гидролизующую активность антител определяли спектрофотометрически с использованием модельных субстратов (сСМР, polyC, polyA, дрожжевая РНК). МикроРНК-гидролизующую активность антител изучали с использованием флуоресцентно меченных нейроспецифических микроРНК в качестве субстрата. Продукты гидролиза анализировали с помощью электрофореза в ПААГ в денатурирующих условиях и регистрировали с использованием лазерного сканера Typhoon FLA 9500. Статистический анализ результатов проводили в программе Statistica 10.

Результаты. Впервые показано, что все препараты IgG больных шизофренией обладают РНК-гидролизующей активностью, в то время как IgG здоровых доноров проявляли слабую, или недетектируемую активность. С использованием жестких общепринятых критериев доказано, что активность принадлежит непосредственно антителам, а не является следствием примеси канонических ферментов. Обнаружено уменьшение уровня активности в ряду: сСМР > polyC > polyA > дрожжевая РНК. Кроме того, антитела больных шизофренией оказались эффективными в реакции гидролиза микроРНК. Выявлен сайт-специфический гидролиз четырех микроРНК, играющих важную роль в функционировании нейронов. По результатам моделирования сайтов гидролиза на 2Ди 3D структурах молекулы микроРНК установлено, что три основных участка расщепления расположены в петлях микроРНК или дуплексных частях, непосредственно сочлененных с петлями. Важно отметить, что уровень гидролиза микроРНК антителами больных шизофренией коррелировал с клиническими параметрами заболевания. Обнаружена отрицательная корреляция уровня микроРНК-гидролизующей активности и длительности заболевания, а также положительная корреляция уровня активности с баллами по подшкале общих симптомов и суммарным значением по шкале PANSS.

Выводы. У больных шизофренией впервые обнаружены каталитические антитела с РНК- и микроРНК-гидролизующей активностью. Обнаружение абзимов, гидролизующих РНК и микроРНК, является новым доказательством иммунологических нарушений при шизофрении. Мы предполагаем, что иммунологические расстройства могут играть важную роль при шизофрении, особенно в продромальный период заболевания. Факторы окружающей

среды, генетическая предрасположенность и внутриутробные инфекции могут приводить к системному воспалению и образованию аутоантител, гидролизующих микроРНК. Эти антитела могут способствовать изменениям уровня циркулирующих микроРНК в крови, нарушению регуляции экспрессии различных генов и развитию шизофрении. Учитывая, что уровень микроРНК-гидролизующей активности антител коррелирует с клиническими параметрами заболевания, каталитические антитела могут стать основой для разработки новых биомаркеров шизофрении.

Работа поддержана базовым проектом ПФНИ ГАН на 2017–2020 гг. (VI.62.1.5, 0309-2016-0003), проектом РФФИ (16-04-00603).

ЛИТЕРАТУРА

1. Müller N., Weidinger E., Leitner B., Schwarz M.J. The role of inflammation in schizophrenia. *Frontiers in neuroscience*. 2015 Oct 21; 9: 372. doi: 10.3389/fnins.2015.00372.
2. Смирнова Л.П., Ермаков Е.А., Бойко А.С., Бохан Н.А., Семке А.В., Иванова С.А. Антитела к нативной и денатурированной ДНК в сыворотке крови больных шизофренией в зависимости от клинических особенностей заболевания. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016; 116(4): 47–51. doi: 10.17116/jnevro20161164147-51.
3. Benros M.E., Nielsen P.R., Nordentoft M., Eaton W.W., Dalton S.O., Mortensen P.B. Autoimmune diseases and severe infections as risk factors for schizophrenia: a 30-year population-based register study. *American Journal of Psychiatry*. 2011 Dec 1; 168(12): 1303–10. doi: 10.1176/appi.ajp.2011.11030516.
4. Ermakov E.A., Smirnova L.P., Parkhomenko T.A., Dmitrenko P.S., Krotchenko N.M., Fattakhov N.S., Bokhan N.A., Semke A.V., Ivanova S.A., Buneva V.N., Nevinsky G.A. DNA-hydrolysing activity of IgG antibodies from the sera of patients with schizophrenia. *Open biology*. 2015 Sep 16; 5(9): 150064. doi: 10.1098/rsob.150064.
5. Issler O., Chen A. Determining the role of microRNAs in psychiatric disorders. *Nature Reviews Neuroscience*. 2015 Mar 20; 16(4): 201–212. doi: 10.1038/nrn3879.

НАРУШЕНИЕ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ ПАРАНОИДНОЙ ШИЗОФРЕНИЕЙ

А.С. Кадачegov

КГБУЗ «Красноярский краевой психоневрологический диспансер № 1», г. Красноярск, Россия

Аннотация

Данное исследование показало, что многие аспекты протекания параноидной шизофрении в сочетании с сахарным диабетом II типа до настоящего времени остаются неизученными. Необходимы дополнительные исследования, направленные на изучение патогенетических механизмов протекания параноидной шизофрении, коморбидной с сахарным диабетом II типа, что позволит прояснить взаимосвязь между шизофренией и сахарным диабетом. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о биологической общности шизофрении и сахарного диабета II типа, необходимости более тщательного отношения к соматическому здоровью пациентов, страдающих параноидной шизофренией. Эти данные могут быть использованы врачами при планировании диагностики и лечения шизофрении и сахарного диабета, делая акцент на комплексном обследовании с последующим динамическим наблюдением. Проводимые мероприятия будут способствовать улучшению качества жизни и состояния здоровья больных, страдающих тяжелыми психическими расстройствами.

Ключевые слова: шизофрения, сахарный диабет, нарушение углеводного обмена.

A VIOLATION OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN PATIENTS WITH PARANOID SCHIZOPHRENIA

A.S. Kadachegov

Regional state Budgetary institution of health care «Krasnoyarsk regional psychoneurological clinic № 1», Krasnoyarsk, Russia

Abstract

This study has shown that many aspects of paranoid schizophrenia in combination with type II diabetes are still unexplored. More research is needed aimed at studying the pathogenetic mechanisms of paranoid schizophrenia, comorbid with type II diabetes, which will clarify the interconnection between schizophrenia

and diabetes. On the basis of the data obtained, it can be concluded that the biological community of schizophrenia and type II diabetes, the need for a more careful attitude to the somatic health of patients suffering from paranoid schizophrenia. These data can be used by doctors in the planning of diagnosis and treatment of schizophrenia and diabetes, putting emphasis on comprehensive survey with the subsequent dynamic observation. These activities will contribute to improving the quality of life and health of patients suffering from severe mental disorders.

Keywords: schizophrenia, diabetes mellitus, carbohydrate metabolism disorder.

Введение. В настоящее время неуклонно растет показатель сопутствующей соматической патологии у больных, страдающих психическими расстройствами.

По данным последних исследований, у пациентов, страдающих шизофренией, наравне с патологией сердечно-сосудистой системы, на первый план выходят заболевания обмена веществ, которые находятся в тесной патогенетической связи и отягощают протекание друг друга. На примере сахарного диабета, который является одной из 10 главных причин смертности во всем мире и одной из ведущих медико-социальных и экономических проблем, можно проследить рост соматической заболеваемости как в общей популяции, так и у пациентов, страдающих тяжелыми психическими заболеваниями.

Цель исследования – провести сравнительный анализ течения параноидной шизофрении, коморбидной с сахарным диабетом II типа.

Материал и методы. Исследование проводилось на базе женского отделения стационара Красноярского краевого психоневрологического диспансера № 1 в 2013–2017 гг. В исследование были включены 21 пациентка, страдающие параноидной шизофренией и сахарным диабетом II типа, находившиеся на стационарном лечении повторно. Средний возраст больных $58,2 \pm 12,1$ года. Исключались из исследования пациенты с впервые выявленным сахарным диабетом, с терминальными стадиями осложнений диабета, тяжелыми сопутствующими соматическими заболеваниями и в остром психотическом состоянии. В качестве основных использовались клинико-психопатологический, соматический и статистический методы исследования. Установление диагноза «параноидная шизофрения», определение типа течения данного заболевания проводились в соответствии с диагностическими критериями МКБ-10.

Результаты. В ходе исследования были выявлены следующие закономерности. У всех пациенток основным был диагноз «Параноидная шизофрения», однако по типу течения были отмечены различия: у 6 больных (28,6 %) было установлено эпизодическое течение с нарастающим дефектом, у 15 женщин (71,4 %) тип течений заболевания был непрерывным. Ведущим синдромом при обращении за стационарной помощью в 15 случаях (71,4 %) был параноидный синдром; у 3 пациенток (14,3 %) – аффективно-бредовый; галлюцинаторный синдром выявлен у одной больной (4,8 %); выраженный эмоционально-волевой дефект отмечался у двух пациенток (9,5 %). Острое начало с аффективными расстройствами отмечалось в 17 случаях (81 %), постепенное начало с невротоподобной и ипохондрической симптоматикой – у 4 больных (19%). Также были проанализированы причины рецидива: у 16 пациенток (76,2 %) обострение возникало на фоне отказа от поддерживающего лечения, употребления алкоголя или ухудшения соматического состояния, в 5 случаях (23,8 %) рецидивы психического заболевания развивались без видимых причин.

Так как сахарный диабет приводит к сопутствующей соматической патологии, было принято решение оценить наличие соматических заболеваний у пациенток, включенных в исследование. Поражение сердечно-сосудистой системы было отмечено у 12 больных (57,1 %), поражение желудочно-кишечного тракта встречалось у 4 пациенток (19 %). Также известно, что развитию сахарного диабета II типа сопутствуют метаболические нарушения, для их анализа был рассмотрен индекс массы тела (ИМТ) у пациенток, включенных в исследование: нормальный ИМТ имели 2 пациентки (9,5 %), предожирение отмечалось в 5 случаях (23,8 %), ожирение I степени в двух случаях (9,5 %), ожирение II степени было выявлено у 4 больных (19 %), ожирение III степени у 3 больных (14,4 %). При проведении анализа динамики изменения уровня глюкозы показатели сахара в процессе лечения уменьшились, стали индифферентными у 10 пациенток (47,6 %), а без значительных изменений остались у 11 больных (52,4 %).

Согласно стандартам оказания психиатрической помощи, всем пациенткам было проведено лечение антипсихотическими препаратами, из них Галоперидол получали 14 пациенток (66,7 %), Кветиапин был назначен 6 пациенткам (28,6 %), Аминазин получали 9 больных

(42,9 %), Трифтазин был назначен в 5 случаях (23,8 %), Клозапин — двум больным (9,5 %), предпочтение отдавалось монотерапии, с последующим переводом на пролонгированные препараты.

Выводы. В ходе проведения исследования было показано, что многие аспекты протекания параноидной шизофрении в сочетании с сахарным диабетом II типа до настоящего времени остаются неизученными. Необходимы дополнительные исследования, направленные на изучение патогенетических механизмов протекания параноидной шизофрении, коморбидной с сахарным диабетом II типа с учетом генетической предрасположенности к развитию данных заболеваний, механизмов возникновения гипергликемии на фоне приема психотропных препаратов, биохимических факторов, позволяющих прояснить взаимосвязь между шизофренией и сахарным диабетом, определения факторов риска.

Исходя из полученных данных о частом сочетании психической патологии и нарушений метаболизма глюкозы, можно сделать вывод о биологической общности шизофрении и сахарного диабета II типа, необходимости более тщательного отношения к соматическому здоровью пациентов, страдающих параноидной шизофренией, с учетом повышенного риска развития сахарного диабета II типа. Эти данные могут быть использованы врачами при планировании диагностики и лечения шизофрении и сахарного диабета, делая акцент на комплексном обследовании на ранних этапах с последующим динамическим наблюдением. Проводимые мероприятия будут способствовать улучшению качества жизни и состояния здоровья у больных, страдающих тяжелыми психическими расстройствами.

РЕПЕРТУАР НЕВЕРБАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ДЕМЕНЦИЕЙ АЛЬЦГЕЙМЕРСКОГО ТИПА

И.Н. Коптев

Бюджетное учреждение высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа Югры «Сургутский государственный университет», г. Сургут, Россия

Аннотация

В результате динамического анализа невербального поведения 52 больных деменцией альцгеймеровского типа составлен нозотипический глоссарий ADEC (Alzheimer's Dementia Ethological Checklist – Контрольный перечень этологических признаков альцгеймеровской деменции), который включает 27 элементов, 28 простых комплексов и 37 сложных комплексов невербального поведения. Использование глоссария детализирует семиотику деменции альцгеймеровского типа, позволяет максимально объективизировать её распознавание и верифицировать клинический диагноз.

Ключевые слова: деменция альцгеймеровского типа, невербальное поведение, этологическая семиотика, верификация диагноза.

REPertoire OF NONVERBAL BEHAVIOR OF PATIENTS WITH ALZHEIMER'S DEMENTIA

I.N. Koptev

Surgut State University, Surgut, Russia

Abstract

As a result of the dynamic analysis of nonverbal behavior of 52 patients with Alzheimer's dementia, the nosotypic ADEC glossary (Alzheimer's Dementia Ethological Checklist), which includes 27 elements, 28 simple complexes and 37 complex complexes of nonverbal behavior, is compiled. The use of the glossary details the semiotics of Alzheimer's dementia, allows for maximum objectification of its recognition and verifies the clinical diagnosis.

Keywords: Alzheimer's dementia, nonverbal behavior, ethological semiotics, diagnosis verification.

Этология, изучающая биологические закономерности невербального поведения живых существ, включая человека, получила статус самостоятельной науки в 1973 году, когда австриец К. Lorenz, голландец N. Tinbergen и немец К. von Frish получили Нобелевскую премию за этологические исследования в номинации «физиология и медицина». Однако ещё в 1960-е годы анализ специфики невербального поведения был использован D. Ploog для объективизации и верификации различных психических расстройств [1]. В 1977 году появился термин «этологическая психиатрия» [2]. Наиболее продуктивный этологический анализ поведения психически больных проводился в 1982–2002 гг. в рамках т.н. Крымского проекта, важными промежуточными результатами которого стали разработка универсального глоссария по исследованию невербального поведения человека, включающего в себя 405 разной сложности признаков, и публикация книги «Этология в психиатрии» [3], по сей день не имеющей аналогов в отечественной литературе.

Тем не менее широкие возможности этологического метода, по нашим наблюдениям, редко используются в диагностической практике отечественных психиатров [4], что определяет очевидную актуальность нашего исследования.

С целью систематического описания соответствующих этологических признаков мы в период 2015–2017 гг., заручившись письменным информированным согласием законных представителей, изучили в статике и динамике особенности невербального поведения 52 пациентов с клиническим диагнозом «Деменция в связи с болезнью Альцгеймера» (шифры по МКБ-10: F00.0 и F00.1), у которых нейродегенеративный процесс был подтверждён МРТ-данными. Для этого с периодичностью 6 месяцев осуществлялась 15-минутная видеофиксация этологического репертуара у каждого больного с последующей покадровой дискриминацией нозотипических элементов, простых паттернов и сложных (контекстных) форм невербального поведения с использованием вышеуказанного универсального глоссария. Степень выраженности признаков оценивалась по совокупности наблюдений, согласно 7-балльной шкале HESS (Human Ethological Signs Scale – Шкала этологических признаков человека) [5]:

- 1 балл – Отсутствует – Определение признака неприменимо.
- 2 балла – Минимальная – Сомнительное присутствие признака.
- 3 балла – Умеренная – Признак возникает на короткое время, регулярно, проявляется отчётливо, преимущественно в ситуационном (средовом) контексте.
- 4 балла – Средняя – Признак возникает на короткое время, регулярно, проявляется отчётливо, в том числе вне ситуационного (средового) контекста.
- 5 баллов – Резкая – Признак возникает часто, проявляется отчётливо, вне зависимости от ситуационного (средового) контекста и сохраняется достаточно продолжительное время.
- 6 баллов – Яркая – Признак присутствует почти постоянно, проявляется отчётливо, вне зависимости от ситуационного (средового) контекста.
- 7 баллов – Грубая – Признак присутствует постоянно, акцентирован в общем репертуаре поведения, проявляется вне зависимости от ситуационного (средового) контекста.

Как семиотически значимые квалифицировались признаки, выраженность которых соответствовала величине от 4 до 7 баллов.

В результате проведённого исследования нами был составлен нозотипический глоссарий ADEC (Alzheimer's Dementia Ethological Checklist – Контрольный перечень этологических признаков альцгеймеровской деменции), включающий 27 элементарных единиц, 28 простых комплексов и 37 сложных комплексов невербального поведения больных.

ЭЛЕМЕНТЫ ПОВЕДЕНИЯ: брови постоянно поднятые, горизонтальные морщины на лбу, расширенные веки, слезы, отвисшая нижняя губа, хоботок, «рыбий» рот (полухоботок с открытием рта), жевание, облизывание, поза стоя – подчинения, поза сидя – заключённого, обе руки фиксированы на туловище (в т.ч. подмышками), обе руки фиксированы на пахе, обе руки фиксированы на голове, рука поглаживает руку, кукиш, прямое положение туловища, плечи опущены, голова прямо, коленный угол менее 90°, колени сведены, ступни сведены, речь тихая, продолжительные паузы в речи, медленный темп речи, монотонность голоса, индивидуальные затруднения в произношении отдельных звуков, их искажение или растягивание;

ПРОСТЫЕ КОМПЛЕКСЫ: жест покорности, жест смущения, жест скрытой тревоги, амимия, мимика удивления, мимика тревоги, мимика плача, мимика тупости, непонимания, глазной контакт короткий, приветствие на расстоянии отсутствует, индивидуальное расстояние удлиняется в ходе беседы, ориентация при контакте с тенденцией к отворачиванию, опускание плеч, уменьшение плеч, реакция плеча (приподнимание плеч с опусканием го-

ловы – как признак испуга или элемент прятания), вздрагивание туловища при внезапном раздражителе, яктация, аутогруминг, аллогруминг, манипулирование частью тела, манипулирование пищей, «игра пальцами», онихофагия, хейлофагия, трихотилломания, гортанное покашливание, синдром «зеркала» (в сочетании с грумингом), бормотание, стереотипии моторики и невербальных компонентов речи;

СЛОЖНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ПОВЕДЕНИЯ: походка медленная, слабое участие рук в ходьбе, мизофилия, неряшливость, предпочтение старой одежды, хоардомания, силлогомания, инверсия ритма сон-бодрствование, позднее засыпание, раннее пробуждение, булимия, полифагия, анорексия, копрофагия, полидипсия, манипулирование пищей, оральные движения вне речи, редукция исследовательского поведения, эхо-симптомы, осторожное поведение при появлении в помещении, отказ от посещения (врачебного кабинета, процедурной, ванной, столовой), круговые треки в границах территории, челночные треки в границах территории, беспорядочные треки в границах территории, фиксация в одном месте (в т.ч. в пределах постели), маркировка территории испражнениями, маркировка территории пищевыми отходами, маркировка территории окурками, маркировка территории предметами личного обихода, миграция (включая предварительные «сборы в дорогу»), контактная аллоагрессия (непосредственное нападение, удар, укус, прижигание сигаретой), аутоагрессивная скарификация, переадресация агрессии (повреждение окружающих предметов, одежды), конфликтное взаимодействие с незнакомцами, подчинённое поведение, редукция родительского поведения, проявление не свойственной прежде пассивной гомосексуальной ориентации, редукция игрового поведения.

Таким образом, анализ невербального поведения с использованием классического этологического инструментария значительно обогащает и детализирует существующие представления о семиотике деменции альцгеймеровского типа, позволяет максимально объективизировать её распознавание и верифицировать клинический диагноз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ploog D. Verhaltensforschung und psychiatrie. In: Gruhle HW, Jung R, Mayer-Gross W, Muller M (Hrsg). Psychiatrie der Gegenwart. Göttingen: Springer Verlag. 1964; 292–442.
2. McGuire M., Fairbanks L. Ethological Psychiatry: Psychopathology in the Context of Evolutionary Biology. Grune & Stratton, Australia. 1977. 240.
3. Корнетов А.Н., Самохвалов В.П., Коробов А.А., Корнетов Н.А. Этология в психиатрии. Киев: Здоров'я; 1990; 215.
4. Гильбурд О.А. Анализ невербального поведения как способ верификации клинического диагноза. Вестник СурГУ. Медицина. 2009; 3: 57–66.
5. Гильбурд О.А. Шизофрения: семиотика, герменевтика, социобиология, антропология. М.: Видар-М; 2007. 360.

ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОМА СЫВОРОТКИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С РАССТРОЙСТВОМ АДАПТАЦИИ

А.А. Летова¹, А.А. Серегин², Е.М. Дмитриева²

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия¹

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

В статье представлены предварительные результаты сравнительного протеомного анализа белков сыворотки крови у пациентов с расстройством адаптации и здоровых доноров. В результате масс-спектрометрического анализа выявлены четыре белка, которые обнаруживаются только у пациентов с расстройством адаптации: секреторный актин-связывающий белок (16562 Да), специфический фактор удлинения глюкокортикоидных рецепторов AF1(46240 Да), ингибитор 3 компонента интер-альфа-трипсина (93402 Да) и гипотетический белок (14466 Да) с неизвестной функцией. Обнаруженные белки могут внести уточнения в патогенез данного расстройства и стать потенциальными патогенетическими маркерами.

Ключевые слова: расстройство адаптации, протеомный анализ белков.

FEATURES OF THE SERUM PROTEOME IN PATIENTS WITH ADJUSTMENT DISORDER

A.A. Letova¹, A.A. Seregin², E.M. Dmitrieva²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia¹

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

The article presents preliminary results of a comparative proteomic analysis of serum proteins in patients with adjustment disorder and healthy donors. As a result of the mass spectrometric analysis, four proteins were detected that are found only in patients with an adaptation disorder: secretory actin-binding protein (16562 Da), special inhibitory factor of elicitation of glucocorticoid receptors AF1 (46240 Da), inhibitor of 3 component of inter-alpha-trypsin (93402 Da) and a hypothetical protein (14466 Da) with an unknown function. Discovered proteins can refine the pathogenesis of this disorder and become potential pathogenetic markers.

Keywords: adaptation disorder, proteomic analysis of proteins.

Психогенные психические расстройства характеризуются большой распространенностью в популяции – до 20%. Это состояние субъективного дистресса и эмоционального расстройства, создающее трудности для общественной деятельности и поступков, возникающее в период адаптации к значительному изменению в жизни или стрессовому событию. Такими событиями могут являться утрата близкого человека, разрыв значимых отношений, смена социального статуса. В основе патогенеза данного заболевания лежит классическая теория стресса, однако многие его аспекты всё ещё остаются неизвестными. Психопатологические проявления расстройства очень различны, что затрудняет диагностику этого состояния.

На сегодняшний день является актуальным поиск параклинических критериев для упрощения процедуры диагностики психических расстройств.

Целью работы является проведение сравнительного протеомного анализа сыворотки крови пациентов с расстройством адаптации и здоровых лиц.

Материал и методы. В работе был проанализирован белковый спектр сыворотки крови 10 пациентов клиник НИИ психического здоровья с диагнозом расстройство адаптации и 10 здоровых лиц. Средний возраст пациентов – 32,6±2,2 года, контрольной группы – 40,3±14 лет. Исключающими критериями для обеих групп являлись наличие соматических и неврологических расстройств, а также наркомания и алкоголизм. Подготовка образцов включала в себя: очистку сыворотки крови от шести мажорных белков с помощью аффинной хроматографии, разделение белков с помощью 1-D электрофореза по Laemmli, трипсинолиз белков в геле с последующей экстракцией. Регистрацию масс-спектров проводили с помощью ВЭЖХ-масс-спектрометрии LTQ Velos (ThermoScientific). Масс-спектрометрия проведена на базе ЦКП «Протеом человека» «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича». Также было проведено исследование уровня кортизола в сыворотке крови у всех обследуемых. Статистическая обработка результатов была проведена с помощью точного критерия Фишера с поправкой Йетса и непараметрического критерия Манна – Уитни с использованием программы STATISTICA 10.0. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты. Результатом проделанной работы стало выявление четырех наиболее значимых для объяснения патогенеза расстройства адаптации белков: секреторный актин-связывающий белок (16562 Da), специфический фактор удлинения глюкокортикоидных рецепторов AF1 (46240 Da), ингибитор 3 компонента интер-альфа-трипсина (93402 Da) и гипотетический белок (14466 Da) с неизвестной функцией. Найденные белки имеют в качестве наиболее функционально значимой функцию модуляции иммунного ответа. При этом секреторный актин-связывающий белок, исходя из изменений в иммунной системе, известных при этом расстройстве, вероятно, является основным действующим звеном в их реализации. Два других белка, очевидно, реализуют адаптивный ответ организма на стрессовое воздействие психогенного фактора. В соответствии с данными литературы ингибитор 3 компонента интер-альфа-трипсина, кроме способности выступать в качестве противовоспалительного белка также является важным регулятором восстановления эпителия после повреждения [1, 2].

Наиболее интересной находкой с точки зрения патогенеза является белок специфического фактора элонгации глюкокортикоидных рецепторов AF1. Основная известная функция AF1 – участие в синтезе белка и ремоделировании цитоскелета, в частности, в глюкокортикоидных рецепторах. Для подтверждения этого факта и определения уровня психоэмоционального стресса у пациентов с расстройством адаптации дополнительно было проведено исследование уровня кортизола в сыворотке крови. Данный анализ проводился исходя из знания о том, что кортизол является одним из основных глюкокортикоидных гормонов, задействованных в патогенезе расстройства адаптации. В результате анализа был выявлен повышенный уровень концентрации кортизола у пациентов, достоверно отличающийся от показателей в группе психически здоровых лиц. Этот факт – увеличение функциональной активности рецепторного аппарата – подтверждается экспрессией белка специфического фактора удлинения глюкокортикоидных рецепторов.

Выводы. У пациентов с расстройством адаптации изменения в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе подтверждены экспрессией в сыворотке крови белка специфического фактора удлинения глюкокортикоидных рецепторов, в сочетании с увеличением количества кортизола, а изменения в иммунном ответе – секреторным актин-связывающим белком. Обнаруженные белки при дальнейшем более подробном исследовании смогут дать исчерпывающие ответы на вопросы, касающиеся патогенеза расстройства адаптации. Также выявленные белки смогут претендовать на роль маркерных белков данного заболевания.

Работа поддержана грантом РНФ №18-15-00053 «Поиск периферических маркеров ассоциированных с нарушением миелинизации головного мозга и патогенезом заболевания при шизофрении» 2018–2020 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Adair J. Inter- α -trypsin Inhibitor Promotes Bronchial Epithelial Repair after Injury through Vitronectin Binding. *J Biol Chem.* 2009; 284(25): 16922–16930.
2. Choi-Miura N.H. Quantitative measurement of the novel human plasma protein, IHRP, by sandwich ELISA. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* 2001; 24(3): 214–217

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА ТРАНСПОРТЁРА ДОФАМИНА SLC6A3 С ОТВЕТОМ НА АНТИДЕПРЕССИВНУЮ ТЕРАПИЮ И РЕМИССИЕЙ У БОЛЬНЫХ ДЕПРЕССИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

И.С. Лосенков¹, И.В. Пожидаев^{1,2}, Д.З. Османова^{1,2}

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

В настоящее время показано, что дизрегуляция в системе транспортёров моноаминов может быть одним из факторов патогенеза депрессии. Гены транспортёров моноаминовых нейромедиаторов являются перспективными мишенями для фармакогенетических исследований депрессии. Проведено изучение ассоциации гена переносчика дофамина SLC6A3 с ответом на антидепрессивную психофармакотерапию и ремиссией у больных с депрессивными расстройствами. Найдена ассоциация SNP rs2550956 с наличием ремиссии. Выявлена ассоциация SNP rs6347 с отсутствием ремиссии. Обнаружена ассоциация SNP rs464049 и rs1048953 с менее выраженным ответом на антидепрессивную психофармакотерапию на 28-й день лечения. Необходим дальнейший поиск генетических маркеров, ассоциированных с развитием ответа на антидепрессивную терапию.

Ключевые слова: депрессия, антидепрессивная психофармакотерапия, дофамин, транспортер дофамина.

ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS OF SLC6A3 GENE OF DOPAMINE TRANSPORTER WITH REMISSION AND ANTIDEPRESSIVE THERAPY RESPONSE IN PATIENTS WITH DEPRESSIVE DISORDERS

I.S. Losenkov¹, I.V. Pozhidaev^{1,2}, D.Z. Osmanova^{1,2}

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

At the present, it has been shown that dysregulation in the system of monoamine transporters can be one of the factors of the pathogenesis of depression. The genes of the transporters of monoamine neurotransmitters are promising targets for pharmacogenetic studies of depression. The association of the dopamine transporter gene SLC6A3 with a response to antidepressant psychopharmacotherapy and remission in patients with depressive disorders has been studied. The association SNP rs2550956 with the presence of remission was found. The SNP rs6347 association was found with no remission. An association SNP rs464049 and rs1048953 with a less pronounced response to antidepressant psychopharmacotherapy on the 28th day of treatment was detected. It is necessary to further search for genetic markers associated with the development of a response to antidepressant therapy.

Keywords: depression, antidepressive psychopharmacotherapy, dopamine, dopamine transporter.

Актуальность. Проблема психофармакотерапии депрессии в настоящее время является весьма актуальной, при этом стратегия терапии и профилактики депрессии до сих пор остается широко обсуждаемым вопросом в научной и клинической психиатрии. Насущной остается проблема недостаточной эффективности современных препаратов, когда эффект плацебо сравним с действием собственно лекарств. Более того, в психиатрической клинике отсутствуют четкие представления, позволяющие прогнозировать формирование ответа на психофармакотерапию, становление ремиссии, переносимость фармакологических воздействий, развитие побочных эффектов [1]. Согласно самой первой гипотезе, аффективные расстройства являются следствием нарушения центрального метаболизма нейромедиаторов моноаминергической природы: серотонина, норадреналина и дофамина [2]. В настоящее время показано, что дисрегуляция в системе транспортеров моноаминов может быть одним из факторов патогенеза депрессии [3,4]. В с вышесказанным можно отметить, что гены транспортеров моноаминовых нейромедиаторов являются перспективными мишенями для фармакогенетических исследований депрессии.

Целью исследования явился поиск ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP) гена *SLC6A3* (транспортер дофамина) с ответом на антидепрессивную терапию и ремиссией у больных депрессивными расстройствами.

Материалы и методы. В исследование был включен 171 пациент (35 мужчин и 136 женщин) в возрасте от 20 до 60 лет с депрессивными расстройствами (96 пациентов с единственным депрессивным эпизодом (МКБ-10:F32), 75 пациентов с рекуррентным депрессивным расстройством (МКБ-10:F33)). Для терапии текущей депрессии применялись следующие группы антидепрессантов: селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (эсциталопрам, флуоксетин, пароксетин, флувоксамин, сертралин, циталопрам) – 57,9 %, ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина (дулоксетин, венлафаксин) – 10,9 %, норадренергические и специфические серотонинергические антидепрессанты (миртазапин, миансерин) – 1,3 %, трициклические антидепрессанты (кломипрамин, пипофезин) – 20,0 %, агомелатин – 9,9 %. Ответ на антидепрессивную терапию оценивался по шкале Clinical Global Impression Improvement (CGI-I) на 14-й и 28-й дни терапии. Факт наличия ремиссии устанавливался по критерию шкалы депрессии Гамильтона (HDRS-17) (балл равный 7 и ниже на 28-й день терапии).

ДНК выделяли из лейкоцитов цельной периферической крови. Для получения ДНК использовался стандартный фенол-хлороформный микрометод. Генотипирование проводили с помощью прибора TheMassARRAY® Analyzer 4 (AgenaBioscience™) набором SEQUENOM

Consumables I PLEXGold 384. Было прогенотипировано 12 SNP гена *SLC6A3*: rs3756450, rs2550956, rs6347, rs2617605, rs3863145, rs250686, rs464049, rs4975646, rs1048953, rs11133767, rs27048, rs40184.

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы SPSS 20.0. Распределение частот генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Сравнение частот генотипов и аллелей в группах пациентов с ремиссией и без таковой проводили по критерию χ^2 . Для независимых выборок достоверность различий определяли по критерию Краскела – Уоллиса с вычислением медианы и квартилей для балла по шкале CGI-I. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Проведено изучение зависимости балла по шкале CGI-I на 14-й и 28-й дни терапии от полиморфизмов гена *SLC6A3*. Показано, что пациенты с генотипом T/T SNPrs464049 имели больший балл по шкале CGI-I на 28-й день терапии (2,0 (1,0–2,0)) по сравнению с пациентами с генотипами C/C (1,0 (1,0–2,0)) и C/T (1,0 (1,0–2,0)) ($p=0,045$). Обнаружена тенденция ($p=0,053$) к повышению балла на 14-й день терапии (3,0 (2,0–3,0)) у гомозигот по аллелю TSNPrs1048953. Продemonстрировано, что наибольший балл по шкале CGI-I на 28-й день (2,0 (1,0–2,0)) имели пациенты с генотипом T/TSNPrs1048953 ($p=0,011$). Найдена тенденция ($p=0,056$) к повышению балла по шкале CGI-I на 28-й день (1,5 (1,0–2,0)) у гомозигот по аллелю TSNPrs27048.

Изучено распределение генотипов и аллелей SNP в группах пациентов с ремиссией и без таковой. Распределение генотипов SNP гена *SLC6A3* находилось в согласии с равновесием Харди – Вайнберга ($p > 0,05$), за исключением следующих SNP: rs6347 (в группах пациентов без ремиссии ($\chi^2=21,050$, $p < 0,001$) и с ремиссией ($\chi^2=22,84$, $p < 0,001$)), rs11133767 (в группе пациентов без ремиссии ($\chi^2=4,420$, $p=0,040$) и с ремиссией ($\chi^2=7,830$, $p=0,005$)). Найдена ассоциация SNPrs2550956 с наличием ремиссии. Генотип C/C не встречался в группе пациентов без ремиссии, в то время как его частота в группе пациентов с ремиссией составила 9,3 % ($p=0,027$) (OR=8,93, 95 % CI=0,52–152,39). Выявлена ассоциация SNPrs6347 с отсутствием ремиссии. Генотип G/G чаще встречался в группе пациентов без ремиссии (19,1 %) по сравнению с группой пациентов с таковой (6,9 %) ($p=0,041$) (OR=3,19, 95 % CI=1,19–8,53). Аллель G чаще встречался в группе пациентов без ремиссии (23,8 %) по сравнению с группой пациентов с ремиссией (15,0 %) ($p=0,050$) (OR=1,77, 95 % CI=0,98–3,19).

Выводы. Таким образом, изучение зависимости балла по шкале CGI-I от полиморфизмов гена *SLC6A3* показало, что пациенты с генотипом T/T SNPrs464049 имели больший балл по шкале CGI-I на 28-й день терапии по сравнению с пациентами с генотипами C/C и C/T. Обнаружена связь наличия аллеля T SNPrs1048953 гена *SLC6A3* с повышением балла по шкале CGI-I на 28-й день терапии. Изучена ассоциация SNP гена *SLC6A3* с ремиссией (критерий шкалы депрессии Гамильтона). Найдена ассоциация SNPrs2550956 гена *SLC6A3* с наличием ремиссии. Выявлена ассоциация SNPrs6347 гена *SLC6A3* с отсутствием ремиссии. На основании полученных данных можно предположить, что полиморфные варианты гена *SLC6A3* ассоциированы с ответом на антидепрессивную терапию, а также с ремиссией у больных депрессивными расстройствами. В частности, SNPrs464049, rs1048953 и rs6347 ассоциированы с менее благоприятным исходом терапии. Так как нейротрансмиттерные системы вовлечены в механизмы действия антидепрессантов, то необходим дальнейший поиск генетических маркеров, ассоциированных с развитием ответа на антидепрессивную терапию.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 14-35-00023 «Лаборатория фармакогенетических исследований персонализированной терапии психических и нейродегенеративных расстройств»

ЛИТЕРАТУРА

1. Krauter R.R., Cook S.S. Pharmacogenetics and the pharmacological management of depression. Nurse Pract. 2011; 36(10): 14–21.
2. Matussek N. Biochemistry of depression. J Neural Transm. 1972; 33(3): 223–234.
3. Brown G.W., Harris T.O. Depression and the serotonin transporter 5-HTTLPR polymorphism: a review and a hypothesis concerning gene-environment interaction. J Affect Disord. 2008; 111(1): 1–12.
4. Camardese G., Di Giuda D., Di Nicola M., Cocciolillo F., Giordano A., Janiri L., Guglielmo R. Imaging studies on dopamine transporter and depression: a review of literature and suggestions for future research. J Psychiatr Res. 2014; 51: 7–18.

КОГНИТИВНЫЕ РАССТРОЙСТВА У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ СУДОРОЖНЫЙ ПРИПАДОК, СТРАДАЮЩИХ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТЬЮ

И.В. Максимова

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск, Россия

Аннотация

Прогрессирующее нарушение интеллектуальных функций является характерной особенностью алкогольной зависимости. Когнитивные нарушения у лиц, страдающих хроническим алкоголизмом, выявляются в 50–70 % случаев, в 10 % случаев они носят выраженный характер, достигающий степени деменции. Сравнительный анализ когнитивных нарушений по шкале MMSE в результате лечения показал различия в восстановлении когнитивных функций между группами.

Ключевые слова: алкогольная зависимость, алкогольные психозы, большой судорожный припадок, когнитивные расстройства.

COGNITIVE DISORDERS IN PATIENTS WITH CONVULSIVE SEIZURE, SUFFERING FROM ALCOHOL DEPENDENCE

I.V. Maksimova

Krasnoyarsk state medical University named after Professor V. F. Voyno-Yasenetsky of the Ministry of health of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russia

Abstract

Progressive impairment of intellectual functions is a characteristic feature of alcohol dependence. Cognitive disorders in persons suffering from chronic alcoholism are detected in 50–70 % of cases, in 10 % of cases they are pronounced, reaching the degree of dementia. A comparative analysis of cognitive impairment on the MMSE scale as a result of treatment showed significant differences between groups.

Keywords: alcohol dependence, alcoholic psychosis, tonic-clonic seizure, cognitive disorder.

Актуальность. Последствия поражения головного мозга вследствие злоупотребления алкоголем известны давно [1–3]. Алкоголь является наиболее часто встречаемым экзогенным токсином, вызывающим энцефалопатию [4]. Прогрессирующее нарушение интеллектуальных функций является характерной особенностью алкогольной зависимости [5, 6]. Когнитивные нарушения у лиц, страдающих хроническим алкоголизмом, выявляются в 50–70 % случаев, в 10 % случаев они носят выраженный характер, достигающий степени деменции [7]. Алкогольная деменция составляет от 5 до 10 % всех деменций у лиц молодого возраста [8].

Цель исследования – оценить динамику когнитивных расстройств у пациентов, страдающих алкогольной зависимостью и перенесших генерализованный тонико-клонический приступ.

Материал и методы. Основную группу составили 83 пациента, перенесшие генерализованный тонико-клонический приступ (ГТКП), в сочетании с абстиненцией или делирием на фоне алкогольной зависимости. Группа сравнения включает пациентов с алкогольной зависимостью без ГТКП на момент поступления и составляет 66 человек. Все участники исследования находились на момент оценки их состояния на стационарном лечении в Красноярском краевом наркологическом диспансере № 1. В качестве основных методов исследования использовались клиничко-психопатологический; клиничко-динамический; статистический. Для оценки когнитивных нарушений использовалась Краткая Шкала Оценки Психического Статуса (MMSE).

Результаты и обсуждение. Всем пациентам, участвующим в исследовании, было проведено лечение согласно стандартам. Среди обследованных пациентов наличие ГТКП от-

мечалось у 83 лиц (55,7 %). Чаще всего – у 63 обследуемых (76 %) – приступы возникали в остром периоде алкогольного абстинентного синдрома. Они развивались в течение 48 ч от последнего употребления алкоголя или при снижении дозы употребляемого алкоголя.

После проведенного лечения отмечалась положительная динамика в группе контроля в виде отсутствия субъективных жалоб, уменьшения неврологической недостаточности: уменьшение тремора головы и конечностей – у 13 (20 %) пациентов. В основной группе значимых различий в изменении неврологического статуса не наблюдалось. Пациенты отмечали субъективное улучшение состояния, которое можно связать с отменой алкоголя на период лечения.

Сравнительный анализ полученных значений по шкале MMSE на фоне проводимого лечения показал значимые различия между группами. До лечения в основной группе средний балл составил 24 (min-max 18–29), в контрольной группе средний балл был 27 (min-max 23–30). После проведения комплексной терапии отмечалось значимое повышение суммарного показателя в баллах по шкале MMSE – до 29 (min-max 25–30) в контрольной группе и до 27 (min-max 22–30) в основной группе. Однако следует отметить, что в подгруппе пациентов, перенесших делирий с судорожным синдромом, улучшение когнитивных функций было менее выражено, что можно связать с тяжестью состояния и сопутствующим органическим поражением ЦНС.

Выводы. Лечение деменции при алкоголизме представляет сложную задачу. Основные направления терапии – прекращение приема алкоголя, назначение тиамина в комплексе с другими витаминами, нормализация питания, использование препаратов, действующих на нейротрансмиттерные системы. До настоящего времени развернутых исследований в этом направлении не проводилось, попытки применения препаратов, действующих на норадренергическую, серотонинергическую или холинергическую системы, были фрагментарны и с противоречивыми результатами. Обычно тиамин назначают перорально в дозе 50–100 мг/сут. Однако при алкоголизме всасывание тиамина нередко нарушено, поэтому возникает необходимость в парентеральном введении препарата. Больным также рекомендуют прием других витаминов группы В, никотиновой кислоты, витаминов С и Е. При этом надо учитывать и возможность ятрогений: назначение пиридоксина в высоких дозах (200 мг/сут.) само по себе может привести к развитию атаксии, а одновременный прием витамина А (кстати, его дефицит при алкоголизме возникает редко) и алкоголя может вызвать поражение печени. Следует заметить, что причиной прогрессирующей энцефалопатии у больных алкоголизмом при отсутствии положительного эффекта от тиамина может быть дефицит никотиновой кислоты (никотинамида). Кроме того, лечение больных алкоголизмом лишь витамином В1 может приводить к усилению симптоматики, обусловленной дефицитом никотинамида. Поэтому лечение больных алкогольной энцефалопатией проводят одновременным назначением тиамина (50–100 мг/сут) и никотиновой кислоты (10–50 мг/сут), к которым добавляют витамин В6 (1–3 мг/мг) [9, 10].

Исследование выделенных групп в процессе терапии показало, что прекращение злоупотребления алкоголем и проведение адекватной терапии (витаминотерапия, нормализация питания, использование препаратов, стимулирующих нейротрансмиттерные системы (пептиды, холинергики, нейрометаболиты, блокаторы NMDA-рецепторов)) приводит к восстановлению когнитивных функций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрианова Е.Д., Дамулин И.В., Сивопан Ю.П. Когнитивные расстройства при алкоголизме. Наркология. 2013; 12 (138): 79–85.
2. Катаманова Е.В., Рукавишников В.С., Лахман О.Л., Шевченко О.И., Денисова И.А. Когнитивные нарушения при токсическом поражении мозга. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2015; 115(2–1): 11–15.
3. Bernardin F, Maheut-Bosser A, Paille F. Cognitive impairments in alcohol-dependent subjects. Front Psychiatry. 2014; 5: 78.
4. de la Monte S.M., Kril J.J. Human alcohol-related neuropathology. Acta Neuropathol. 2014; 127 (1): 71–90.
5. Бохан Н.А., Иванова С.А., Мандель А.И., Жернова Е.В., Кисель Н.И. Когнитивные функции и процессы апоптоза у больных алкоголизмом: эффекты нейрометаболической коррекции. Наркология. 2012; 7: 51–55.
6. Welch K.A. Alcohol consumption and brain health. BMJ. 2017; 6.
7. Stavro K., Pelletier J., Potvin S. Widespread and sustained cognitive deficits in alcoholism: a meta-analysis. Addict. Biol. 2013; 18(2): 203–213.
8. Zanjani F, Downer B.G., Kruger T.M., Willis S.L., Schaie K.W. Alcohol effects on cognitive change in middle-aged and older adults. Aging. Ment. Health. 2013; 17(1): 12–23.
9. Зиновьева О.Е., Емельянова А.Ю. Неврологические проявления алкогольной болезни: роль витаминов группы В в лечении. Consilium Medicum. 2016; 18 (9): 133–138.
10. Казенных Т.В. Методологические подходы к реабилитации больных пароксизмальными состояниями. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2014; 2 (83): 74–77.

ИЗУЧЕНИЕ КАТАЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЗДНИХ АНТИТЕЛ БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ

И.А. Меднова¹, Е.А. Ермаков^{1,2}, П.Д. Лемешко³, Л.Е. Синянский³

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия²
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия³

Аннотация

Проведено изучение каталазной активности гомогенных препаратов IgG, выделенных из сыворотки больных шизофренией и здоровых лиц. Показано, что данная активность является собственным свойством антител. Каталазная активность абзимов больных в пять раз превышает аналогичную активность здоровых лиц. Кинетические параметры каталазной реакции IgG позволяют говорить о высоком родстве абзимов к субстрату и низкой скорости катализа.

Ключевые слова: абзимы, шизофрения, окислительный стресс.

THE STUDY OF THE CATALASE ACTIVITY OF LATE ANTIBODIES IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

I.A. Mednova¹, E.A. Ermakov^{1,2}, P.D. Lemeshko³, L.E. Sinianskii³

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Division of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia²
Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Siberian State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk, Russia³

Abstract

A study was made of the catalase activity of homogeneous IgG preparations isolated from serum in patients with schizophrenia and healthy individuals. It was shown that this activity is an inherent property of antibodies. The catalase activity of abzymes in patients is five times higher than in healthy people. The kinetic parameters of the catalase reaction of IgG allow speaking about the high affinity of the abzymes to the substrate and the low rate of catalysis.

Keywords: abzymes, schizophrenia, oxidative stress.

Актуальность. Шизофрения представляет собой полиморфное психическое расстройство, поражающее до 1 % населения. Несмотря на многолетние фундаментальные исследования шизофрении, этиология и патогенез данного заболевания остаются неизвестными.

Многочисленные исследования позволили выявить генерацию свободных радикалов и активных форм кислорода в организме больных шизофренией [1], а также значительное снижение антиоксидантных ферментов в эритроцитах у больных шизофренией [2], что в итоге может привести к накоплению токсических продуктов метаболизма и формированию окислительного стресса.

В последние два десятилетия было показано, что антитела могут обладать множеством различных каталитических функций. Возникает вопрос о возможности участия иммуноглобулинов в защите от окислительных повреждений организма.

На современном этапе представляют большой интерес последние полученные данные о субстратной специфичности антител здоровых людей, обладающих окислительно-восстановительной активностью. При изучении сывороточных IgG здоровых доноров было установлено наличие у них пероксидазной и оксидоредуктазной активности. При этом дан-

ные абзимы эффективно окисляли различные химические соединения. Был сделан вывод, что специфические поликлональные абзимы могут служить дополнительной природной системой детоксикации активных форм кислорода, разрушая перекись водорода и другие мутагенные, токсичные и канцерогенные соединения [3].

При шизофрении были описаны каталазная, супероксиддисмутазная и пероксидазная активности IgG [4, 5]. Причем было показано, что не только полные IgG, но также и фрагменты Fab и F(ab)₂ больных шизофренией обладают каталазной активностью, значительно варьирующей от пациента к пациенту. Кроме того, IgG, как пациентов, так и здоровых обладают металлозависимой и независимой каталазной активностью и при добавлении ионов двухвалентных металлов их активность значительно увеличивается [5]. Эти данные говорят об индивидуальных особенностях каталазной активности IgG у каждого человека и о крайнем разнообразии абзимов. Однако вопрос об их роли в развитии данной патологии остается открытым.

Материал и методы. В исследование вошли 43 человека с подтвержденным диагнозом шизофрении, контрольную группу составили 35 здоровых лиц. В качестве материала исследования использовалась сыворотка периферической крови. Выделение IgG проводили с помощью аффинной хроматографии на колонках с протеин G- сефарозой. Гомогенность препаратов доказывали с помощью 1D электрофореза в полиакриламидном геле и высокоэффективной гель-фильтрации в условиях кислого шока. Каталазную активность антител определяли спектрофотометрически. Величина k_m оценивалась с помощью метода нелинейной регрессии с использованием программы Origin Pro 8.6. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ SPSS Statistics v.11.0. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты. Нами подтверждено, что IgG здоровых лиц и больных шизофренией обладают каталазной активностью. На основе анализа сродства к аффинному субстрату, гомогенности выделенных IgG и гель-фильтрации в условиях кислого шока доказано, что исследуемые активности являются собственным свойством антител. При исследовании каталазной активности IgG у больных было обнаружено статистически достоверное увеличение активности в 5 раз по сравнению с контрольной группой.

Для определения кинетических параметров строили график зависимости скорости каталазной реакции IgG от концентрации субстрата и рассчитывали значения k_m . При анализе кинетических параметров каталазной реакции, катализируемой IgG получены величины k_m , значительно меньшие, чем у нативных ферментов. Это говорит о большем сродстве абзимов к субстрату, что вполне закономерно, так как основная функция IgG – это связывание различных антигенов. В результате этого образуется более прочный фермент-субстратный комплекс, на диссоциацию которого тратится больше времени, поэтому IgG обладают меньшей скоростью катализа по сравнению с ферментами.

Выводы

1. Показано, что IgG здоровых лиц и больных шизофренией обладают каталазной активностью. На основе анализа сродства к аффинному субстрату, гомогенности выделенных IgG и их гель-фильтрации в условиях рН-шока доказано, что исследуемая активность является собственным свойством антител.

2. IgG больных шизофренией обладают каталазной активностью, которая в пять раз превышает данную активность у здоровых лиц.

3. Кинетические параметры каталазной реакции IgG позволяют говорить о высоком сродстве абзимов к субстрату и низкой скорости катализа.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-15-00053 «Поиск периферических маркеров, ассоциированных с нарушением миелинизации головного мозга и патогенезом заболевания при шизофрении» 2018–2020 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Emiliani F.E., Sedlak T.W., Sawa A. Oxidative stress and schizophrenia: recent breakthroughs from an old story. Current opinion in psychiatry. 2014; 27(3): 185.
2. Щигорева Ю.Г., Смирнова Л.П., Кротенко Н.М., Бойко А.С., Корнетова Е.Г., Семке А.В. Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах периферической крови у больных шизофренией с tardивной дискинезией. Современные проблемы науки и образования. 2013; 5: 341–341.
3. Tolmacheva A.S., Ermakov E.A., Buneva V.N., Nevinsky G.A. Substrate specificity of healthy human sera IgG antibodies with peroxidase and oxydoreductase activities. Royal Society Open Science. 2018 Jan 31; 5(1): 171097. doi: 10.1098/rsos.171097
4. Ермаков Е.А., Меднова И.А., Синянский Л.Е. Абзимы с оксидоредуктазной активностью. Материалы 54-й Международной научной студенческой конференции МНСК-2016. Новосибирский государственный университет, 2016. 25.

5. Ermakov E.A., Smirnova L.P., Bokhan N.A., Semke A.V., Ivanova S.A., Buneva V.N., Nevinsky G.A. Catalase activity of IgG antibodies from the sera of healthy donors and patients with schizophrenia. PLoS One. 2017 Sep 25; 12(9): e0183867. doi: 10.1371/journal.pone.0183867.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *GRIN2A* И *SLC1A2* С ЛЕВОДОПА-ИНДУЦИРОВАННЫМИ ДИСКИНЕЗИЯМИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Ю.С. Миронова¹, А.С. Бойко², И.А. Жукова¹, А.В. Латыпова¹,
О.П. Ижболдина¹

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия¹
Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

Патогенез развития леводопы-индуцированных дискинезий на фоне длительного лечения болезни Паркинсона изучен недостаточно. На сегодняшний день появляется все больше информации о возможной роли глутаматергической системы в развитии данных осложнений. **Целью работы** явилось изучение полиморфных вариантов генов NMDA-рецептора и транспортера глутамата *SLC1A2* при лекарственно-индуцированных дискинезиях у пациентов с болезнью Паркинсона. Обследовано 187 пациентов с болезнью Паркинсона, длительно получающих терапию препаратами леводопы. Выявлены ассоциации полиморфизма *rs2650427* гена *GRIN2A* с развитием леводопы-индуцированных дискинезий при болезни Паркинсона. В отношении полиморфизма *rs1969060* гена *GRIN2A* наблюдалось повышение частоты встречаемости генотипа GG у пациентов с лекарственными осложнениями. Полученные результаты могут свидетельствовать о важной роли полиморфных особенностей генов глутаматергической системы в развитии двигательных осложнений лечения болезни Паркинсона.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, леводопы-индуцированные дискинезии, глутаматергическая система, полиморфизмы генов.

ASSOCIATION BETWEEN POLYMORPHISMS OF THE *GRIN2A* AND *SLC1A2* GENE AND LEVODOPA-INDUCED DYSKINESIA IN PARKINSON'S DISEASE

Yu.S. Mironova¹, A.S. Boiko², I.A. Zhukova¹, A.V. Latypova¹, O.P. Izhboldina¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia¹
Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of
Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

The pathogenesis of levodopa-induced dyskinesias as a treatment complication in advanced Parkinson's disease has not been entirely understood. To date, more information is emerging about the possible role of the glutamatergic system in the development of these complications. Our research aimed to study the polymorphic variants of the NMDA-receptor genes and the glutamate transporter gene *SLC1A2* in drug-induced dyskinesias in patients with Parkinson's disease. We examined 187 Parkinson's disease patients who were treated with levodopa. The associations of *rs2650427* polymorphism of *GRIN2A* gene with the development of levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease have been revealed. Concerning the *rs1969060* polymorphism of the *GRIN2A* gene, there was an increase in the frequency of occurrence of the GG genotype in patients with drug-induced complications. The obtained results may indicate the critical role of glutamatergic system gene polymorphisms in the development of levodopa-induced motor complications in Parkinson's disease.

Keywords: Parkinson's disease, levodopa-induced dyskinesias, glutamatergic system, genetic polymorphisms.

Актуальность. Болезнь Паркинсона (БП) – неуклонно прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, связанное с поражением преимущественно nigrostriарных нейронов и нарушением функции базальных ганглиев, проявляющееся как моторными, так и немоторными симптомами [1]. The diagnosis is based on the results of clinical assessment. The accuracy of diagnosis improves with time and repeated assessments. Studies that require only inclusion of early cases of PD present a diagnostic challenge. Previous studies concluded that initial diagnoses of PD made by general neurologists were incorrect in 24% to 35% of the cases when patients were examined at autopsy. Experts in movement disorders are expected to have greater accuracy of initial diagnosis of PD. Objective\nTo determine the evolution of clinical diagnosis in patients with early PD made initially by experts in PD. Design\nEight hundred patients with mild parkinsonian symptoms (Hoehn and Yahr stage 1 or 2. Заместительная терапия леводопой является стандартом в лечении БП, особенно для облегчения моторных симптомов [2]. Однако длительная дофамин-замещающая терапия приводит к серьезным осложнениям – леводопа-индуцированным дискинезиям (ЛИД) [3], которые трудно поддаются лечению и неблагоприятно влияют на качество жизни пациентов [4]. В работах разных авторов активно рассматривается возможное влияние глутаматергической системы на возникновение дискинезий [5,6]. Полиморфные варианты генов *GRIN2A* и *GRIN2B*, кодирующих субъединицы рецептора N-метил-D-аспартата (NMDA), по литературным данным, связаны с защитным действием кофе на развитие БП [7]. Ген *SLC1A2* кодирует глутаматный транспортер второго типа, мутация в котором доказана в патогенезе таких заболеваний, как боковой амиотрофический склероз, эссенциальный тремор [8]. В то же время полиморфизмы генов глутаматергической системы изучены недостаточно и литературные данные являются противоречивыми.

Цель работы – изучение ассоциаций полиморфных вариантов генов глутаматергической системы *GRIN2A* и *SLC1A2* с ЛИД при БП.

Материал и методы. В исследование были включены 187 пациентов с подтвержденным клиническим диагнозом БП. Из них 111 (59,4 %) женщин и 76 (40,6 %) мужчин в возрасте от 40 до 89 лет. Средний возраст пациентов составил $68,4 \pm 9,2$ года, средний возраст дебюта заболевания – $60,9 \pm 9,8$ года, средняя продолжительность заболевания – $7,3 \pm 5,2$ года. Все пациенты получали комбинированную противопаркинсоническую терапию. Определение средней дозы дофаминергических препаратов производилось методом расчета эквивалентной дозы леводопы (LED) [9]. DDS develops in 3-4% of the Parkinson's disease (PD, которая составила $698,9 \pm 448,1$ мг/сут. Осложнения противопаркинсонической терапии в виде ЛИД описывали с помощью шкалы аномальных непроизвольных движений (Abnormal Involuntary Movement Scale).

Выделение ДНК и генотипирование 2 полиморфизмов гена *GRIN2A* (*rs1969060*, *rs2650427*) и 1 полиморфизма гена *SLC1A2* (*rs4354668*) проведено стандартными протоколами. Для статистического анализа применена программа SPSS 23.0.

Результаты. По наличию осложнения противопаркинсонической терапии больные с БП были разделены на 2 группы – с наличием ЛИД (40 пациентов) и без ЛИД (147 пациентов). Осложнения противопаркинсонической терапии чаще наблюдали у пациентов, имеющих акинетико-ригидно-дрожательную форму БП – 24 (60,0 %), и III стадию по шкале Хен и Яра – 27 (67,5%). Обследуемые, имеющие лекарственные дискинезии, характеризовались более длительным периодом заболевания: $10,9 \pm 4,8$ года – с ЛИД и $6,4 \pm 4,8$ года – без ЛИД. Кроме того, они имели более продолжительный период приема препаратов леводопы в анамнезе: $9,3 \pm 4,9$ года – с осложнениями и $4,5 \pm 4,4$ года – без осложнений.

Распределение генотипов исследуемых генов соответствовало закону Харди – Вайнберга, за исключением распределения частот генотипов для полиморфного варианта *rs1969060* гена *GRIN2A*. Ассоциаций полиморфизма *rs4354668* гена *SLC1A2* с ЛИД не было выявлено. Для полиморфного варианта *rs1969060* гена *GRIN2A* в группе пациентов с БП с ЛИД наблюдалось значимое повышение частоты встречаемости генотипа *GG* – 11,1 % и снижение частоты встречаемости генотипа *AG* – 2,8 % в сравнении с распределением в группе пациентов без ЛИД – 3,7 % и 14 % соответственно ($\chi^2=6,12$, $p=0,05$). В случае полиморфизма *rs2650427* гена *GRIN2A* у пациентов с ЛИД отмечалось повышение частоты встречаемости генотипа *CT* – 68,6 % и снижение частоты встречаемости генотипа *TT* – 8,6% при сравнении с показателями пациентов без ЛИД – 46,2 % и 20 % соответственно ($\chi^2=5,83$, $p=0,05$). Отношение шансов для генотипа *CT* полиморфизма *rs2650427* составляет 2,55 (95% CI: 1,15–5,62), что свидетельствует о predisponирующем эффекте в развитии лекарственных дискинезий у пациентов с БП.

Заключение. Проведенное исследование позволяет предполагать о возможной роли полиморфизмов *rs1969060* и *rs2650427* гена *GRIN2A* в развитии ЛИД у пациентов с БП. Однако необходимо дальнейшее исследование генов глутаматергической системы, что позволит прогнозировать фармакологический ответ на препарат и корректировать схему лечения, значительно повышая его эффективность и безопасность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jankovic J. The Evolution of Diagnosis in Early Parkinson Disease. *Archives of Neurology*. 2000; 57(3): 369. doi: 10.1001/archneur.57.3.369.
2. Yoo H.S., Chung S.J., Chung S.J., Moon H., Oh J.S., Kim J.S., Hong J.Y., Ye B.S., Sohn Y.H., Lee P.H. Presynaptic dopamine depletion determines the timing of levodopa-induced dyskinesia onset in Parkinson's disease. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2018; 45(3): 423–431. doi: 10.1007/s00259-017-3844-8.
3. Nutt J.G. Levodopa-induced dyskinesia: Review, observations, and speculations. *Neurology*. 1990; 40(2): 340–340. doi: 10.1212/wnl.40.2.340.
4. Pechevis M., Clarke C., Vieregge P., Khoshnood B., Deschaseaux V., Voinet C., Berdeux G., Ziegler M. Effects of dyskinesias in Parkinson's disease on quality of life and health-related costs: a prospective European study. *European Journal of Neurology*. 2005; 12(12): 956–963. doi: 10.1111/j.1468-1331.2005.01096.x.
5. Morin N., Morissette M., Grégoire L., Di Paolo T. mGlu5, dopamine D2 and adenosine A2A receptors in L-DOPA-induced Dyskinesias. *Current Neuropharmacology*. 2016; 14(5): 481–493. doi: 10.2174/1570159x14666151201185652.
6. Ivanova S., Loonen A., Pechlivanoglou P., Freidin M., Al Hadithy A., Rudikov E., Zhukova I., Govorin N., Sorokina V., Fedorenko O. Y. NMDA receptor genotypes associated with the vulnerability to develop dyskinesia. *Translational Psychiatry*. 2012; 2(1): e67–e67. doi: 10.1038/tp.2011.66.
7. Hamza T.H., Hill-Burns E.M., Scott W.K., Vance J.M., Factor S.A., Zabetian C.P., Payami H. Glutamate receptor gene GRIN2A, coffee, and Parkinson disease. *PLoS Genet*. 2014; 10(11): e1004774. doi: 10.1371/journal.pgen.1004774.
8. Iwayama Y., Hashimoto K., Nakajima M., Toyota T., Yamada K., Shimizu E., Itokawa M., Hoshika A., Iyo M., Yoshikawa T. Analysis of correlation between serum D-serine levels and functional promoter polymorphisms of GRIN2A and GRIN2B genes. *Neuroscience Letters*. 2006; 394(2): 101–104. doi: 10.1016/j.neulet.2005.10.025.
9. Никитина А.В., Федорова Н.В. Дофаминовый дизрегуляторный синдром при болезни Паркинсона. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2013; 1: 42–46.

ОСОБЕННОСТИ ПСИХОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПАЦИЕНТОВ С НЕВРОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

В.Б. Обуховская

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия

Аннотация

В работе представлены результаты исследования особенностей психологической безопасности (жизнестойкости, психологического благополучия, базисных убеждений) на примере пациентов с неврологической патологией. На основании анализа выявлены главные мишени для психологического вмешательства и медиаторные факторы пациентов с болезнью Паркинсона и рассеянным склерозом.

Ключевые слова: психологическая безопасность, неврологическая патология, жизнестойкость, психологическое благополучие, базисные убеждения.

FEATURES OF PSYCHOLOGICAL SAFETY OF PATIENTS WITH NEUROLOGICAL PATHOLOGY

V.B. Obukhovskaya

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

Abstract

The paper presents the results of the study of the features of psychological security (hardiness, psychological well-being, world assumptions) on the example of patients with neurological pathology. Based on the analysis we identified the main targets for psychological intervention and mediator factors of patients with Parkinson's disease and multiple sclerosis.

Keywords: psychological safety, neurological pathology, hardiness, psychological well-being, world assumptions.

Актуальность. По данным генеральной ассамблеи ООН, наличие неврологической патологии является важной причиной заболеваемости и вносит свой вклад в бремя глобальных неинфекционных болезней, поскольку каждый шестой житель планеты страдает от неврологических заболеваний [1, 2]. Болезнь Паркинсона (БП) и рассеянный склероз (РС) приводят к тяжелым психологическим, экономическим, социальным и соматическим последствиям для пациента, его окружения и государства в целом, что определяет актуальность изучения психологической безопасности для разработки способов преодоления заболеваний и оптимальных подходов к их управлению [3].

Материал и методы. Исследование осуществлялось на базе факультетских клиник ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. Общий объем выборки составил 40 испытуемых в возрасте от 50 лет до 81 года (средний возраст – $64 \pm 2,1$ года). Формирование экспериментальных групп осуществлялось по наличию неврологической патологии: пациенты с болезнью Паркинсона (G20) (20 человек) и с рассеянным склерозом (G35) (20 человек). Методами исследования являлись: шкала психологического благополучия К. Рифф; шкала базовых убеждений Р. Янов-Бульман; тест жизнестойкости С. Мадди; методы математической статистики.

Результаты. Исследование особенностей психологической безопасности включало рассмотрение компонентов жизнестойкости, психологического благополучия, базисных убеждений пациентов с неврологической патологией.

Психологическое благополучие представляет собой самореализацию человека, нахождение баланса между запросами социума и развитием индивидуальности. Были проанализированы следующие показатели: позитивные отношения, автономия, управление окружением, личностный рост, цель в жизни, самопринятие (табл.1).

Таблица 1

Различия между исследуемыми группами по показателям психологического благополучия, баллы

Показатели, Ме (Q1-Q3)	Болезнь Паркинсона n=20	Рассеянный склероз n=20
Позитивные отношения	61 (56–65)	59 (53–63)
Автономия	64,5 (60–72) *	56 (55–67) *
Управление окружением	60 (54–67)	65 (59–69)
Личностный рост	54 (50–57)	61 (55–67)
Цель в жизни	55 (50–60)	61,5 (57–67)
Самопринятие	67 (63–73)	60 (59–64)
Психол.благополучие	370 (353–375)	366 (357–375)

Примечания: Ме – медиана; σ – стандартное отклонение (нижний и верхний квартиль); * – статистически достоверное различие на уровне значимости $p < 0,05$.

С помощью критерия Манна – Уитни достоверные различия обнаружены по показателю «Автономия». Представление о себе как о самостоятельном и независимом, способность противостоять обществу, самостоятельное регулирование собственного поведения, а также оценка себя в соотвествии с личными критериями характерны в большей степени для пациентов с БП, тогда как часть пациентов с РС (10 %) зависит от мнения и оценки окружающих, а в принятии важных решений полагаются на мнение других. Однако при определении частоты и степени выраженности показателей обнаружено, что 30 % обследуемых с БП и 10 % с РС осознают отсутствие развития, не имеют интереса к жизни, чувства или самореализации, испытывают скуку, а 20 % пациентов с БП лишены смысла жизни.

Базисные убеждения – это устойчивые представления индивида о мире и о себе, которые оказывают влияние как на мышление и эмоциональные состояния человека, так и на его поведение. Статистически достоверных различий по показателям базисных убеждений (благосклонность, осмысленность, ценность собственного Я) не обнаружено, однако, опираясь на уровень частоты и степень выраженности показателей, можно говорить о том, что ядро субъективного мира человека, базирующегося на вере в то, что в мире больше добра, чем зла, и убеждении относительно собственной ценности, способности управления событиями и везении, в большей степени характерно для пациентов с БП, когда как у 50 % больных с РС отмечаются низкие значения. На основании базисных убеждений можно говорить о личностной безопасности пациентов: в большинстве случаев в пределах нормы у пациентов с БП (за счет высоких значений показателей), в меньшей степени – у пациентов с РС (за счет низких значений).

При сравнении групп пациентов по показателям жизнестойкости (вовлеченность, контроль, принятие риска), которая представляет собой систему убеждений о себе, о мире и об отношениях с этим миром, её достоверных различий не обнаружено. Однако у пациентов обеих групп отмечается чувство отвергнутости, ощущение себя «вне» жизни (20–30 %), а у части пациентов с РС (20 %) – ощущение собственной беспомощности.

Выводы. Выявлены главные мишени для психологического вмешательства для пациентов с БП: личностный рост, цели в жизни, осмысленность мира и вовлеченность; для пациентов с РС: автономия и личностный рост, благосклонность окружающего мира, осмысленность мира, ценность собственного Я, вовлеченность и контроль. К медиаторным факторам относятся для пациентов с БП: автономия, самопринятие, благосклонность окружающего мира, ценность собственного Я; для пациентов с РС: личностный рост, цели в жизни и принятие риска.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 18-313-00195 мол_а

ЛИТЕРАТУРА

1. Каждый шестой человек на планете страдает неврологическими нарушениями [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.un.org/russian/news/story.asp?newsID=7115#.WJsUQfmLRaQ> (дата обращения: 6.02.2018).
2. *Neurological disorders: public health challenges.* WHO Library Cataloguing-in-Publication Data: World Health Organization. 2006; 232.
3. Kornetov A. Old age psychiatry: training in Siberia. *Mental Health Reforms.* 2002; 7(2): 7–8.

ОБМ-ГИДРОЛИЗУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

Д.А. Паршукова, В.С. Дубровская

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Вовлеченность иммунной системы в патогенез шизофрении была показана в большом количестве работ. При шизофрении отмечено нарушение взаиморегуляции нервной и иммунной систем, ведущее к активации гуморального иммунитета. В настоящей работе представлены доказательства того, что IgG, выделенные из сыворотки крови пациентов, больных шизофренией, катализируют специфический гидролиз человеческого основного белка миелина (ОБМ). Активность IgG к ОБМ у больных шизофренией более чем в 5 раз превосходит активность IgG здоровых лиц. ОБМ-гидролизующая активность антител у больных шизофренией сочетается с повышенным содержанием сывороточных IgG к ОБМ.

Ключевые слова: шизофрения, антитела, абзимы, каталитическая активность, основной белок миелина.

MBP-HYDROLYZING ACTIVITY OF IMMUNOGLOBULINS FROM THE SERUM OF PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

D.A. Parshukova, V.S. Dubrovskaya

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Involvement of the immune system in the pathogenesis of schizophrenia was shown in many articles. There is the observed dysregulation between the nervous and immune systems, which can lead to changes in brain structure and dysfunction of immune cells. This work presents evidence that polyclonal IgGs of schizophrenic patients have catalytic activity and can hydrolyze myelin basic protein. It has been found that relative activity of schizophrenic patient's IgGs against MBP was 5 times higher as compared to healthy control group. This

study also showed increase in serum level of IgG to MBP in group of schizophrenic patients is significantly higher as compared with healthy control group.

Keywords: schizophrenia, antibodies, abzymes, catalytic activity, myelin basic protein.

Актуальность. Шизофрения – прогрессирующее психическое заболевание, приводящее к стойкому нарушению социальной адаптации и инвалидизации больных в молодом возрасте. У больных шизофренией обнаружено повреждение гематоэнцефалического барьера наряду с сенсибилизацией к нейрогенным антигенам, в том числе появление антител к основному белку миелина (ОБМ) [1]. Антитела, способные катализировать биохимические реакции – абзимы – обнаруживаются при ряде заболеваний, сопровождающихся значительным нарушением гомеостаза иммунной системы. Каталитические антитела, способные гидролизовать основной белок миелина, обнаружены и детально исследованы при рассеянном склерозе и системной красной волчанке, патогенез которых связан с демиелинизацией оболочек нейронов, в результате чего возникает нарушение проведения нервных импульсов. При шизофрении обнаружены антитела с ДНК-гидролизующей активностью [2].

Материал и методы. В исследование было включено 40 пациентов (мужчины 52 % и женщины 48 %, возраст $39,4 \pm 9$ лет) с диагнозом шизофрения, клинически верифицированным, согласно МКБ-10, на базе клиник НИИ психического здоровья. Для оценки позитивной, негативной и общей психопатологической симптоматики использовалась стандартная международная психометрическая шкала PANSS. Иммуноглобулины G выделены методом аффинной хроматографии на колонках с ProteinG-Sepharose из крови больных шизофренией. На основании проверки строгих критериев (гомогенность, рН-шок) показано, что каталитическая активность является собственным свойством антител. Активность выделенных IgG, способных гидролизовать ОБМ и его олигопептиды, определялась с помощью методов тонкослойной хроматографии и электрофореза в полиакриламидном геле.

Результаты. В результате исследования показано, что IgG, выделенные из сыворотки крови больных шизофренией, гидролизуют нативный ОБМ и его пептиды (ОП-21, ОП-25). Активность IgG к ОБМ у больных шизофренией более чем в 5 раз превосходит активность IgG здоровых лиц и достигает 73,07 %. Антитела пациентов с ведущими негативными симптомами имеют более высокую активность (77,4 %), чем IgG пациента с ведущими позитивными симптомами (18,5 %) в случае реакции с ОП-21. В реакции с субстратом ОП-25 IgG больных с ведущими негативными симптомами демонстрируют уровень активности, равный 35,5 %, против 5 % в группе пациентов с ведущими позитивными симптомами. Протеолитическая активность абзимов подавляется специфическими ингибиторами сериновых протеаз (PMSF) и металлозависимых протеаз (EDTA), что соответствует механизму действия классических протеаз.

Выводы. Данные результаты отражают вовлечение гуморального звена иммунитета в патофизиологические процессы при шизофрении, а установление связи каталитических активностей антител с клиническими формами и стадиями развития заболевания может способствовать формированию лабораторных критериев оценки тяжести болезни и иметь прогностическое значение при терапии.

Работа поддержана грантом РНФ №18-15-00053 «Поиск периферических маркеров ассоциированных с нарушением миелинизации головного мозга и патогенезом заболевания при шизофрении» 2018–2020 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Parshukova D., Sedykh S., Smirnova L., Buneva V., Ivanova S., Semke A. Study of the level of IgG to myelin basic protein and their catalytic activity in schizophrenic patients. *European Neuropsychopharmacology*. 2016; 26: S215 doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-977X\(16\)31066-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-977X(16)31066-5).
2. Ermakov E.A., Smirnova L.P., Parkhomenko T.A., Dmitrenok P.S., Krotchenko N.M., Fattakhov N.S., Bokhan N.A., Semke A.V., Ivanova S.A., Buneva V.N., Nevinsky G.A. DNA-hydrolysing activity of IgG antibodies from the sera of patients with schizophrenia. *Open biology*. 2015 Sep 16; 5(9): 150064. doi: 10.1098/rsob.150064.

КОРЕННАЯ СИБИРЬ И ПРОБЛЕМА АЛКОГОЛЯ: КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ПОСЛЕДСТВИЯ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ СРЕДИ ТУВИНСКОГО ЭТНОСА

А.Г. Пешковская

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Утрата культурных, социальных, религиозных основ среди коренных народов Сибири вызвала существенный сдвиг в психическом здоровье, что привело к росту проблем, связанных с употреблением алкоголя. В данном исследовании особое внимание уделено уникальному коренному этносу Сибири – тувинцам. Результаты исследования свидетельствуют о большей уязвимости коренного тувинского этноса к воздействию алкоголя. Автор подчеркивает, что этнокультуральные компетенции определяют новые возможности для повышения эффективности терапии, профилактики и реабилитации алкогольной зависимости.

Ключевые слова: этническая принадлежность, коренные популяции, алкогольная зависимость, алкогольные психозы, когнитивные функции, память, мышление, когнитивный дефицит, тувинцы.

INDIGENOUS SIBERIA AND ALCOHOL: CLINICAL FEATURES AND CONSEQUENCES OF ALCOHOL DEPENDENCE AMONG TIVA ETHNOS

A.G. Peshkovskaya

Federal state budgetary institution «Russian scientific center of radiology and surgical technologies named after academician A. M. Granov» of the Ministry of health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

Loss of religious, cultural, social grounds by indigenous people of Siberia caused a substantial shift in mental health and increased the alcohol-related problems. Current research paid a special attention to the unique native people of Siberia, Tuvinians. Findings on Tuvinian and Russian patients revealed reliable differences in clinical and psychological characteristics of alcohol dependence. Findings suggested the greater vulnerability of the indigenous Tuvinian ethnos to the alcohol effects. Author underlined that competence in ethnic and cultural specifics of mental diseases determined new opportunities for heightening the efficiency of therapy, prevention and rehabilitation.

Keywords: ethnicity, indigenous people, alcohol dependence; alcohol related psychoses, cognitive functions, memory, reasoning, cognitive impairment, Tuvinian.

В Сибири и на Дальнем Востоке России проживают 65 малочисленных коренных народов, в том числе тувинцы, буряты, якуты, алтайцы. Наблюдающийся сегодня тренд к депопуляции коренного населения имеет объективные измерения в статистических, медицинских и психологических параметрах. Один из таких параметров – высокий уровень злоупотребления алкоголем [1–4].

Исследования проблемы употребления алкоголя и алкогольной зависимости среди коренных этносов Сибири получили значительное научное внимание в течение последних 3–4 десятилетий [5]. Однако критические пробелы в понимании истоков, последствий и подходов к терапии алкогольной зависимости среди коренных этносов по-прежнему остаются. Коренные популяции продолжают переживать наиболее пагубные последствия употребления алкоголя и имеют высокие темпы формирования зависимости. Новые данные генетических исследований также свидетельствуют о биологической уязвимости коренных этносов к воздействию алкоголя [6].

В настоящей работе представлены результаты исследования клинических особенностей и последствий алкогольной зависимости у представителей коренного населения Сибири – тувинского этноса.

В 2016 г. на территории Республики Тыва (РТ) было зарегистрировано 5 354 больных наркологическими расстройствами, или 1,7 % от общей численности населения республики, 78,1 % из которых – больные с алкогольной зависимостью, алкогольными психозами и лица, употребляющие алкоголь с вредными последствиями. Таким образом, проблема расстройств, связанных с употреблением алкоголя в РТ, продолжает оставаться актуальной.

Материал и методы. Выборку исследования составили 155 больных алкоголизмом и алкогольными психозами (АП), из которых 91 человек – лица тувинской национальности и 64 человека русской национальности. Испытуемые были распределены на четыре подгруппы в соответствии с этнической принадлежностью и наличием психотических расстройств в анамнезе. В работе применялись клиничко-анамнестический, клиничко-психопатологический, экспериментально-психологический и математико-статистический методы.

Результаты

1. Исследованием установлено, что тип течения алкогольной зависимости у тувинцев приобретает высокопрогредиентный характер – основные симптомы алкоголизма у тувинцев формируются в среднем за 2–2,5 года систематического употребления алкоголя, что в 2 раза быстрее, чем у русских ($p=0,0004$). Динамика алкогольной зависимости, сопровождающейся психотическими расстройствами, позволила выявить следующую тенденцию: сопоставимость возрастных клиничко-динамических показателей формирования алкоголизма у русских и тувинцев является прогностически неблагоприятным признаком для тувинцев с вероятным развитием психотических форм алкоголизма.

2. Когнитивный дефицит в ряду последствий алкогольной зависимости проявляется в первую очередь в нарушениях памяти, а именно в снижении продуктивности запоминания. Индекс продуктивности запоминания по методу «10 слов» Лурии показал снижение памяти у всех пациентов с алкогольной зависимостью. Тувинские пациенты без АП демонстрировали достоверно более низкий индекс продуктивности запоминания, чем русские: $4,65 \pm 0,41$ и $6,88 \pm 0,09$ слов соответственно ($p=0,017$). Вместе с тем снижение показателей памяти в когорте пациентов с АП оказалось значительно более выраженным, чем среди пациентов без АП ($p=0,040$), однако и у тувинцев, и русских с АП данные показатели были зафиксированы практически на одном уровне ($p=0,069$).

Исследование мышления методом Пиктограмм показало, что тувинские пациенты без АП имели более низкий индекс адекватности ассоциаций, чем русские ($p=0,047$). Кроме того, индекс адекватности ассоциаций у тувинских пациентов с АП был значительно ниже, чем у пациентов без АП ($p=0,005$). Таким образом, пациенты с алкогольными психозами испытывают большие трудности в построении реалистичной и содержательной ассоциативной связи, что ведет к продуцированию неадекватных ассоциаций и влияет на показатели мышления.

Выводы. Высокопрогредиентный характер алкогольной зависимости и специфика когнитивного дефицита являются отражением большей уязвимости коренного этноса к воздействию алкоголя. Неадекватное внимание к этническому фактору, который, несомненно, изменяет картину психического заболевания, часто приводит к ошибкам в диагностике, включая вопрос разграничения психической нормы и патологии, неверной терапевтической тактике и планированию профилактических мер.

Размещая наши результаты в глобальном контексте, отметим, что проблема высокого уровня злоупотребления алкоголем среди этнических групп в России аналогична таковой в других странах. В связи с этим необходимо, чтобы исследования, посвященные коренному населению и проблеме алкоголя, учитывали этнокультуральный аспект.

ЛИТЕРАТУРА

1. Krasnov V., Bokhan N. Russian Federation. Routledge Handbook of Psychiatry in Asia. Routledge, 2015. 18–26.
2. Jargin S.V. Alcohol and Alcoholism in Russia: Insider's Observations and Review of Literature. J Addiction Prevention. 2016; 4(1): 6.
3. Пешковская А.Г., Мандель А.И., Иванова С.А., Прокопьева В.Д. Влияние алкоголизма на когнитивные функции у представителей коренного населения Сибири. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2016; 4(93): 105–109.
4. Максимова И.В., Березовская М.А. Эпидемиологические исследования алкогольных расстройств в Красноярском крае. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2017; 1(94): 76–80.
5. Бохан Н.А., Мандель А.И., Пешковская А.Г., Бадырғы И.О., Асланбекова Н.В. Этнотерриториальная гетерогенность формирования алкогольной зависимости у коренного населения Сибири. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2013; 113(2): 9–14.
6. Panduro A., Ramos-Lopez O., Campollo O., Zepeda-Carrillo E.A., Gonzalez-Aldaco K., Torres-Valadez R., Roman S. High

frequency of the DRD2/ANKK1 A1 allele in Mexican Native Amerindians and Mestizos and its association with alcohol consumption. Drug Alcohol Depend. 2017 Mar 1; 172: 66–72. doi: 10.1016/j.drugaledep.2016.12.006

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНА ABCB1 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО МАРКЕРА ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ У ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ

И.В. Пожидаев¹, Л. Гирс²

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия¹
Научно-исследовательский институт фармации Гронингена, Университет Гронингена, Нидерланды²

Аннотация

Лекарственно-индуцированная гиперпролактинемия является одним из распространенных побочных эффектов при лечении шизофрении. Она значительно усложняет стратегию лечения и негативно сказывается на состоянии пациента. Исследование включало 446 пациентов с диагнозом шизофрении. Было изучено 8 аллельных вариантов гена белка множественной лекарственной устойчивости ABCB1. Были получены статистически значимые результаты по двум полиморфным вариантам (rs2032583, rs4148739), что позволяет предположить вовлеченность данных полиморфных вариантов в развитие гиперпролактинемии.

Ключевые слова: шизофрения, ген, ABCB1, полиморфный вариант, гиперпролактинемия, нейролептик.

THE STUDY OF GENE ABCB1 AS A POTENTIAL MARKER OF HYPERPROLACTINEMIA IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

I.V. Pozhidaev¹, L. Geers²

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of
Sciences, Tomsk, Russia¹
Groningen Research Institute of Pharmacy, University of Groningen, Groningen, The Netherlands²

Abstract

One of the common side effects is drug-induced hyperprolactinemia. It complicates the treatment strategy and has negative impact on the patient's condition. Our study included 446 patients, Russian population, with a diagnosis of schizophrenia. 8 polymorphic variants of multiple drug resistance gene ABCB1 were investigated. Statistically significant results were obtained for 2 polymorphic variants (rs2032583, rs4148739). This results allows us to suppose the involvement of these polymorphic variants in the development of hyperprolactinemia/

Keywords: schizophrenia, gene, ABCB1, polymorphic variant, hyperprolactinemia, neuroleptic.

Актуальность. Нейролептическая терапия является наиболее эффективным средством лечения шизофрении. Основное число побочных эффектов нейролептиков при их длительном использовании реализуется по нейроэндокринному механизму [1].

Лекарственно-индуцированная гиперпролактинемия является одним из тяжёлых побочных эффектов, осложняющим терапию для пациента и отягощающая его самочувствие. Для стратегии применения персонализированного подхода необходимо изучение генов, которые напрямую связаны с системой биотрансформации ксенобиотиков. Одним из наиболее перспективных является ген белка множественной лекарственной устойчивости ABCB1, который кодирует Р-гликопротеин (Pgp).

Ргр является трансмембранным белком и относится к системе биотрансформации лекарственных средств, которая обеспечивает защиту организма от ксенобиотиков, препятствуя их всасыванию и ускоряя выведение [2]. Субстратами Ргр являются многие широко применяемые лекарственные средства: сердечные гликозиды, блокаторы H1–гистаминовых рецепторов, некоторые цитостатики, антиретровирусные препараты, антипсихотические и

другие [3]. Экспрессия гена ABCB1 у мужчин в 2,4 раза выше, чем у женщин. Этот феномен может определять зависимость фармакокинетики некоторых лекарственных средств от пола [4]. Проведение генетического анализа полиморфных вариантов потенциальных генов-кандидатов необходимо для создания фармакогенетической базы, на основе которой будет не только назначаться лечение пациентам, но и позволит предупредить возможные осложнения в виде побочных эффектов, что крайне положительно скажется на состоянии пациентов.

Материал и методы. Исследование проводилось после получения информированного согласия: в исследование включили 446 пациентов, этнических русских, из них 225 женщин и 221 мужчина, средний возраст $42,1 \pm 1,4$ (от 18 до 77 лет включительно) с диагнозом параноидной шизофрении в соответствии с диагностическими критериями МКБ–10. В качестве материала для исследования была использована венозная кровь, из которой далее выделяли ДНК фенол-хлороформным методом. Определение содержания гормона пролактина в сыворотке крови проводилось иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител (границы нормальных значений: для мужчин – до 20 нг/мл, для женщин – до 25 нг/мл). Генотипирование проводилось с использованием генетического анализатора The MassARRAY® System by Agena Bioscience™, а также с помощью метода ПЦР в реальном времени на амплификаторе QuantStudio 5. Статистическая обработка проводилась с использованием критерия χ^2 . Распределение частот генотипов проверялось на соответствие равновесию закона Харди–Вайнберга.

Результаты. При использовании разных границ нормальных значений уровня пролактина диктует необходимость разделения пациентов на 2 группы: группа тех, у кого уровень пролактина был в пределах нормы, и группа пациентов, у кого он был повышен. Статистический анализ результатов заключался в сравнении частот генотипов полиморфных вариантов гена белка множественной лекарственной устойчивости ABCB1 (*rs1045642*, *rs2032582*, *rs4148739*, *rs28401781*, *rs2235040*, *rs9282564*, *rs2235015*, *rs2032583*), а также расчет отношения шансов для генотипов, которые представлены в табл. 1.

Таблица 1

Сравнение частот генотипов и расчёт отношения шансов полиморфных вариантов гена белка множественной лекарственной устойчивости ABCB1

Номер rs	Генотипы	Пациенты без ГП	Пациенты с ГП	χ^2	Р	OR значение	95 % CI
rs1045642	T/T	62	51	4.796	0.091	0.75	1.03–2.81
	T/C	106	102			0.90	0.61–1.34
	C/C	31	48			1.70	0.49–1.16
	C/C	55	68			1.34	0.87–2.05
rs2032582	C/A	99	97	2.384	0.304	0.94	0.64–1.39
	A/A	45	36			0.75	0.46–1.22
	G/G	1	2			1.99	0.18–2.16
rs4148739	G/A	30	51	7.034	0.030	1.92	1.16–3.16
	A/A	168	148			0.52	0.31–0.85
	A/A	1	2			1.99	0.18–2.12
rs28401781	A/G	25	43	5.967	0.051	1.89	1.11–3.24
	G/G	173	156			0.52	0.31–0.88
	G/G	174	159			0.54	0.32–0.93
rs2235040	G/A	24	40	4.999	0.082	1.81	1.05–3.14
	A/A	1	2			1.99	0.25–3.12
	G/G	5	3			0.59	0.14–2.49
rs9282564	G/A	48	47	0.585	0.747	0.96	0.61–1.52
	A/A	146	151			1.10	0.70–1.72
	G/G	149	135			0.69	0.44–1.06
rs2235015	G/T	46	61	2.894	0.235	1.45	0.93–2.26
	T/T	4	5			1.24	0.33–4.70
	C/C	1	2			1.99	0.21–2.25
rs2032583	C/T	25	44	6.543	0.038	1.95	1.14–3.33
	T/T	173	155			0.51	0.30–0.86

Выводы. Выявлена ассоциация полиморфного варианта rs4148739 гена *ABCB1* с развитием гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией на фоне антипсихотической терапии ($\chi^2=7.034$, $p=0.030$), а также статистически показана протективная роль генотипа A/A (OR=0.52, 95 % CI [0.31:0.85]). Также для варианта rs2032583 гена *ABCB1* были получены статистически значимые результаты ($\chi^2=6.543$, $p=0.038$), а также статистически показана протективная роль генотипа T/T (OR=0.51, 95 % CI [0.30:0.86]). Эти данные позволяют предположить участие данных полиморфных вариантов в развитии гиперпролактинемии у больных шизофренией.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-29-06035 «Новые подходы к фармакогенетике антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией»

ЛИТЕРАТУРА

1. Montejo A. Prolactin awareness: An essential consideration for physical health in schizophrenia. Eur Neuropsychopharmacol. 2008 May; 18 Suppl 2: S108–14. doi: 10.1016/j.euroneuro.2008.02.004.
2. Marzolini C., Paus E., Buclin T., Kim R.B. Polymorphisms in human MDRI (P-glycoprotein): Recent advances and clinical relevance. Clin Pharmacol Ther. 2004 Jan; 75(1): 13–33.
3. Schwab M., Eichelbaum M., Fromm M.F. Genetic polymorphisms of the human MDRI drug transporter. Annual review of pharmacology and toxicology. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2003; 43: 285–307. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.43.100901.140233.
4. Cummins C.L., Wu C.Y., Benet L.Z. Sex-related differences in the clearance of cytochrome P450 3A4 substrates may be caused by P-glycoprotein. Clinical pharmacology and therapeutics. 2002 Nov; 72(5): 474–89. doi: 10.1067/mcp.2002.128388

ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *PIP5K2A* И *DPP6* С ТИПОМ ТЕЧЕНИЯ ШИЗОФРЕНИИ

Е.Г. Полтавская

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Настоящее исследование посвящено изучению вклада полиморфных вариантов генов *PIP5K2A* и *DPP6* в определение типа течения шизофрении. Было обследовано 384 больных шизофренией (269 с непрерывным течением заболевания, 115 – с эпизодическим). Обнаружены ассоциации генотипов CT rs8341 *PIP5K2A* и CC rs946961 *PIP5K2A* с непрерывным течением шизофрении. Выявлено, что для генотипа AA rs4726411 *DPP6* более характерен эпизодический тип течения заболевания, чем для других генотипов по данному локусу.

Ключевые слова: шизофрения, полиморфизм гена, протеинкиназа.

THE STUDY OF ASSOCIATIONS OF POLYMORPHIC VARIANTS OF *PIP5K2A* AND *DPP6* GENES WITH THE TYPE OF SCHIZOPHRENIA

E.G. Poltavskaja

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

This study investigates the contribution *PIP5K2A* polymorphic variants in genes *DPP6* and determining a type of schizophrenia. 384 patients with schizophrenia (269 with continuous course of the disease, 115 with episodic) were examined. Associations of genotypes of CT rs8341 *PIP5K2A* and CC rs946961 *PIP5K2A* with a continuous course of schizophrenia have been revealed. It was revealed that for the genotype AA rs4726411 *DPP6* the episodic type of the disease course is more characteristic than for other genotypes at this locus.

Keywords: schizophrenia, polymorphism of the gene, protein kinase.

Введение. Шизофрения – эндогенное психическое расстройство, изучение которого в настоящее время остается одной из наиболее актуальных проблем клинической и биологической психиатрии [1]. Шизофрения характеризуется особым дефектом личности, проявляющимся сочетанием продуктивной и негативной симптоматики, поведенческих и когнитивных нарушений, а также хроническим типом течения, либо частыми рецидивами, нарастанием личностных изменений, высоким уровнем социальной дезадаптации и инвалидизации. Хроническое течение имеет место у 40 % больных, относительно благоприятное (вплоть до «социального выздоровления») у 20–30 % [2]. Эпизодический тип течения характеризуется более благоприятным исходом. По литературным данным генотипы, предрасполагающие к развитию непрерывного и эпизодического типов течения шизофрении существенно отличаются друг от друга [3].

Протеинкиназы PIP5K2A и DPP6 опосредованно через калиевые нейрональные каналы регулируют дофаминергическую нейротрансмиссию [4, 5], тем самым в рамках дофаминергической гипотезы патогенеза шизофрении могут оказывать влияние на развитие заболевания, а также обуславливать клиническую гетерогенность шизофрении.

Целью исследования было проведение сравнительной оценки генетических особенностей больных шизофренией с разным типом течения заболевания – непрерывным и эпизодическим.

Материал и методы. Было обследовано 384 больных шизофренией, из которых 269 имели непрерывное течение заболевания, а 115 – эпизодическое. При проведении исследования были соблюдены принципы информированного согласия Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Генотипирование полиморфных вариантов генов *PIP5K2A* и *DPP6* проводили методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, США) с использованием наборов TaqMan Validated SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, США). В исследование было включено 11 полиморфных вариантов гена *PIP5K2A* (rs10828317, rs8341, rs746203, rs10430590, rs946961, rs1132816, rs1417374, rs943190, rs943194, rs1171506, rs11013052) и 4 полиморфных варианта гена *DPP6* (rs4726411, rs1292312, rs7804017, rs6977820). Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы SPSS 21.0.

Результаты. В исследуемой выборке больных шизофренией среди мужчин наблюдалось преобладание непрерывного течения заболевания (66,2 % против 33,8 %), в то время как в группе женщин непрерывный и эпизодический типы течения были представлены практически в равном количестве (48,8 % и 51,2 % соответственно). Подобные различия в распределении на высоком уровне статистической значимости ($\chi^2=10,075$, $p=0,001$) свидетельствуют о том, что непрерывный тип течения болезни более характерен для мужчин, чем для женщин.

При анализе взаимосвязи типа течения и длительности заболевания были выявлены различия на высоком уровне статистической значимости по критерию Крускала – Уоллиса ($\chi^2=32,169$, $p=0,000001$). Наше исследование показывает, что для непрерывного течения характерна большая длительность заболевания, чем для эпизодического. Так, для непрерывного типа течения средняя длительность заболевания составила 16 (8–27,5) лет, а для эпизодического – 8 (4–15) лет (приведено значение Me (25 % Q – 75 % Q)).

Для оценки вклада полиморфных вариантов генов *PIP5K2A* и *DPP6* целесообразно сравнение в группах пациентов с разным типом течения заболевания распределение их генотипов и аллелей. В результате анализа частот генотипов и аллелей исследуемых полиморфизмов статистические различия были обнаружены для rs8341, rs946961 *PIP5K2A* и rs4726411 *DPP6* (табл. 1).

Таблица 1

Распределение генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов *PIP5K2A* и *DPP6* в группе больных шизофренией в зависимости от типа течения заболевания (частота, %)

Полиморфизм	Генотипы Аллели	Больные шизофренией		χ^2	p
		С непрерывным типом течения	С эпизодическим типом течения		
rs8341 <i>PIP5K2A</i>	CC	104 (38,7 %)	49 (42,6 %)	6,559	0,038*
	CT	135 (50,2 %)	44 (38,3 %)		
	TT	30 (11,2 %)	22 (19,1 %)		
	C	343 (63,8 %)	142 (61,7 %)	0,280	0,600
	T	195 (36,2 %)	88 (38,3 %)		
rs946961 <i>PIP5K2A</i>	CC	27 (10,8 %)	2 (2,3 %)	5,976	0,049*
	CG	119 (47,8 %)	46 (52,9 %)		
	GG	103 (41,4 %)	39 (44,8 %)		
	C	173 (34,7 %)	50 (28,7 %)	2,100	0,150
	G	325 (65,3 %)	124 (71,3 %)		
rs4726411 <i>DPP6</i>	CC	136 (62,7 %)	57 (60,6 %)	6,109	0,047*
	AC	77 (35,5 %)	30 (31,9 %)		
	AA	4 (1,8 %)	7 (7,4 %)		
	C	349 (80,4 %)	144 (76,6 %)	1,160	0,280
	A	85 (19,6 %)	44 (23,4 %)		

Примечание: * – уровень статистически значимых различий $p < 0,05$ при сравнении групп между собой.

В результате проведенного исследования было выявлено, что в группе больных шизофренией с непрерывным течением заболевания генотипы CT rs8341 и CC rs946961 гена *PIP5K2A* встречаются достоверно чаще, чем у пациентов с эпизодическим течением шизофрении ($\chi^2=6,559$, $p=0,038$ и $\chi^2=5,976$, $p=0,049$ соответственно), а носительство генотипа AA rs4726411 гена *DPP6* более характерно для эпизодического типа течения, чем для непрерывного ($\chi^2=6,109$, $p=0,047$).

При развитии шизофрении для носителей генотипа CT rs8341 *PIP5K2A* вероятность развития заболевания с непрерывным течением выше в полтора раза, чем та же вероятность у носителей гомозиготных генотипов по данному локусу (OR для непрерывного типа течения равен 1,63, 95 % CI=1,04–2,25), а для носителей генотипа CT того же полиморфного варианта, наоборот, вероятнее развитие эпизодического типа течения (OR для непрерывного типа течения в данном случае составляет 0,53, 95 % CI=0,29–0,97).

Для носителей генотипа CC rs946961 *PIP5K2A* вероятность развития непрерывной формы значительно выше (OR=5,17, 95 % CI=1,20–22,21) вероятности развития заболевания по непрерывному типу течения у двух других генотипов rs946961. В то же время носительство генотипа AA rs4726411 *DPP6* снижает ту же вероятность более чем в четыре раза (OR=0,23, 95 % CI=0,07–0,82).

Таким образом, шанс развития заболевания по непрерывному типу течения выше у носителей с генотипом CT rs8341 *PIP5K2A*, генотипом CC rs946961 *PIP5K2A* и AC или CC rs4726411 *DPP6*. Полученные данные позволяют нам заключить, что гены *PIP5K2A* и *DPP6* вносят вклад в гетерогенность клинической картины при шизофрении, тем самым могут влиять на течение заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шмуклер А.Б., Бочкарева О.С. Отдаленный катамнез больных шизофренией и расстройствами шизофренического спектра после первого обращения в психоневрологический диспансер. Социальная и клиническая психиатрия. 2012; 22 (2); 10–15.
2. Краснов В.Н., Гурович И.Я., Мосолов С.Н., Шмуклер А.Б. Стандарты оказания помощи больным шизофренией. М., 2006, 54.
3. Тиганов А.С. Психиатрия. Руководство для врачей: I том. 2012; 807.
4. Боярко Е.Г., Федоренко О.Ю., Воронина Е.Н., Семке А.В., Иванова С.А. Исследование полиморфизма генов *DPP6* и *PIP5K2A* в развитии тардивной дискинезии у больных шизофренией на фоне лечения антипсихотиками. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015; 78; 13(2).
5. Федоренко О.Ю., Боярко Е.Г., Вялова Н.М., Иванова С.А. Молекулярно-генетические нарушения *PIP5K2A* регуляции при шизофрении и депрессии. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2016; 2 (91); 19–23.

ВОВЛЕЧЕНИЕ ИСПОЛНИТЕЛЬНЫХ И СЕЛЕКТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ У МОЛОДЫХ И ПОЖИЛЫХ ИСПЫТУЕМЫХ ВО ВРЕМЯ РЕШЕНИЯ ВЕРБАЛЬНОЙ ДИВЕРГЕНТНОЙ ЗАДАЧИ

Е.Ю. Приводнова¹, Н.В. Вольф²

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины», г. Новосибирск, Россия¹
Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, Россия²

Аннотация

Увеличение продолжительности жизни связано с возрастанием риска развития нейродегенеративных и психических заболеваний. Творческая деятельность в пожилом возрасте имеет нейропротекторный эффект, однако нейрофизиологические механизмы, поддерживающие эффективность креативного мышления при старении, почти не изучены. Для проверки предположения о большем значении функций исполнительного контроля во время решения креативных задач у пожилых по сравнению с молодыми испытуемыми мы сравнили индуцированные решением дивергентной задачи изменения в тета-ритме по показателям мощности (ERSP) и плотности источников тока в младшей (N=80, 22,6±3 года) и старшей (N=80, 63,4±6,7 года) возрастных группах. У пожилых лиц по сравнению с молодыми выявлена большая мощность тета-ритма в левой нижней фронтальной извилине и правых фронто-темпоральных областях на начальном этапе решения задачи и в передней цингулярной извилине – на завершающем. Результаты могут свидетельствовать о большем задействовании контролирующих и селективных процессов во время решения дивергентной задачи у пожилых людей.

Ключевые слова: когнитивный контроль, дивергентное мышление, тета, старение.

INVOLVEMENT OF EXECUTIVE AND SELECTIVE PROCESSES DURING VERBAL DIVERGENT PROBLEM SOLVING IN YOUNG AND ELDERLY SUBJECTS

E.Yu. Privodnova¹, N.V. Volf^{1,2}

Federal State Budgetary Scientific Institution «Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine», Novosibirsk, Russia¹
Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia²

Abstract

The increase in life expectancy is associated with an increased risk of developing neurodegenerative and psychiatric diseases. Creative activity in the elderly has a neuroprotective effect, but the neurophysiological mechanisms that support the effectiveness of creative thinking in aging are almost not studied. To test the assumption of a larger significance of executive control functions during creative problem solving in elderly in comparison with young subjects, we compared changes in theta rhythm, induced by divergent problem solving, in terms of power indicators (ERSP) and current source density estimates in the young (N=80, 22, 6±3 years) and elderly (N=80, 63.4±6.7 years) age groups. In the elderly, in comparison with the young subjects, higher power of theta rhythm in left inferior frontal gyrus and right fronto-temporal regions was revealed at the initial stage of creative problem solving and in the anterior cingulate gyrus – at the final stage. The results may indicate a greater involvement of executive and selective processes during verbal divergent problem in the elderly.

Keywords: cognitive control, divergent thinking, theta, aging.

Актуальность. Происходящее в настоящее время значительное увеличение продолжительности жизни связано с возрастанием риска развития нейродегенеративных и психических заболеваний, которые существенно снижают качество жизни людей старшего возраста. Согласно современным литературным данным, творческая деятельность в пожилом возрасте позволяет замедлить развитие деменции [1] и снижает риск возникновения депрессии пожилого возраста [2].

Способность к решению задач дивергентного типа – экспериментальных моделей изучения творческого мышления – является одной из наиболее сохранных при непатологическом старении при возрастном снижении многих когнитивных функций [3]. Однако нейрофизиологические механизмы, поддерживающие эффективность креативного мышления, почти не изучены.

Согласно данным нейробиологических исследований, при решении широкого спектра когнитивных задач у людей старшего возраста возрастает значение функций исполнительного контроля, который связан с активностью фронтальных областей полушарий мозга [4]. Результаты наших психометрических исследований также свидетельствуют, что у пожилых испытуемых процессы контролируемой селекции информации вносят положительный вклад в высокую оригинальность решения вербальной дивергентной задачи [5]. Эти факты поднимают вопрос о различиях в привлечении селективных процессов на различных этапах решения дивергентной задачи у молодых и пожилых лиц. Наиболее информативным электрофизиологическим индикатором процессов когнитивного контроля является увеличение мощности на частоте тета-диапазона, особенно в срединно-фронтальных отведениях [6].

Материал и методы. Мы сравнили индуцированные решением дивергентной задачи «Необычное использование предмета» изменения в тета-ритме по показателям мощности (ERSP) у испытуемых младшей (МБГ, N=80, 22,6±3 года) и старшей (СВГ, N=80, 63,4±6,7 года) возрастных групп. Последующую пространственную локализацию возрастных различий определяли в программе sLORETA.

ЭЭГ-показатели были проанализированы на начальном (200–400, 400–600 и 600–800 мс после предъявления задания) и на завершающем этапе (от –600 до –300 мс и от –300 до начала формирования моторного ответа, сигнализирующего о нахождении решения). Для оценки статистической значимости результатов использовали ANOVA и непараметрические тесты, реализованные в программе sLORETA.

Результаты. На начальном этапе решения дивергентной задачи на фоне общего для всех испытуемых углубления десинхронизации в тета-ритме в СВГ по сравнению с МБГ наблюдается меньшая десинхронизация в передних отделах мозга во временной интервал 400–600 мс после предъявления стимула. Наиболее яркие возрастные различия, согласно sLORETA, локализованы в прецентральной извилине, задней части нижней фронтальной извилины, инсуле в левом полушарии и в передней части нижней фронтальной извилины, верхней темпоральной извилине – в правом (рис. 1).



Рис.1. Темные оттенки обозначают области, в которых плотность источников тока в тета-ритме в СВГ больше по сравнению с аналогичными показателями в МБГ

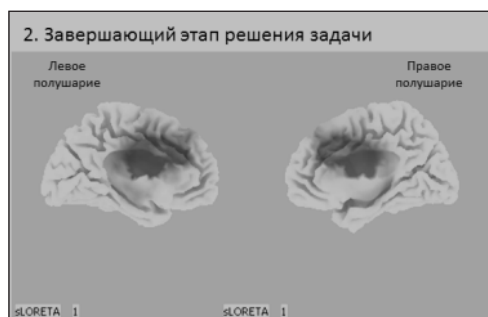


Рис.2. Темные оттенки обозначают области, в которых плотность источников тока в тета-ритме в СВГ больше по сравнению с аналогичными показателями в МБГ

На завершающем этапе решения задачи в СВГ по сравнению с МВГ был выявлен больший фронтально-париетальный градиент ERSP в тета-ритме в интервал 600 мс до формирования моторного ответа. Применение sLORETA позволило определить, что в основе обнаруженных возрастных различий главным образом лежат большие значения реактивности плотности источников тока в передней цингулярной и префронтальной коре в СВГ по сравнению с МВГ, в то время как значимые возрастные различия в активности париетальных отделов мозга отсутствуют (рис. 2).

Выводы. На начальном этапе решения задачи показана большая мощность тета- ритма в 400–600 мс после предъявления задачи в СВГ по сравнению с МВГ, локализованная в левой нижней фронтальной извилине и правых фронто-темпоральных областях, относящихся к семантической нейронной сети. Это позволяет предполагать большее задействование ресурсов контроля при извлечении семантической информации уже во время формирования первичных ассоциаций в СВГ по сравнению с МВГ.

На завершающем этапе решения задачи, связанном с оценкой созданной креативной идеи, в СВГ по сравнению с МВГ выявлена большая синхронизация тета- ритма в передней цингулярной извилине и латеральной фронтальной коре, которые входят в исполнительную нейронную сеть, реализующую нисходящую (top-down) регуляцию когнитивной деятельности.

Таким образом, полученные результаты могут свидетельствовать о большем задействовании ресурсов контроля и селекции информации на начальном и завершающем этапах решения вербальной дивергентной задачи в СВГ по сравнению с МВГ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Новосибирской области в рамках научного проекта № 17-46-540705.

ЛИТЕРАТУРА

1. McFadden S.H., Basting A.D. Healthy aging persons and their brains: promoting resilience through creative engagement. Clin Geriatr Med. 2010; 26(1): 149–161. doi: 10.1016/j.cger.2009.11.004.
2. Parisi J.M., Xia J., Spira A.P., Xue Q.L., Rieger M.L., Rebok G.W., Carlson M.C. The Association Between Lifestyle Activities and Late-Life Depressive Symptoms. Act Adapt Aging. 2014; 38(1): 1–10. doi: 10.1080/01924788.2014.878871.
3. Palmiero M., Giacomo D.D., Passafiume D. Divergent Thinking and Age-Related Changes. Creat Res J. 2014; 26(4): 456–460. doi: 10.1007/s00221-016-4857-4.
4. Reuter-Lorenz P.A., Cappell K.A. Neurocognitive Aging and the Compensation Hypothesis. Current Directions in Psychological Science. 2008; 17(3): 177–182. doi: 10.1111/j.1467-8721.2008.00570.x
5. Приводнова Е.Ю., Вольф Н.В. Вклад интеллекта и исполнительного контроля в показатель вербальной креативности при физиологическом старении. Сибирский медицинский научный журнал. 2017; 37(2): 55–61.
6. Cavanagh J.F., Frank M.J. Frontal theta as a mechanism for cognitive control. Trends Cogn Sci. 2014; 18(8): 414–421. doi: 10.1016/j.tics.2014.04.012.

КЛИНИКО-ПАТОДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АФФЕКТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ, КОМОРБИДНЫХ С ПСИХИЧЕСКИМИ И ПОВЕДЕНЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ, СВЯЗАННЫМИ С УПОТРЕБЛЕНИЕМ АЛКОГОЛЯ

О.В. Рощина, А.И. Розин, И.И. Белокрылов

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В исследовании приведено описание нозологической структуры депрессивных расстройств у пациентов с алкогольной зависимостью, сравнение степени выраженности аффективной симптоматики и оценка выраженности влечения к алкоголю в группах пациентов с «чистой» патологией и коморбидным течением двух заболеваний.

Ключевые слова: алкоголизм, депрессивные расстройства, коморбидность.

COMORBIDITY OF ALCOHOL USE DISORDERS AND DEPRESSIVE DISORDERS

O.V. Roshchina, A.I. Rozin, I.I. Belokrylov

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

This study describes nosological structure of depressive disorders associated with a pronounced dependence, a comparative category and an assessment of the degree of craving for alcohol in groups of patients with «pure» pathology and the comorbid course of the two diseases.

Keywords: alcohol use disorder, depressive disorder, comorbidity.

Депрессивные состояния и алкоголизм являются одними из наиболее часто встречающихся расстройств как в общей популяции населения, так и в общемедицинской практике. В рамках психиатрической службы до 35 % мужчин, наблюдаемых по поводу депрессивных расстройств, имеют в той или иной степени явления алкоголизации, соответствующие нозологическим критериям. С другой стороны, у 25–59 % наркологических больных в процессе противоалкогольной терапии отмечаются депрессивные состояния [1].

Сопряженность двух одновременно существующих заболеваний влияет на клиническую картину каждого из них, обуславливая значительные дифференциально-диагностические затруднения. Наблюдается не простое суммирование феноменологических образований, а разнообразие их взаимовлияния в силу взаимного родства (синтропии), усиления (патологического синергизма) или антагонизма (дистропии).

Материал и методы. Выборку исследования составили 59 пациентов клиник НИИ психического здоровья, проходивших лечение в 2017 году. На основе результатов клинического обследования пациенты были распределены по трем группам: 1 – пациенты с «чистой» аффективной патологией, 2 – пациенты с синдромом зависимости от алкоголя, 3 – пациенты с коморбидным диагнозом: синдром зависимости от алкоголя и расстройство настроения. В каждой группе при поступлении проведено структурированное интервью по теме «Коморбидное течение алкоголизма и аффективных расстройств», проводилась объективная оценка состояния пациента с использованием стандартизированных опросников и шкал (SIGH-SAD, HARS, AUDIT, Обсессивно-компульсивная шкала употребления алкоголя) при поступлении и с двухнедельным интервалом. Статистическая обработка проводилась с использованием IBM-PC с использованием пакета стандартных программ Statistica for Windows (V. 10.0). В случае нормального распределения данные представлены в виде $Me \pm$ стандартное отклонение. В случае, если распределение отличалось от нормального, данные представлены в виде $Me (LQ;UQ)$. При сравнении нескольких групп независимых переменных выполнялся непараметрический дисперсионный анализ с применением критерия Краскела – Уоллиса.

Результаты и обсуждение. Группа пациентов с алкогольной зависимостью (30 человек) на 90 % была представлена мужчинами, средний возраст респондентов составил $30 \pm 10,3$ года. Среди пациентов с «чистыми» депрессивными расстройствами (15 человек) 60 % было женщин, средний возраст $50 \pm 12,7$ года. Группа пациентов с коморбидным диагнозом включала 14 человек (43 % женщины, 57 % мужчины) в возрасте 45 ± 14 лет.

Наследственность в группе пациентов с аддиктивной патологией в 36,6 % случаев была отягощена алкогольной зависимостью ближайших родственников, в 6,6 % родные пациентов получали лечение по поводу расстройств настроения. Среди родственников пациентов, получающих лечение по поводу депрессивных расстройств, 26 % обращались за помощью к наркологам, 19,9 % страдали расстройствами настроения. У пациентов с коморбидной патологией в 57 % случаев члены семьи злоупотребляли алкоголем, 14,2 % страдали расстройствами настроения.

Сравнение картин употребления алкоголя в группе с «чистым» алкоголизмом и алкоголизмом, коморбидным с аффективной патологией дало следующие результаты: давность заболевания (с момента формирования алкогольного абстинентного синдрома) составила 10 (7; 18) лет и 16 (10; 27) лет соответственно. Толерантность в группе пациентов с комор-

бидным диагнозом была ниже: 11 (9;11) стандартных единиц против 16 (11; 23). По шкале AUDIT средний балл в группе с «чистой» нозологией составил 24, а в группе с двойным диагнозом – 26,5. При этом обсессивно-компульсивная шкала влечения к алкоголю показала более выраженное влечение в группе с монодиагнозом (28 баллов при поступлении и 9 через 2 недели лечения против 19 на момент поступления и 4 через 14 дней в группе с коморбидной патологией). Показатель $p < 0,05$.

Аффективная патология в группе пациентов с одним диагнозом была представлена 46,6 % – депрессивный эпизод средней степени тяжести (F32.1), 20 % – рекуррентное депрессивное расстройство, текущий депрессивный эпизод средней степени тяжести (F33.1), а в группе пациентов с коморбидным синдромом зависимости от алкоголя (F10.2) в 35,7 % случаев был диагностирован депрессивный эпизод в рамках биполярного аффективного расстройства (F31) и в 35,7 % в рамках рекуррентного депрессивного расстройства (F33), 21,4 % наблюдений были представлены дистимией (F34.1).

Давность заболевания в группе пациентов с депрессией составила 6 (9; 2)±6 лет, при этом в группе с коморбидным диагнозом – 10 (3; 5) лет.

Данные оценки тяжести депрессивного эпизода и уровня тревоги по шкале SIGH-SAD и HARS при поступлении и через две недели терапии приведены в табл. 1.

Таблица 1

Выраженность тревожной депрессивной симптоматики

	При поступлении				Через 2 нед			
	Типичные симптомы (SIGH-SAD)	Атипичные симптомы (SIGH-SAD)	Сумма баллов (SIGH-SAD)	Уровень тревоги (HARS)	Типичные симптомы (SIGH-SAD)	Атипичные симптомы (SIGH-SAD)	Сумма баллов (SIGH-SAD)	Уровень тревоги (HARS)
F10.2	5 (2; 9)	0 (0; 2)	6,5 (2; 11)	5,5 (2; 8)	0 (0; 4)	0	0 (0; 3)	0 (0; 2)
F3	23 (18; 28)	6 (0; 8)	28 (20; 37)	21 (17; 28)	6 (4; 11)	1 (0; 3)	6 (5; 15)	5 (3; 11)
F10.2 + F3	19 (16; 21)	4,5 (2; 7)	24 (18; 32)	14,5 (7;20)	7,5 (5; 10)	1,5 (0; 2)	10,5(5;12)	5,5 (3; 7)

Примечание: $p < 0,05$ во всех случаях.

Суицидальная активность пациентов группы зависимых от алкоголя была представлена суицидальными мыслями в 30 %; в группе пациентов с депрессией в 26,6 % в анамнезе были указания суицидальные мысли и действия; в группе пациентов с коморбидным диагнозом спектр суицидальной активности был шире: 28,5 % – суицидальные мысли, 14,3 % – суицидальные действия, 21,4 % пациентов предпринимали суицидальные попытки.

Вышеизложенные данные свидетельствуют о том, что, с одной стороны, зависимость от психоактивных веществ неблагоприятно сказывается на течении аффективных расстройств, а с другой – наличие аффективной патологии служит фактором, отягощающим течение зависимости от психоактивных веществ. Подобные сочетанные формы зависимости отличаются в целом худшим прогнозом течения и результатами психофармакологического лечения, высоким риском суицидов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-313-00147.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бохан Н.А., Семке В.Я. Коморбидность в наркологии. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2009. 510.

ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА RS10121864 ГЕНА *PRDM12* С БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ У ЛИЦ С ЗАВИСИМОСТЬЮ ОТ ПАВ

Д.Н. Савочкина, Е.Г. Полтавская

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В настоящей работе проведено исследование показателей болевой чувствительности у лиц с зависимостью от психоактивных веществ и связи этих показателей с полиморфным вариантом rs10121864 гена *PRDM12*. Проведено обследование 79 лиц, в том числе 50 лиц с зависимостью от ПАВ, и 29 лиц из группы риска с эпизодическим употреблением ПАВ. Показано, что аллель А связан со сниженной чувствительностью к верхнему болевому порогу у лиц с зависимостью от ПАВ.

Ключевые слова: ноцицепция, аддиктивные расстройства, rs10121864 ген *PRDM12*.

THE STUDY OF ASSOCIATIONS OF THE POLYMORPHIC VARIANT RS10121864 OF THE PRDM12 GENE WITH PAIN SENSITIVITY IN PERSONS WITH PSYCHOACTIVE SUBSTANCE DEPENDENCE

D.N. Savochkina, E.G. Poltavskaya

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

In this work, a study of indicators of pain sensitivity in individuals with substance dependence and the relationship of these indicators with polymorphic variants rs10121864 *PRDM12* gene. A total of 79 persons were examined, including 50 persons with substance dependence, and 29 persons at risk with episodic use of substance. It is shown that allele A is associated with a decreased sensitivity to the upper pain threshold in individuals with substance dependence.

Keywords: Nociception, addictive disorders, rs10121864 gene *PRDM12*.

Введение. Длительное употребление опиоидов приводит к повышению болевой чувствительности – возникновению опиоидно-индуцированной гипералгезии [1]. Актуальным в клинической практике является измерение болевой чувствительности, поскольку пороги боли используются для экспертной оценки алгических синдромов разного генеза и эффективности обезболивающей терапии, а также могут быть использованы для оценки течения психических расстройств. Индивидуальные различия болевой реакции [2, 3] используются в качестве инструмента исследования ноцицептивных механизмов и рассматриваются как основа для персонализированного подхода к боли. Множество факторов, модулирующих боль, предполагает сравнительную оценку их влияния на восприятие боли. Все больше данных свидетельствуют о том, что генетические факторы вносят значительный вклад в индивидуальные различия болевой чувствительности [4].

В ходе исследований 2015 года Ya-Chun Chen et al. определили новый ген, связанный с врожденной нечувствительностью к боли у людей. Ген *PRDM12* кодирует эпигенетический регулятор, который участвует в нейрогенезе и влияет на свойства нейрона [5, 6].

В данной работе были проанализированы показатели болевой чувствительности у лиц, эпизодически употребляющих ПАВ, и лиц с зависимостью от ПАВ для выявления связи генетических особенностей с изменением данных параметров.

Целью исследования было проведение сравнительной оценки болевой чувствительности у лиц с психическими и поведенческими расстройствами, вызванными употреблением психоактивных веществ, и в группе лиц с эпизодическим употреблением ПАВ в зависимости от генотипа rs10121864 *PRDM12*.

Материал и методы. Было обследовано 50 человек (26 мужчин и 24 женщины) с признаками психических и поведенческих расстройств, вызванных употреблением психоактивных веществ (F1x.2), в период постабстинентного состояния. В качестве группы сравнения были обследованы лица, эпизодически и случайно употребляющие психоактивные вещества согласно классификации Э.Е. Бехтеля (1986) (29 человек: 14 мужчин и 15 женщин). При проведении исследования были соблюдены принципы информированного согласия Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Пороги болевой чувствительности и переносимость боли определялись с помощью запатентованного нами собственного варианта тензоалгометрии (ТАМ) [7]. Параллельно использовали алгометр (Commander Algometer JTECH Medical, США). Генотипирование полиморфного варианта rs10121864 *PRDM12* проводили методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, США) с использованием наборов TaqMan Validated SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, США).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы SPSS 21.0. с использованием непараметрических методов.

Результаты. В ходе исследования были получены данные о распределении частот генотипов и аллелей rs10121864 гена *PRDM12* в группах зависимых от ПАВ лиц и лиц с эпизодическим употреблением ПАВ (табл. 1).

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей rs10121864 гена *PRDM12* в группах сравнения

Группа	Генотип GG (n=25)	Генотип AG (n=35)	Генотип AA (n=19)	Значение критерия χ^2 , p-value	Аллель G	Аллель A	Значение критерия χ^2 , p-value
Группа риска (n=29)	13 (44,8 %)	14 (48,3 %)	2 (6,9 %)	$\chi^2=8,285$, p=0,016*	55 (69,0 %)	3 (31,0 %)	$\chi^2=8,480$, p=0,004**
Наркологические пациенты (n=50)	12 (24,0 %)	21 (42,0 %)	17 (34,0 %)		83 (45,0 %)	17 (55,0 %)	

Примечание: * – значение p<0,05; ** – значение p<0,01

При анализе частот генотипов и аллелей гена *PRDM12* (rs10121864) в сравниваемых группах были обнаружены статистически значимые различия (p=0,016 для генотипов и p=0,004 для аллелей). В группе риска процент носителей гомозиготного генотипа по аллелю А был значительно ниже, чем в группе зависимых от ПАВ.

В результате проведенной тензоалгометрии были оценены пороги болевой чувствительности – минимальное болевое ощущение, которое субъект в состоянии распознать (нижний порог боли) (БН), а также порог переносимости боли (верхний порог боли) (БВ). Результаты двух тензоалгометрических методов выражались в условных единицах (усл. ед.) и ньютонах (N). Визуально-аналоговая шкала позволяет понять субъективную оценку верхнего и нижнего порогов болевой чувствительности.

Были проанализированы показатели болевой чувствительности в зависимости от генотипов в группе зависимых от ПАВ и в группе лиц с эпизодическим употреблением ПАВ. В группе зависимых от ПАВ были обнаружены статистически значимые различия по показателю оценки болевой чувствительности верхнего болевого порога (p=0,24). Так, для носителей генотипа GG rs10121864 данный показатель был выше (значение Me (25Q–75Q) составило 8,0 (6,25–8,75)), чем для носителей двух других генотипов (значения Me (25Q–75Q) составили 5,0 (4,0–6,0) для генотипа AG и 6,0 (4,25–6,75) для генотипа AA). При этом значение верхнего болевого порога у носителей разных генотипов статистически не отличалось. Отсюда можно сделать вывод, что мутантный аллель А и гомозиготный генотип AA имеют сниженную чувствительность к болевым ощущениям у зависимых от ПАВ лиц по сравнению с носителями генотипа GG.

Заключение. В рамках исследования было показано, что в группе зависимых от ПАВ лиц процент носителей гомозиготного генотипа по аллелю А rs10121864 был значительно выше, чем в группе риска с эпизодическим употреблением. Возможно, данный полиморфный вариант гена *PRDM12* вносит вклад в формирование зависимости от ПАВ. Также было показано, что аллель А rs10121864 в группе зависимых от ПАВ лиц связан со сниженной чувствительностью к верхнему болевому порогу.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ 17-36-01113

ЛИТЕРАТУРА

1. Савочкина Д.Н., Невидимова Т.И., Батухтина Е.И., Бохан Н.А., Лебедева Е.В., Редченко Е.М., Краснятова Ю.А., Абушаева М.О., Баранов И.В. Сравнительная характеристика болевой и обонятельной чувствительности у лиц с аффективными и аддиктивными расстройствами. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2015; 2 (87); 5–9.
2. Fillingim R.B. Individual differences in pain responses. Curr Rheumatol Rep. 2005; 7(5); 342–47.
3. Fillingim R.B. Individual differences in pain: understanding the mosaic that makes pain personal. Pain. 2017 Apr; 158 Suppl 1: S11–S18. doi: 10.1097/j.pain.0000000000000775.

4. *Fillingim R.B., Wallace M.R., Herbstman D.M., Ribeiro-Dasilva M., Staud R.* Genetic contributions to pain: a review of findings in humans. *Oral Dis.* 2008 Nov; 14(8): 673–82. doi: 10.1111/j.1601-0825.2008.01458.x.

5. *Kinameri E., Inoue T., Aruga J., Imayoshi I., Kageyama R., Shimogori T., Moore A.W.* Prdm Proto-Oncogene Transcription Factor Family Expression and Interaction with the Notch-Hes Pathway in Mouse Neurogenesis. *PLoS One.* 2008; 3(12): e3859. doi: 10.1371/journal.pone.0003859.

6. *Hohenauer T., Moore A.W.* The Prdm family: expanding roles in stem cells and development. *Development.* 2012; 139(13): 226782.

7. *Невидимова Т.И., Бохан Н.А., Кокконова Д.Н.* Способ количественной оценки индивидуальных болевых порогов. Патент на изобретение № 2342063. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений 27.12.2008.

ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ БИОМАРКЕРОВ БИПОЛЯРНОГО АФФЕКТИВНОГО РАССТРОЙСТВА

А.А. Серегин¹, Е.М. Дмитриева¹, А.А. Летова²

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия²

Аннотация

В этой работе представлены результаты анализа протеомного спектра сыворотки крови больных биполярным аффективным расстройством и здоровых лиц. В результате масс-спектрометрического анализа выявлены 2 белка, встречающиеся только у больных биполярным аффективным расстройством: плектин и z-1 субъединица глутаматного NMDA-рецептора. Выявленные белки могут являться потенциальными патогенетическими маркерами данных психических расстройств.

Ключевые слова: биполярное аффективное расстройство, белковые маркеры, протеомика, сыворотка крови.

SEARCH FOR POTENTIAL BIOMARKERS OF BIPOLAR DISORDER

A.A. Seregin¹, E.M. Dmitrieva¹, A.A. Letova²

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

Abstract

In this work we present, the results of the analysis of the proteomic spectrum of blood serum of patients with bipolar disorder and healthy individuals are presented. As a result of mass-spectrometric analysis, two proteins found only in patients with bipolar disorder were identified: plectin- 531466 Da and Glutamate NMDA-receptor subunit zeta-1 – 105306 Da. Identified proteins can be potential pathogenetic markers of these mental disorders.

Keywords: Bipolar disorder, protein markers, proteomics, blood serum.

Актуальность. Трудности в создании новых эффективных методов диагностики и лечения биполярного аффективного расстройства (БАР) связаны с недостаточным пониманием молекулярных механизмов его патогенеза. В последние годы резко повысился интерес к протеомным исследованиям психических расстройств и стали интенсивно проводиться исследования в этом направлении [1–4]. Анализ состояния исследований в области протеомных исследований психических расстройств свидетельствует об актуальности проблемы, ее приоритетности и нерешенности заявляемых задач. Выявление белка-маркера или регуляторных белков, участвующих в патогенезе БАР и других психических расстройств, в доступном для использования в диагностических целях биоматериале – сыворотке крови – максимально приблизит нас к пониманию специфических патогенетических механизмов этих

расстройств и может послужить основой для дифференциальной диагностики различных эндогенных психозов.

Материал и методы. В работе анализировали белковый спектр сыворотки крови 13 человек. Из обследуемых лиц 8 имели диагноз БАР, группу контроля составляли 5 психически и соматически здоровых лиц. С целью отделения 6 мажорных белков сыворотку крови подвергали аффинной хроматографии. Далее белки разделяли в 12 %-полиакриламидном геле по методу Laemmli. Масс-спектрометрический анализ был проведён в ИБМХ РАМН г. Москва с использованием масс-спектрометра Thermo Scientific LTQ Velos. Идентификацию белков проводили с использованием ресурсов Matrix Science. Для оценки достоверности различий использовали непараметрический точный критерий Фишера с поправкой Йетса.

Результаты. В результате масс-спектрометрического анализа сыворотки крови были выявлены 2 белка, не встречающихся или почти не встречающихся у здоровых лиц: плектин и z-1 субъединица глутаматного NMDA-рецептора. В сыворотке крови больных БАР выявлен белок плектин с массой 531466 Да. Это белок промежуточных филаментов, впервые был выделен из клеток глиомы. Он обеспечивает связь основных компонентов цитоскелета: микротрубочек, микрофиламентов и промежуточных филаментов. Кроме того, плектин обеспечивает связь цитоскелета и плазматической мембраны, участвуя в формировании десмосом и гемидесмосом. Известно, что точечные мутации в плектин-связывающих белках группы неспиринов характерны для БАР [5]. Выход белков цитоскелета в сыворотку крови возможен только при разрушении клеток.

Белок с молекулярной массой 105306 Да – z-1 субъединица глутаматного NMDA-рецептора. Известно, что в маниакальную фазу БАР наблюдается повышенный уровень глутамата в левой дорсолатеральной префронтальной коре на фоне снижения плотности глутаматных NMDA-рецепторов [6]. Возможно, вследствие выраженной эксайтотоксичности происходит повреждение синапсов, что приводит к появлению в сыворотке крови субъединиц NMDA рецептора. Появлению субъединиц рецепторов в крови способствует повреждение ГЭБ.

Выводы. В сыворотке крови больных БАР обнаружены 2 белка, не встречающихся у здоровых лиц: 12-й белок, содержащий анкириновые повторы, z-1 субъединица глутаматного NMDA-рецептора. Обнаружение белка клеточного цитоскелета -- плектина в сыворотке крови больных БАР значимо чаще, чем у здоровых лиц, может указывать на выраженное повреждение клеток. Также увеличение частоты обнаружения z-1 субъединицы глутаматного NMDA-рецептора в сыворотке крови больных может говорить о значимой роли эксайтотоксичности в патогенезе БАР. При увеличении количества обследуемых лиц можно предложить использование обнаруженных белков в качестве биологических маркеров БАР.

Работа поддержана грантом РНФ №18-15-00053 «Поиск периферических маркеров, ассоциированных с нарушением миелинизации головного мозга и патогенезом заболевания при шизофрении» 2018–2020 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dudley E., Hassler F., Thome J. Profiling for novel proteomics biomarkers in neurodevelopmental disorders. *Expert Rev Proteomics*. 2011 Feb; 8(1): 127–36. doi: 10.1586/ep.10.97.
2. Föcking M., Dicker P., English J.A., Schubert K.O., Dunn M.J., Cotter D.R. Common proteomic changes in the hippocampus in schizophrenia and bipolar disorder and particular evidence for involvement of cornu ammonis regions 2 and 3. *Arch Gen Psychiatry*. 2011 May; 68(5): 477–88. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2011.43.
3. Domenici E., Willé D.R., Tozzi F., Prokopenko I., Miller S., McKeown A., Brittain C., Rujescu D., Giegling I., Turck C.W., Holsboer F., Bullmore E.T., Middleton L., Merlo-Pich E., Alexander R.C., Muglia P. Plasma protein biomarkers for depression and schizophrenia by multi analyte profiling of case-control collections. *PLoS One*. 2010 Feb 11; 5(2): e9166. doi: 10.1371/journal.pone.0009166.
4. Логинова Л.В., Смирнова Л.П., Коваль В.В., Фёдорова О.С., Семке А.В., Иванова С.А. Масс-спектрометрический анализ белков сыворотки крови больных шизофренией. *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2011; 31(6): 63–68.
5. McKernan D.P., Dennison U., Gaszner G., Cryan J.F., Dinan T.G. Enhanced peripheral toll-like receptor responses in psychosis: further evidence of a pro-inflammatory phenotype. *Transl Psychiatry*. 2011 Aug 30; 1: e36. doi: 10.1038/tp.2011.37.
6. Fountoulakis K.N. The possible involvement of NMDA glutamate receptor in the etiopathogenesis of bipolar disorder. *Curr Pharm Des*. 2012; 18: 1605–1608.

ПСИХОСОМАТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ УПОТРЕБЛЕНИИ АЛКОГОЛЯ С ПОЗИЦИИ ТЕОРИЙ ВОСТОЧНОЙ МЕДИЦИНЫ

В.В. Сидорова

Донецкий национальный медицинский университет им М. Горького, г. Донецк, Украина

Аннотация

В данной статье на основе теорий восточной медицины рассматривается взаимосвязь между поражениями органов и систем организма при хронической интоксикации этанолом и акцентуациями личности. На основании проведенного исследования установлена зависимость между преобладающими эмоциями в жизни человека и пораженным органом.

Ключевые слова: синдром зависимости, акцентуация личности, восточная медицина, поражения внутренних органов и систем.

PSYCHOSOMATIC BASES OF COMPLICATIONS AT THE CHRONIC USE OF ALCOHOL FROM POSITION OF THEORIES OF EAST MEDICINE

S.V. Sidorova

Donetsk National Medical University name M. Gorky, Donetsk, Ukraine

Abstract

In this article the interrelation between lesions of organs and systems of an organism at a chronic intoxication by ethanol and the psychological reasons of occurrence of an alcoholism, on the basis of theories of east medicine is considered. On the basis of what the principles of diagnostics and treatment of chronic alcoholism and its consequences are developed and proposed.

Keywords: dependence syndrome, psychotype, the theory of five primary elements, lesions of internal organs and systems.

Актуальность. Чрезмерное употребление алкогольных напитков как заболевание было определено еще во времена Гиппократ и Галена. С тех времен эта проблема росла из столетия в столетие, приобретая все большие масштабы и важное значение в социальной жизни общества. Хроническое употребление алкоголя с ранга межличностных проблем постепенно переросло на государственный уровень. И как показывает время, предложенные социальные программы по его ликвидации не дали должного эффекта. Таким образом, на сегодняшний день данная проблема остается актуальной сферой деятельности врачей различных специальностей.

Материал и методы. Рандомизированная выборка по полу и возрасту составила 56 человек с установленным диагнозом F10.2 (синдром зависимости) в соответствии с МКБ 10. Всем пациентам группы были проведены следующие исследования: ультразвуковое исследование органов брюшной полости и забрюшинного пространства, рентгенография органов грудной клетки, ЭКГ, холтеровское мониторирование, общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, гликолизированный гемоглобин. Ко всем пациентам были применены психологические опросники (Басса – Дарки, Йеля – Брауна, Шихана, Зунга, иерархической структуры актуальных страхов личности (ИСАС)) [1].

Результаты. Исходя из общеизвестного понятия, хронический алкоголизм – это прогрессирующее состояние, включающее в себя симбиоз психических и соматических расстройств, возникающих на фоне хронической интоксикации этанолом. Важной характеристикой этого заболевания являются поражения органов-мишеней: сердца, печени, желудка, поджелудочной железы и центральной нервной системы на фоне измененного социального поведения или акцентуации личности [2].

Наряду с психотерапией, взаимосвязи психического и физического большое значение уделяет восточная медицина. Она рассматривает взаимодействие физической составляющей организма человека, его психики и окружающей среды (природы и социума). При этом изначальной причиной болезни считаются нарушения на психическом уровне (эмоциональный дисбаланс), которые затем трансформируются в патологию органов и систем [3].

К примеру, скрытая или явная агрессия вследствие нереализации собственных амбиций, наличие комплексов и нежелание над ними работать впоследствии приводят пациента в уныние и депрессию. Восточная медицина определяет связь данной акцентуации личности с

дисфункциями печени и желчного пузыря [4]. Из 56 обследованных пациентов изменения со стороны рассматриваемых органов обнаружили у 20 человек (35 %), при этом 18 человек из них (90 %), согласно проведенным психологическим исследованиям, показали высокий уровень агрессии в сравнении с другими пациентами группы. Зачастую акцентуация в характере личности таких качеств, как упрямство, самоуверенность и гордыня, приводит к снижению или отсутствию критики к своему состоянию, что становится важной проблемой в процессе лечения.

В ходе исследования у пациентов наблюдаемой группы было выявлено 15 случаев (26 %) патологии со стороны сердечно-сосудистой системы (гипертоническая болезнь, кардиомиопатия). Согласно психологическим тестам, из них у 10 (66 %) пациентов был выявлен высокий уровень тревожности. Данная взаимосвязь связывает алкоголизм и попытки снять эмоциональное и интеллектуальное напряжение. Человек данного психотипа – экстраверт, демонстративен, истеричен [4]. Данные индивиды проявляют хорошую приверженность к лечению и способны входить в длительную ремиссию.

Из числа исследуемых 6 (10 %) человек имели признаки депрессии. Во время их обследования была обнаружена преимущественная патология толстого кишечника (часто рецидивирующие колиты, синдром раздраженного кишечника). Таким поражениям изначально подвержены личности с логическим складом ума, с обостренным чувством справедливости. Акцентуация личности может наступить при потере цели в жизни, внезапном одиночестве, в этом случае пациент подвержен развитию депрессии, и как следствие алкоголизм становится средством улучшения эмоционального состояния.

Согласно теориям восточной медицины, имеется взаимосвязь между работой мочеполовой и нервной системы с наличием фобий [4]. Зачастую у таких пациентов наряду с выраженной половой дисфункцией выявляются наличие психической деградации и множество страхов. В иерархии последних преобладает страх ответственности и ошибки. У таких больных прием алкоголя снимает эмоциональное напряжение, вызванное фобиями, и способствует поддержанию чувства уверенности в своих силах. Из представленной выборки у 5 (8 %) пациентов были обнаружены изменения со стороны мочеполовой системы, у 3 из них (60 %) в иерархии страхов на первом месте стоял страх ответственности.

Пациенты с патологией со стороны поджелудочной железы (10 (17 %) человек), согласно психологическим опросникам, демонстрировали наличие обсессивно-компульсивных расстройств, которые выражались в «застревании», «зацикливании» на свои мыслях, также отмечалось присутствие определенных ритуалов. Зачастую причиной алкоголизма у таких людей является попытка освободиться от навязчивых состояний и чувства безысходности.

Выводы. Таким образом, учитывая связь органов и эмоций, можно предположить наличие акцентуации личности у пациентов, способствующее приему алкоголя. Данные знания могут помочь в диагностике и выборе тактики лечения не только врачу, применяющему методики восточной медицины, но и врачам других специальностей.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Профессиональные психологические тесты*: [Электронный ресурс]. Москва Психотест: 2012. [дата обращения: 10.02.2018] Режим доступа: <http://mirknig.ru/knigi/psihologiya/9089-professionalnye-psihologicheskie-testy.html>
2. Гофман А.Г. Клиническая наркология М.: Миклош, 2003. 8–18.
3. Мачоча Д. Психика в китайской медицине. М: Синофарм, 2013. 163–169.
4. Лобазова А.А. У-СИН или как начиналась соматопсихология: Из истории теории «Пяти Элементов» – практическое применение. Харьков: Райдер, 2007. 236.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ МОНОАМИНООКСИДАЗЫ С КЛИНИЧЕСКОЙ КАРТИНОЙ ШИЗОФРЕНИИ

В.В. Тигунцев

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Введение. Большая часть симптомов шизофрении может быть разделена на две крупные категории: позитивные и негативные. Одними из генов-кандидатов предрасположенности к шизофрении рассматриваются гены моноаминоксидазы *MAO-A* и *MAO-B*. **Цель** – изучение ассоциации между полиморфными вариантами генов *MAO-A* и *MAO-B* и клинической картиной шизофрении в этнически русской популяции Томской области. **Методы.** Было обследовано 468 этнически русских пациентов с параноидной и простой шизофренией. Для исследования было выбрано 2 полиморфных варианта в гене *MAO-A* (rs1137070, rs6323) и 1 полиморфный вариант в гене *MAO-B* (rs1799836). Генотипирование проводилось на амплификаторе “Real-time StepOnePlus”. Распределение частот генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга с помощью критерия χ^2 . **Результаты.** Частотный анализ в контрольной и исследуемой группах выявил значимые различия в подгруппе мужчин по полиморфному варианту rs1137070 ($p=0,01$) и полиморфному варианту rs6323 ($p=0,03$).

Ключевые слова: шизофрения, моноаминоксидаза, генетика, полиморфизмы.

ASSOCIATION OF POLYMORPHIC VARIANTS OF MONOAMINE OXIDASE GENES WITH A CLINICAL PICTURE OF SCHIZOPHRENIA

V.V. Tiguntsev

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Most of the symptoms of schizophrenia can be divided into two major categories: positive and negative. One of the candidate genes predisposing to the leading symptomatology of the schizophrenia is considered the monoamine oxidase genes *MAO-A* and *MAO-B*. Aim of the research is to study of the contribution of polymorphic variants of the *MAO-A* and *MAO-B* genes to the leading symptomatology of the schizophrenia in the Caucasian population of the Tomsk region. Objects and methods. 468 ethnically Russian patients with paranoid and simple schizophrenia were examined. For the study, 2 polymorphic variants were selected in the *MAO-A* gene (rs1137070, rs6323) and 1 polymorphic variant in the *MAO-B* gene (rs1799836). Genotyping was carried out by “Real-time StepOnePlus” amplifier. The frequency distribution of the genotypes from the polymorphic loci examined was checked for compliance with the Hardy-Weinberg equilibrium using the χ^2 criterion. Results and discussion. Frequency analysis in the control and study groups showed significant differences in subgroup of males in rs1137070 and rs6323.

Keywords: schizophrenia monoamine oxidase, genetics, polymorphisms.

Актуальность. Шизофрения – хроническое психическое заболевание, ведущее к инвалидизации и потере социальной адаптации. Заболевание считается мультифакториальным, однако генетическая составляющая вносит значительный вклад в развитие шизофрении. Такой вывод можно сделать из того, что риск развития обозначенного расстройства у родственников больных в значительной степени выше, чем средний в популяции. После многочисленных исследований был выявлен ряд генов-кандидатов, потенциально участвующих в развитии шизофрении. Значительная их часть вносит вклад в формирование нейромедиаторных систем (дофаминергической, серотонинергической, глутаматергической и др.).

Введение. Клиническая картина шизофрении очень разнообразна, однако большинство составляющих её симптомов можно объединить в 2 большие группы: позитивная и негативная симптоматика. Позитивную симптоматику характеризует явление схизиса – нарушения единства психических процессов. К этой категории относятся навязчивые идеи, галлюцинации, психомоторное возбуждение. Негативная симптоматика проявляется в прогрессирующем изменении личности с эмоциональным оскудением, потерей побуждений и интересов. Примеры негативных симптомов: слабоумие, апатия, абулия.

Дофамин – один из основных нейромедиаторов центральной нервной системы. При его участии реализуется когнитивная сфера деятельности, в особенности процессы мотивации

и обучения. Именно с избытком дофамина в мезолимбической системе связывают позитивные симптомы шизофрении, а недостаток его в мезокортикальной системе, как считается, ответствен за негативную симптоматику [1].

Моноаминоксидаза (МАО) – фермент, осуществляющий окислительное дезаминирование катехоламинов. Принципиальная функция МАО – инаktivация биологически активных моноаминов как внутренней природы (нейромедиаторы и гормоны), так и внешней (попадающих в организм с пищей, лекарствами или психоактивными веществами). Фермент делится на 2 типа: МАО-А и МАО-В, кодируемые соответствующими генами. Субстратами для МАО-А служат адреналин, норадреналин, гистамин, серотонин, дофамин, а также многие фенилэтиламиновые и триптаминовые психоактивные вещества. Субстратами МАО-В являются фенилэтиламин и дофамин [2].

Таким образом, полиморфные варианты генов *МАО-А* и *МАО-В* могут быть ассоциированы с формированием клинической картины шизофрении.

Цель – изучение ассоциации между полиморфными вариантами генов *МАО-А* и *МАО-В* и клинической картиной шизофрении в этнически русской популяции Томской области.

Материал и методы. Было обследовано 476 этнически русских пациентов Томской области, проходивших курс стационарного лечения в отделении эндогенных расстройств НИИ психического здоровья ТНИМЦ, Томской клинической психиатрической больницы. Критериями включения пациентов в исследование являлись получение информированного согласия пациента или уполномоченного лица на клиничко-биологическое обследование, клинически верифицированные врачами-психиатрами диагнозы шизофрении (раздел F20 согласно международной классификации болезней 10 пересмотра (МКБ-10)); принадлежность к европеоидной расе, отсутствие органических или неврологических расстройств. ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови стандартным фенол-хлороформным методом. Для генотипирования было выбрано 3 SNP: rs1137070, rs6323 (*МАО-А*), rs1799836 (*МАО-В*). Определение аллельных вариантов проводили методом real-time PCR со специфическими праймерами с использованием наборов SNP Genotyping Assay на приборе «StepOnePlus» (США). Для статистической обработки данных использовался пакет программ SPSS 17.0. Распределение частот генотипов оценивалось при помощи критерия χ^2 , рассчитывался показатель отношения шансов (OR) и 95 % доверительный интервал (95 % CI).

Результаты. Сравнение групп пациентов с позитивной и негативной симптоматикой не выявило статистически значимых результатов. Поскольку данный полиморфный вариант расположен на X-хромосоме, для адекватного статистического анализа потребовалось разделить пациентов по полу. Было установлено, что полиморфный вариант rs6323 вносит значительный вклад в формирование клинической картины у мужчин с шизофренией ($\chi^2=4.72$, $p=0.03$). Носительство аллеля G предрасполагает к ведущей позитивной симптоматике заболевания (отношение шансов 0,63 [95 % CI: 0.41–0.96]), в то время как аллель Т статистически значимо чаще встречался у пациентов с ведущей негативной симптоматикой (отношение шансов 1,59 [95 % CI: 1.05–2.41]).

Также статистически значимые различия были выявлены в группе мужчин по полиморфному варианту rs1137070 ($\chi^2=6.16$, $p=0.01$). Отношение шансов для аллеля С составило 0.59 [95 % CI: 0.39–0.90], что показывает его предрасполагающий эффект к развитию позитивной симптоматики. Аллель Т обладает предрасполагающим эффектом к развитию негативной симптоматики, что подтверждает показатель отношения шансов, равный 1,70 [95 % CI: 1.12–2.59].

Заключение. Полученные данные показывают, что полиморфные варианты гена моноаминоксидазы типа А ассоциированы с формированием клинической картины шизофрении. Результаты исследования коррелируют с идеями важной роли генетической составляющей в развитии шизофрении и могут быть использованы в сфере персонализированной фармакотерапии пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lau C.I., Wang H.C., Hsu J.L., Liu M.E. Does the dopamine hypothesis explain schizophrenia? Rev Neurosci. 2013; 24(4): 389–400. doi: 10.1515/revneuro-2013-0011.
2. Duncan J., Johnson S., Ou X.M. Monoamine oxidases in major depressive disorder and alcoholism. Drug Discov Ther 2012; 6(3): 112–22.

АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ НАЧАЛА УПОТРЕБЛЕНИЯ НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ПСИХОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И РАЗВИТИЯ МАНИФЕСТНОГО ПРИСТУПА ШИЗОФРЕНИИ, СПРОВОЦИРОВАННОГО ИХ ПРИЕМОМ

О.С. Юков

КГБУЗ «Красноярский краевой психоневрологический диспансер № 1», г. Красноярск, Россия

Аннотация

В данной статье проведен сравнительный анализ некоторых взаимосвязей между употреблением новых потенциально опасных психоактивных веществ и манифестспровоцированным приступом параноидной шизофрении, ассоциированной с их приемом. Как известно, развитию эндогенного заболевания способствует множество факторов. Существует также много гипотез, рассматривающих возможные причины дебюта процессуального заболевания, но однозначных мнений у современной науки, в том числе в психиатрии, пока нет. Имеются данные, что больным с коморбидной патологией свойственно более раннее начало шизофрении, а также больший риск совершения попытки самоубийства, чем больным с не отягощенным наркотиками анамнезом. Пациенты с коморбидной патологией параноидной формой шизофрении отличаются более мягким и медленным развитием психопатологических симптомов, низкой психотической активностью, а также более стремительным выходом в терапевтическую ремиссию на фоне терапии по сравнению с больными без употребления наркотиков.

Ключевые слова: шизофрения, шизофреноформный психоз, коморбидная наркологическая патология, иммунохроматографический анализ, новые потенциально опасные психоактивные вещества.

ANALYSIS OF THE RELATIONSHIP BETWEEN THE BEGINNING OF THE USE OF NEW POTENTIALLY DANGEROUS PSYCHOACTIVE SUBSTANCES AND THE DEVELOPMENT OF A MANIFESTATION OF SCHIZOPHRENIA, PROVOKED BY THEIR RECEPTION

O.S. Yukov

KGBU «Krasnoyarsk Regional Psychoneurological Dispensary № 1», Krasnoyarsk, Russia

Abstract

In this article, a comparative analysis of some relationships between the use of new potentially dangerous psychoactive substances and a manifestation of paranoid schizophrenia associated with their use has been carried out. As is known, many factors contribute to the development of endogenous disease. There are also many hypotheses regarding the possible reasons for the debut of a procedural disease, but unambiguous opinions in modern science, including psychiatry, do not exist yet. There is evidence that patients with comorbid pathology tend to have an earlier onset of schizophrenia, as well as a greater risk of attempting suicide than patients with non-narcotic anamnesis. Patients with comorbid pathology paranoid form of schizophrenia are characterized by a milder and slower development of psychopathological symptoms, low psychotic activity, and a more rapid release into therapeutic remission against therapy compared with patients without drug use.

Keywords: schizophrenia, schizophreniform psychosis, comorbid narcological pathology, immunochromatographic analysis, new potentially dangerous psychoactive substances.

Синтетические каннабиноиды в конце 2000-х годов стали доминировать на наркорынках многих стран и оказывать серьезное негативное воздействие на состояние общественного здоровья. Длительное сохранение легального статуса этих веществ привело к тому, что их потребление в России после 2009 года стало приобретать угрожающие масштабы [1]. Вместе

с тем клинические исследования последствий фрагментарны и немногочисленны. Проблема диагностики и дифференциальной диагностики психотических расстройств, возникающих у лиц, употребляющих данные наркотики, вышла за рамки наркологии [2–5]. Несмотря на то, что официальная статистика по психозам в связи с употреблением наркотиков не ведется, клиницисты все чаще регистрируют такую патологию.

Коморбидность в понимании исследователей неизбежно усложняет диагностический поиск вследствие взаимного искажения клинической картины, а также требует от врача особых подходов к терапии таких состояний [6]. В своих научных работах современные исследователи пришли к выводу, что проблема сосуществования психопатологии и употребления ПАВ в равной степени актуальна для всех стран мира, независимо от их социальных, культуральных или иных особенностей [1, 7, 8]. Подтверждение существования проблемы сочетанной патологии, высокие показатели распространенности заболевания, отсутствие единого подхода к квалификации и лечению таких больных, а также огромный интерес мировой научной общественности к данному вопросу, безусловно, определяют актуальность проблемы сочетания психической патологии с употреблением психически активных веществ как чрезвычайно высокую.

Нередко в психиатрической практике оказываются пациенты, не являющиеся наркозависимыми, но при этом «экспериментирующие» с наркотиками, у которых развивается abortивная или развернутая шизофреноформная симптоматика, чаще острая, реже – пролонгированная. При этом отмечается тенденция сокрытия пациентами фактов употребления наркотиков, что значительно затрудняет квалификацию наблюдаемых психотических расстройств и приводит к ошибочным выводам, а также к неблагоприятным социальным последствиям. В последние годы употребление новых психоактивных веществ в РФ уже достигло уровня эпидемии и продолжает расти.

Исследование проводилось на базе стационара «Красноярского краевого психоневрологического диспансера № 1» в 2010–2017 гг. Обследовано 30 пациентов мужского пола, страдающих параноидной шизофренией, с коморбидной наркологической патологией, а также лица, госпитализированные с шизофреноформными психозами на фоне употребления психоактивных веществ. Средний возраст составил 28 ± 10 лет, длительность заболевания от 1 до 5 лет. Все исследуемые больные проходили лечение в психиатрическом стационаре, длительность которого составила от 20 до 85 дней.

Пациенты были разделены на две группы: основная группа (15 человек) – с установленным диагнозом «шизофрения, спровоцированная приемом ПАВ», и группа сравнения (15 человек) – с установленным диагнозом «острое шизофреноформное расстройство на фоне употребления ПАВ». В качестве основных методов исследования использовались клинко-психопатологический; клинко-анамнестический; клинко-катамнестический; шкала позитивных и негативных синдромов (PANSS); статистический; иммунохроматографический и иммуноферментный анализ мочи на наркотики. Установление диагноза «параноидная шизофрения», «синдром зависимости», определение типа течения заболевания проводилось в соответствии с диагностическими критериями МКБ-10. За основу взят принцип единства симптоматиологии и общих тенденций течения шизофренического процесса. Всем обследуемым проводилось исследование анализа мочи на содержание психоактивных веществ в химико-токсикологическом отделе клинко-диагностической лаборатории КГБУЗ «Красноярский краевой наркологический диспансер № 1». Использовался метод иммунохроматографического анализа, иммуноферментного анализа, с подтверждением специализированной системой на основе хроматографии и хромато масс-спектрометрии с помощью медицинского оборудования «Хроматэк-Кристалл 5000 (Россия)». Статистическая обработка полученных данных выполнена с помощью программы «Statistical Package for Social Science» SPSS, v.20. Проверка нормальности распределения признаков проводилась с использованием критерия Шапиро – Уилкса. Для оценки значимости статистических различий при отсутствии нормального распределения применяли непараметрический ранговый критерий Манна – Уитни.

Новые потенциально опасные психоактивные вещества представляют большую опасность для общества. В результате приема новых психоактивных веществ все чаще возникают полиморфные психотические расстройства или даже может наступить летальный исход. Психотические расстройства, развивающиеся после приема новых потенциально опасных психоактивных веществ, зачастую носят стойкий, порой необратимый характер и представляют серьезные проблемы медицинского и социального характера. Кроме того, среди последствий употребления данных наркотиков выявляются манифестспровоцированные приступы шизофрении. Опасность состоит в том, что для инициации шизофренического

процесса достаточно однократного употребления наркотика. При этом проявляющиеся даже по экзогенному типу манифестные психозы в дальнейшем приобретают эндоформную окраску.

При клиническом опросе лица, употребляющие «дизайнерские» наркотики, не знают, какое вещество и в какой дозе они приняли, указывая лишь способ приема психоактивного вещества, его сленговое название. А принятое пациентом вещество достоверно устанавливается методом иммунохроматографического анализа мочи на наркотики. Ведущим синдромом является параноидный. Галлюцинаторно-бредовая симптоматика представлена массой психосенсорных расстройств. Шизофренические симптомы представлены в виде психического автоматизма, разорванности мышления, бреда преследования и отношения, слуховых галлюцинаций, деперсонализационных расстройств, апатических расстройств, деменции с псевдопаралитическим синдромом. Возможна парафренизация бредовых идей с кататоноподобной симптоматикой, присутствие гебефреноподобного возбуждения. Продолжительность затяжных психозов составляет в среднем до 2–3 мес. Такие состояния требуют неотложных лечебных мероприятий и госпитализации в психоневрологический стационар, так как на этапах оказания первичной медицинской помощи дифференцировать обострение эндогенного заболевания и экзогенно-токсического психоза чрезвычайно сложно, особенно когда наркологический анамнез отрицается. Поэтому довольно часто возникают спорные вопросы между психиатрами и наркологами о генезе психоза, а также медицинской сортировке пациентов. На территории Красноярского края и Российской Федерации исследований, посвященных влиянию новых потенциально опасных психоактивных веществ на активацию психических заболеваний, в частности шизофрении, не проводилось.

По результатам анализа, в основной группе у 13 из 15 (86,7 %) человек выявлено развитие шизофрении, ассоциированной с началом употребления новых потенциально опасных психоактивных веществ ($p < 0,01$); в группе сравнения подобное расстройство отмечено лишь у 4 из 15 человек (26,6 %). По данным показателям можно судить, что употребление «дизайнерских» наркотиков значительно чаще вызывает развитие эндогенного процесса. Средний стаж употребления наркотиков в основной группе составил 6 ± 6 лет, в группе сравнения – 10 ± 9 лет. Установлено, что у всех исследуемых пациентов, ранее употреблявших наркотики растительного происхождения, острых психотических состояний, требующих неотложной медицинской помощи, не наблюдалось. Также следует отметить, что в группе сравнения развитие шизофреноформных психотических приступов на фоне употребления наркотиков «нового поколения» отмечается не сразу, а лишь спустя несколько лет. По полученным данным, этот период составляет 3 ± 2 года.

Таким образом, по результатам изучения и анализа обследуемых групп пациентов можно достоверно утверждать, что употребление новых потенциально опасных психоактивных веществ является одним из пусковых механизмов развития шизофрении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Максимова И.В., Пичугина Ю.А., Сергиенко Н.Н., Березовская М.А. Психотические расстройства, связанные с употреблением современных синтетических наркотиков. Психологическое здоровье человека: жизненный ресурс и жизненный потенциал. 2014; 384–386.
2. Чугунов В.В., Пирогов И.Ф. Современные представления о дифференциальной диагностике шизофреноподобного расстройства вследствие употребления психоактивных веществ. Запорожский медицинский журнал. 2014; 4(85): 77–81.
3. Белинская М.К. Клиника, диагностика и особенности лечения шизофрении, протекающей на фоне наркотической зависимости [автореферат...к.м.н]. [Харьков]; 1992. 20.
4. Дудин И.И., Дмитриева Т.Б., Клименко Т.В. Клинический патоморфоз зависимости от каннабиноидов у больных шизофренией (по данным отдаленного катамнеза). Журнал Наркология. 2008; 1: 41–45.
5. Чирко В.В., Дроздов Э.С. Эндогенные психозы и зависимость от психоактивных веществ. Руководство по наркологии: том 1. М.: Медпрактика, 2002. 385–407.
6. Красильников Г.Т., Дресвянников В.Л., Бохан Н.А. Коморбидные аддиктивные расстройства у больных шизофренией. Наркология. 2002; 6: 24–30.
7. Алексеева Д.Н., Ермаков А.С., Карандин А.С. Анализ случаев острых психических расстройств в городе Воронеже. Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. 2011; 44: 3–6.
8. Green A.I., Tohen M.F., Hamer R.M., Strakowski S.M., Lieberman J.A., Glick I., Clark W.S. First-episode schizophrenia-related psychosis and substance use disorders: acute response to olanzapine and haloperidol. Schizophr. Res. 2004; 66(2): 125–135.

ФАРМАКОЛОГИЯ И РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА

ОЦЕНКА МУТАГЕННОСТИ ЦИТОСТАТИКОВ НА ПРИМЕРЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

О.Н. Антосюк, А.В. Горская

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия

Аннотация

В работе проводился первичный скрининг цитостатиков, различных концентраций: аминоптерина и метотрексата с использованием тест-объекта *Drosophila melanogaster*. Используемых концентраций 400, 1000 и 2000 мкг/кг питательной среды и объема выборки оказалось недостаточно для обнаружения выраженного токсического и мутагенного эффекта. Получены предварительные результаты по более выраженному эффекту аминоптерина по сравнению с метотрексатом.

Ключевые слова: метотрексат, аминоптерин, SMART.

THE DETERMINATION OF MUTAGENIC EFFECT BY CYTOSTATICS ON THE EXAMPLE *DROSOPHILA MELANOGASTER*

O.N. Antosyuk, A.V. Gorskaya

Ural federal university named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia

Abstract

In work, primary screening of various concentrations of citostatics was carried out: an aminopterin and a methotrexate on test object of *Drosophila melanogaster*. We used concentrations 400, 1000 and 2000 µg/kg of a nutrient medium and the volume of selection appeared insufficiently for detection of the expressed toxic and mutagen effect. Preliminary results on the aminopterin, which was more expressed to effect in comparison with a methotrexate are received.

Keywords: methotrexate, aminopterin, SMART.

Актуальность. *Drosophila melanogaster* является классическим модельным генетическим объектом и благодаря ряду преимуществ (короткий жизненный цикл, высокая плодовитость, небольшой кариотип и т. д.) применяется в экологической генетике, в частности при скрининге лекарственных препаратов.

Из литературных источников следует, что применение тест-объектов необходимо в комплексе (до трех объектов) для достоверного заключения о токсичности и мутагенности тестируемого цитостатика [1].

Материал и методы. Нами использовался классический метод оценки мутагенности химических соединений, а именно метод соматических мозаиков (Somatic mutation and Recombination Test (SMART)). Применяются различные варианты данного теста, связанные с клетками крыла или с щетинками на теле. Вариант, который использовали в данной работе: линии, несущие рецессивные мутации yellow (y) и white singed3 (wsn3). Самок у скрещивали с самцами wsn3, затем производился анализ гибридных потомков, выращенных на среде, содержащей исследуемые препараты, на наличие соматических рекомбинаций и мутаций (пятен). Во время личиночной стадии происходит активная клеточная пролиферация, образование имагинальных искос. Спонтанный уровень мутаций и рекомбинаций невысок (до

1 %). У гетерозиготных самок $y+wsn3/yw+sn3+$ определялось наличие мутантных щетинок на голове, скутеллюме и тораксе (фенотип $y, sn3$ и $ysn3$). Для статистического анализа использован критерий хи-квадрат.

Результаты. Нами проанализированы выборки *Drosophila melanogaster* после воздействия цитостатиками аминоптерин и метотрексатом 400 мкг/кг питательной среды, а также дополнительно метотрексатом 1000 и 2000 мкг/кг среды. При осмотре гибридных самок обнаружили только особей с пятнами $sn3$, других зафиксировано не было (табл. 1). Максимальное количество особей с пятнами выявили после воздействия аминоптерин, что свидетельствует о его большей токсичности, чем метотрексата (хотя данные цитостатики обладают аналогичным механизмом действия). Увеличение дозы метотрексата до 2000 мкг/кг среды привело к появлению минимального эффекта. Низкие значения хи-квадрата не позволяют говорить о каком бы то ни было выраженном токсическом эффекте тестируемых цитостатиков, что вероятно связано с малой выборкой особей в рамках проведенного нами теста, т.к. судя по литературным данным для обнаружения эффекта токсичности и мутагенности низкоактивных веществ необходимо увеличение выборки до 500–1000 самок [2].

Таблица 1

Данные по тесту соматических рекомбинаций и мутаций у дрозофилы после воздействия аминоптерин и метотрексатом

Препарат, дозировка	Общее число самок	С пятнами $sn3$, %	С пятнами y , %	С пятнами $ysn3$, %	Всего пятен	Всего самок с пятнами, $\% \pm m$	χ^2 по сравнению с контролем
Контроль	249	1	0	0	1	$0,4 \pm 0,06$	
Аминоптерин, 400 мкг/кг среды	235	3	0	0	3	$1,28 \pm 0,07$	0,314
Метотрексат, 400 мкг/кг	107	0	0	0	0	$0,0 \pm 0,01$	0,19
Метотрексат, 1000 мкг/кг среды	147	0	0	0	0	$0,0 \pm 0,08$	0,071
Метотрексат, 2000 мкг/кг среды	127	1	0	0	1	$0,79 \pm 0,09$	0,069

Выводы. Для более полноценного анализа мутагенного и токсического эффекта необходимо увеличение выборки гетерозиготных самок, а также увеличение концентрации тестируемых препаратов. Но, несмотря на данный факт, из полученных результатов следует, что аминоптерин обладает более выраженным эффектом относительно эффекта метотрексата.

ЛИТЕРАТУРА

- Захаренко И.П., Захаров И.К. Оценка мутагенности химических соединений, физических факторов и неидентифицированных компонентов загрязнения окружающей среды методом соматических мозаиков на клетках крыла *Drosophila melanogaster*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016; 20(1): 7277. doi: 10.18699/VJ16.113.
- Неупокоева О.В., Федорова Е.П., Ермолаева Л.А., Филонова М.В., Чуринов А.А., Воронова О.Л., Фомина Т.И. Фармакологическая коррекция гено- и миелотоксичности паклитаксела экстрактом из культуры *Hairy root* Шлемника байкальского. Экологическая генетика. 2015; 13(4): 1621.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И ЭРИТРОПОЭТИНА В МОДЕЛИ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Н.А. Бондаренко^{1,2}, А.П. Лыков^{1,2}, О.В. Повещенко^{1,2}, А.В. Кабаков²,
М.А. Суровцева^{1,2}, И.И. Ким^{1,2}, О.В. Казаков², А.Ф. Повещенко^{1,2}

ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Новосибирск, Россия¹
Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ИЦИГ

СО РАН, г. Новосибирск, Россия²

Аннотация

Проведено изучение внутримышечного введения мезенхимальных стволовых клеток костного мозга на параметры микроциркуляции в ишемизированной конечности крыс. Показано, что введение мезенхимальных стволовых клеток в сочетании с эритропоэтином стимулирует ангиогенез в зоне ишемии.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, эритропоэтин критическая ишемия нижних конечностей.

EFFICACY OF THE USE OF MESENCHYMAL STEM CELLS AND ERYTHROPOIETIN IN THE MODEL OF LOWER LIMB ISCHEMIA

**N.A. Bondarenko^{1,2}, A.P. Lykov^{1,2}, O.V. Poveschenko^{1,2}, A.V. Kabakov²,
M.A. Surovtseva^{1,2}, I.I. Kim^{1,2}, O.V. Kazakov², A.F. Poveschenko^{1,2}**

FGBU National Medical Research Center named academician E.N. Meshalkina,
Ministry of Health of the Russian Federation, Novosibirsk, Russia¹
Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology Branch of ITSiG SB RAS,
Novosibirsk, Russia²

Abstract

The study of intramuscular injection of mesenchymal stem cells of the bone marrow on the parameters of microcirculation in the ischemized limb of rats was carried out. It is shown that the introduction of mesenchymal stem cells in combination with erythropoietin stimulates angiogenesis in the ischemic zone.

Keywords: mesenchymal stem cells, erythropoietin, critical lower limb ischemia.

Актуальность. На сегодняшний день прогноз для пациентов с тяжелым заболеванием периферических артерий остается неутешительным. Для стимуляции ангиогенеза используются разные типы клеток или их сочетания, широко применяются мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) способны секретировать проангиогенные и цитопротекторные факторы [1]. Ряд исследований на животных показал, что введение МСК способствует ангиогенезу и репарации ишемизированных тканей [2–3].

Проблемы, препятствующие эффективности имплантации МСК могут быть решены путем улучшения функциональных свойств клеток, предварительно прекондиционированных с ростовыми факторами. В связи с этим целью данного исследования являлась оценка регенеративного потенциала мезенхимальных стволовых клеток костного мозга без или в сочетании с эритропоэтином в экспериментальной модели критической ишемии нижних конечностей (КИНК) у крыс.

Методы. Работа проведена на крысах-самцах Вистар ($n=48$) массой 300–350 г, содержащихся при свободном доступе к воде и пище, с соблюдением принципов гуманности. МСК получали из клеток костного мозга бедренных костей. В работе использовали клетки 4-го пассажа. КИНК моделировали перевязкой левой бедренной артерии под наркозом (15 мг/кг кетамина и 2 мг/кг ксилазина внутривенно). Развитие ишемии и влияние МСК на выраженность ишемии фиксировали с помощью лазерной доплеровской флоуметрии на лазерном анализаторе капиллярного кровотока в течение 1 мин. На клеточном анализаторе xCELLigence (Roche Applies Science, Германия) в одно- или двухуровневых камерах оценивали пролиферативную и миграционную активность МСК под влиянием эритропоэтина (33 МЕ/мл). Крысам после моделирования ишемии в мышцы голени в 5 точек вводили МСК по $250 \cdot 10^3$ кл/точку в объеме 0,2 мл (группа МСК), МСК по $250 \cdot 10^3$ кл/точку и эритропоэтин 6,68 МЕ/точку («Рекормон») в объеме 0,2 мл (группа МСК+ЭПО), 0,9 % раствор NaCl в объеме 0,2 мл (группа ФР); контрольная группа (группа КИНК) не получала никаких препаратов. Животных выводили из эксперимента через 7, 14, 21 день.

Результаты. По изменению клеточного индекса, измеряемого на клеточном анализаторе, выявлены изменения в пролиферативной и миграционной активности МСК под действием

эритропоэтина. Установлено, что эритропоэтин в большей степени стимулирует пролиферативный потенциал МСК, в меньшей степени стимулируя миграционную активность клеток.

Показано, что перевязка бедренной артерии приводила к снижению показателя микроциркуляции и индекса эффективности микроциркуляции в стопе через 24 ч. по сравнению с исходными данными. В группе ФР и МСК показатель микроциркуляции в стопе достигал 30–50 % от исходного уровня, но также был снижен ($p < 0,05$). В то же время в группе введения МСК совместно с эритропоэтином показатель микроциркуляции в стопе достигал 70 % от исходного уровня. Введение МСК и МСК совместно с эритропоэтином приводило к статистически значимому увеличению индекса эффективности микроциркуляции уже через 24 ч по сравнению с группой контроля и группой ФР ($p < 0,05$). На 7-е сут после введения показатели эффективности микроциркуляции в стопе были выше в группе введения МСК с эритропоэтином по сравнению с другими группами, а также в группе МСК в сравнении с группой контроля и ФР. Необходимо отметить тот факт, что лечение КИНК мезенхимальными стволовыми клетками и с добавлением ЭПО способствовало статистически значимому увеличению показателя микроциркуляции в стопе по сравнению с аналогичным параметром в контроле (КИНК) на разных сроках ($p < 0,05$).

Отмечено, что к концу наблюдения показатель микроциркуляции в стопе был статистически значимо выше в группе МСК с эритропоэтином по сравнению с другими группами.

Выводы. Таким образом, полученные нами данные лечения МСК с добавлением эритропоэтина свидетельствуют об ускорении процессов ангиогенеза на фоне экспериментальной КИНК у крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bronckaers A, Hilken P, Martens W, Gervois P, Ratajczak J, Struys T, Lambrichts I. Mesenchymal stem/stromal cells as a pharmacological and therapeutic approach to accelerate angiogenesis. *Pharmacol Ther.* 2014 Aug; 143(2): 18196.
2. Liew A, O'Brien T. Therapeutic potential for mesenchymal stem cell transplantation in critical limb ischemia. *Stem Cell Res Ther.* 2012 Jul 30; 3(4): 28.
3. Mikami S, Nakashima A, Nakagawa K, Maruhashi T, Iwamoto Y, Kajikawa M., Matsumoto T, Kihara Y., Chayama K., Noma K., Ochi M., Nishimura M., Tsuji K., Kato Y., Goto C., Higashi Y. Autologous bone-marrow mesenchymal stem cell implantation and endothelial function in a rabbit ischemic limb model. *PLoS One.* 2013 Jul 4; 8(7): e67739.

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО ПАРА-МЕНТАНОВОГО РЯДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ТРЕМОРА, ВЫЗВАННОЙ АРЕКОЛИНОМ

А.В. Быкова, В.С. Мотов, В.В. Быков

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск, Россия

Аннотация

В настоящее время болезнь Паркинсона является неизлечимой, все существующие методы лечения направлены на облегчение её симптомов. Производится постоянный поиск новых лекарственных средств. Проведена оценка влияния нового производного пара-ментанового ряда в трех дозах (5, 10 и 20 мг/кг) при экспериментальной модели тремора на мышах в сравнении с леводопой в дозе 100 мг/кг. Была показана тенденция к снижению противопаркинсонической активности производного пара-ментанового ряда в дозе 20 мг/кг.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, мыши, тремор, ареколин, производный пара-ментанового ряда.

INFLUENCE OF THE PARA-MENENTAN DERIVATIVE IN THE EXPERIMENTAL MODEL OF TREMOR CAUSED BY ARECOLINE

A.V. Bykova, V.S. Motov, V.V. Bykov

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract

Currently, Parkinson's disease is incurable, all existing methods of treatment are aimed at alleviating its symptoms. A permanent search for new drugs is being carried out. The effect of the new para-menentan derivative was evaluated in three doses (5, 10 and 20 mg/kg) in the experimental model of tremor in mice compared with levodopa at a dose of 100 mg/kg. The tendency towards a decrease in the antiparkinsonian activity of the para-menentan derivative at a dose of 20 mg/kg was shown.

Keywords: Parkinson's disease, mice, tremor, arecoline, a derivative of the para-menentan.

Актуальность. Болезнь Паркинсона – хроническое прогрессирующее дегенеративное заболевание головного мозга, обусловленное гибелью нейронов черной субстанции среднего мозга. Болезнью Паркинсона страдает около 1 % населения старше 65 лет [1]. Сегодня востребован поиск новых лекарственных средств с улучшенными фармакологическими свойствами, которые позволят увеличить биодоступность и создавать постоянную концентрацию дофамина, без перепадов, характерных для леводопы.

В Новосибирском институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН) группой исследователей под руководством член-корр. РАН, проф. Н.Ф. Салахутдинова был синтезирован производный пара-ментанового ряда (1R,2R,6S)-3-метил-6-(1-метилэтил) циклогекс-3-ен-1,2-диол ($C_{10}H_{16}O_2$).

Материал и методы. Было проведено изучение эффекта субстанции на модели тремора, вызванной ареколином – агонистом М-холинорецепторов. Антагонизм с ареколином оценивали по способности производного пара-ментана в разных дозах уменьшать время тремора у животных. В качестве негативного контроля использовали 0,5 % раствор карбоксиметилцеллюлозы (далее по тексту – КМЦ). В качестве препарата сравнения – леводопа в дозе 100 мг/кг. Регистрировали латентный период и продолжительность тремора в секундах.

В исследовании были использованы мыши линии C57Bl/6, самцы, массой 24–28 г. Животные содержались на постоянном доступе к корму и воде при температурном (20–22 °C) и световом регулируемом режиме 12:12 (день:ночь). Животных содержали группами в клетках типа T2. Клетки были снабжены решетчатыми крышками с углублением для корма и поилками из нержавеющей стали. В качестве подстилочного материала была использована предварительно простерилизованная сухая древесная стружка лиственных пород деревьев.

Животные были распределены на группы: «КМЦ + ареколин», «производный пара-ментана 5 мг/кг + ареколин», «производный пара-ментана 10 мг/кг + ареколин», «производный пара-ментана 20 мг/кг + ареколин» и «леводопа 100 мг/кг + ареколин». Тремор у мышей вызывали подкожным введением ареколина в дозе 25 мг/кг через 1 ч после внутрижелудочного введения изучаемых субстанций или раствора КМЦ.

Результаты. При модели тремора, вызванной ареколином, среднее значение латентного периода тремора в контрольной группе («КМЦ + ареколин») составляло 38,8 с. Производный пара-ментана во всех вводимых животным дозах, как и леводопа, не влиял на этот параметр.

На продолжительность тремора, вызванного ареколином, достоверное влияние оказывал только препарат сравнения леводопа, снижавший среднее значение данного параметра на 17,5 % по сравнению с группой «КМЦ + ареколин». Субстанции производного пара-ментана в дозах 5 и 10 мг/кг не оказывали влияния на продолжительность тремора, а производный пара-ментана в дозе 20 мг/кг проявил выраженную тенденцию к уменьшению продолжительности тремора – снижение среднего значения данного параметра на 10 % по сравнению с группой «КМЦ + ареколин».

Выводы. Субстанция производного пара-ментана DIOL при внутрижелудочном введении в дозе 20 мг/кг проявляет противопаркинсоническую активность при экспериментальной модели тремора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lones M.A., Alty J.E., Cosgrove J., Duggan-Carter P., Jamieson S., Naylor R.F., Turner A.J., Smith S.L. A New Evolutionary Algorithm-Based Home Monitoring Device for Parkinson's Dyskinesia. J Med Syst. 2017 Sep 25; 41(11): 176. doi: 10.1007/s10916-017-0811-7.

ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРА ПСИХОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ ТИЕТАН-СОДЕРЖАЩИХ ФЕНАЦИЛТРИАЗОЛИЙ БРОМИДОВ

Е.В. Волкова, О.С. Лазовая, И.Л. Никитина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа, Россия

Аннотация

Психотропные средства применяются во всех областях медицины, оказывая не только влияние на центральную нервную систему, но и вызывая различные соматотропные эффекты. В настоящее время на отечественном фармацевтическом рынке количество доступных, эффективных и безопасных психотропных средств ограничено, в связи с чем большое значение приобретает поиск новых молекул с психотропной активностью. В экспериментах на мышах оценена психотропная активность пяти тиетан-содержащих гетероциклических соединений с помощью стандартизированных скрининговых тестов при 1-кратном и 14-кратном введении. Обнаружено, что Л-512 (9,84 мг/кг при 14-кратном введении) проявляет антидепрессивноподобную активность и характеризуется седативным действием; Л-524 (10,3 мг/кг при однократном введении) повышал ориентировочно-исследовательскую активность. Все молекулы характеризуются отсутствием токсических рисков и перспективны для дальнейшего исследования.

Ключевые слова: тиетан-содержащие фенацилтриазолий бромиды, антидепрессант, психофармакология.

STUDY OF THE SPECTRUM OF PSYCHOTROPIC ACTIVITY OF THIETAN-PHENOL THIAZOLIUM BROMIDE'S DERIVATES

E.V. Volkova, O.S. Lazovaya, I.L. Nikitina

Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Ufa, Russia

Abstract

Psychotropic drugs are used in all areas of medicine, not only affecting the central nervous system, but also somatotrophic effect. At the moment, there is a shortage of available effective and safe psychotropic drugs on the pharmacological market, so it's important to study new molecules, thietan-phenol thiazolium bromide's derivatives, in which various types of psychotropic activity are found. Two series of experiments were carried out: for 1 and 14 introduction of experimental compounds. After conducting standard screening tests, antidepressant-like and sedative activity was detected in L-512; L-524 increased the orienting-research activity. All the molecules characterizing by the absence of toxic risks and promising for more in-depth study.

Keywords: Thietan-phenol thiazolium bromide's derivatives, antidepressant, psychopharmacology.

Актуальность. Группа психотропных средств характеризуется способностью оказывать психотропное действие на высшие отделы центральной нервной системы, нейротропное – воздействуя на другие её отделы, а также соматотропное, влияя на соматические функции. Поэтому эти лекарственные средства применяются не только в психиатрии, но и в неврологии, терапии, хирургии, акушерстве и других областях медицины.

Принимая во внимание финансовые ограничения системы здравоохранения, постоянное удорожание психиатрической помощи, а также учитывая значительную нестабильность в реализации психотропных препаратов, разработка эффективных и безопасных психотропных средств является актуальной задачей медицины и фармакологии [1].

Перспективным для поиска новых молекул, способных влиять на психические процессы, является класс тиетан-содержащих гетероциклических соединений (синтезированы на кафедре фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии БГМУ под руководством д-ра фарм. наук Е.Э. Клен), у которых обнаружены различные виды биологической активности, в том числе психотропная [2].

Материал и методы. Эксперименты выполнены на неинбредных мышах-самцах массой 20–24 г, содержащихся в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и

пище. Для оценки первичной фармакологической активности эффект соединений изучен с помощью батареи стандартных валидизированных фармакологических тестов: «открытое поле» (ОП), «принудительное плавание» (ПП), «подвешивание за хвост» (ПХ). Соединения с лабораторными шифрами Л-512, Л-521, Л-524, Л-525 и Л-526 вводили внутривентриально однократно за 30 мин до тестирования и в течение 14 дней в дозах, эквивалентных 10 мг/кг флуоксетина. Первичную токсико-фармакологическую характеристику изучали с помощью программы OSIRIS Datawarrior [3,4]. Статистическую обработку проводили в программе «Statistica 10.0».

Результаты. При 14-кратном введении Л-512 вызывал антидепрессивный эффект, снижая индекс депрессивности на 36 % в тесте ПП. В тесте ОП Л-512 достоверно снижал ориентировочно-исследовательскую активность на 30 % и количество перемещений на 36 %, что свидетельствует о возможном седативном эффекте. При однократном введении Л-524 в тесте ПП статистически достоверно снижал количество периодов иммобилизации на 23 % и увеличивал количество выскакиваний на 89 %, в тесте ОП показал тенденцию к увеличению ориентировочно-исследовательской активности на 30 %. Для всех молекул *in silico* спрогнозировано отсутствие мутагенной, канцерогенной, репродуктивной токсичности и удовлетворительные фармакокинетические характеристики (соответствие «правилу пяти» Липинского).

Выводы. Л-512 (при 14-кратном введении) проявляет антидепрессивноподобный и седативный эффекты, Л-524 (при однократном введении) увеличивает ориентировочно-исследовательскую активность. Все соединения характеризуются отсутствием токсических рисков и перспективны для дальнейшего исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чилилов А.М. Развитие государственного сектора медицинских услуг на основе нормативного планирования ресурсов: [дис. канд. экон. наук] [Москва], 2016.
2. Никитина И.Л., Алехин Е.К., Клен Е.Э., Халиуллин Ф.А. Тиазансодержащие гетероциклические соединения – новый класс психотропных веществ. Материалы IV Съезда фармакологов России «Инновации в современной фармакологии» 1821 сентября 2012. г. Казань: Фолиум, 2012. 140.
3. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н., Верстакова О.Л., Журавлева М.В., Лепехин В.К., Утешев Д.Б. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012. 751.
4. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005.

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ПОВЫШЕННЫХ УРОВНЕЙ ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ И ШУМА С ПОМОЩЬЮ ИМПЛАНТАЦИИ БИОИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

А.А. Гостюхина, С.С. Гутор, С.А. Межеричкий

ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», г.Северск, Россия

Аннотация

Исследовано воздействие повышенных уровней общей вибрации и шума на организм лабораторных животных и проведена коррекция с помощью персонализированных клеточных продуктов на основе биodeградируемых матриц. Установлен повреждающий эффект вибрационно-шумового фактора в условиях экспериментальной модели. Применение полилактидного скеффолда, несущего аутологичные мезенхимальные стволовые клетки, на фоне длительного вибрационно-шумового воздействия у крыс показало минимальные изменения в структуре органов-мишеней. При этом определяющим моментом в восстановлении структурных изменений органов являются сроки биodeградации скеффолда и сохранения регенераторного потенциала мезенхимальных стволовых клеток.

Ключевые слова: крысы, биodeградируемый матрикс, коррекция, общая вибрация, шум, мезенхимальные стволовые клетки.

CORRECTION OF DISTURBANCES DURING PROLONGED EXPOSURE TO INCREASED LEVELS OF GENERAL VIBRATION AND NOISE BY IMPLANTATION OF BIOENGINEERING STRUCTURES (EXPERIMENTAL STUDY)

A.A. Gostyukhina, S.S. Gutor, S.A. Mezheritsky

Siberian Federal science-clinical center of Federal medicobiological agency, Seversk, Russia

Abstract

The effect of increased levels of general vibration and noise on the organism of laboratory animals was studied and correction was carried out with the help of personalized cellular products based on biodegradable matrices. The damaging effect of the vibration-noise factor in condition experimental model. The use of polylactide skeffold carrying autologous mesenchymal stem cells against a background of prolonged vibration-noise effect in rats showed minimal changes in the structure of target organs. In this case, the defining moment in restoring the structural changes in the organs is the timing of the biodegradation of the skeffold and the preservation of the regenerative potential of the mesenchymal stem cells.

Keywords: rats, biodegradable matrix, correction, general vibration, noise, mesenchymal stem cells.

Актуальность. Сохранение и укрепление здоровья работающего населения является одной из приоритетных задач отечественного здравоохранения [1]. Неблагоприятное воздействие факторов рабочей среды наиболее выражено на предприятиях угольной промышленности, цветной и черной металлургии, энергетического и тяжелого машиностроения. В структуре профессиональной заболеваемости работников этих отраслей стабильно ведущее место занимают заболевания, связанные с воздействием физических факторов – 38,6 %, на долю вибрационной патологии приходится 17 %. Ведущими механизмами в патогенезе вибрационной болезни признаются нарушения функционального состояния сосудистого русла и периферической нервной системы с развитием синдрома вегетативно-сенсорной полиневропатии конечностей и синдрома пояснично-крестцовой радикулопатии [2]. Современный подход в лечении вибрационной болезни представляет широкий комплекс лечебно-профилактических мероприятий включающий в себя медикаментозное лечение, лечение физическими методами и бальнеологические мероприятия. Данный комплекс в большинстве случаев справляется только с симптоматикой и приводит заболевание в состояние короткой ремиссии. На сегодняшний день в России и за рубежом клеточная терапия апробируется при различных патологических состояниях [3].

Таким образом, целью работы являлось экспериментальное обоснование применения метода имплантации мезенхимальных стволовых клеток для профилактики нарушений при длительном воздействии повышенных уровней общей вибрации и шума.

Материал и методы. Экспериментальное исследование было выполнено на 40 половозрелых крысах-самцах породы «Wistar» массой 230–350 г, содержащихся в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе со свободным доступом к воде. Все процедуры с животными выполняли в соответствии с международными правилами и нормами [4]. Животные были разделены на 4 группы, по 10 особей в каждой: контрольная группа № 1 – крысы, которые находились в клетках, установленных на неработающей виброплатформе Clear Fit G-PLATE Compact 101; контрольная группа № 2 – крысы, которых подвергали воздействию общей вертикальной вибрации (частота 35–40 Гц) и шума (94 Дба) с помощью виброплатформы Clear Fit G-PLATE Compact 101 и проводили манипуляции по формированию «кармана» под кожей в правой подмышечной области без введения скеффолда; опытная группа № 1 – крысы, которых подвергали воздействию общей вертикальной вибрации (частота 35–40 Гц) и шума (94 Дба) с помощью виброплатформы Clear Fit G-PLATE Compact 101; опытная группа № 2 – крысы, которых подвергали воздействию общей вертикальной вибрации (частота 35–40 Гц) и шума (94 Дба) с помощью виброплатформы Clear Fit G-PLATE Compact 101 и которым в правую подмышечную область был имплантирован скеффолд с культивированными на нем аутологичными мезенхимальными стволовыми клетками (МСК) костного мозга.

Культуру МСК получали из костного мозга крыс в условиях *in vitro*. Культивирование проводили в атмосфере 5 % углекислого газа в течение 7 дней при $t=37^{\circ}\text{C}$ и 100 % влаж-

ности. Контроль роста клеток осуществляли с помощью микроскопа Optika XDS – 2SFL (Италия).

Для приготовления скеффолда с МСК в концентрации 4×10^4 жизнеспособных клеток культивировали со стерильным полилактидным матриксом (размер 10×10 мм, толщина не более 1 мм) в полной культуральной среде при 37°C и 5 % CO_2 в течение 120 ч. Трехмерный нетканый матрикс (скеффолд) был изготовлен из раствора полимолочной кислоты в Национальном исследовательском Томском политехническом университете методом аэродинамического формования в турбулентном газовом потоке.

Процедуру вибрационно-шумового воздействия выполняли ежедневно по 1 часу в течение 30 дней. После формирования модели патологического состояния крысам проводили хирургические манипуляции.

Показатели психо-эмоционального статуса животного исследовали при помощи установок «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт», а также в тесте принудительного плавания до начала эксперимента и через 30 дней.

Через 14 сут после введения скеффолда с МСК всех животных выводили из эксперимента путем одномоментной декапитации под CO_2 -наркозом. В сыворотке крови определяли активность АЛТ и АСТ, содержания глюкозы и креатинина стандартными биохимическими методами. Для оценки содержания нейронспецифической енолазы и кортикостерона использовали твердофазный неконкурентный иммуноферментный метод согласно инструкции, предлагаемой производителями соответствующих тест-систем. Приготовление гистологических препаратов осуществляли стандартным способом.

При обработке полученных данных были использованы методы статистического описания, включающие проверку на нормальность распределения исследуемого признака по критерию Шапиро – Вилка, расчет среднего (σ_x), ошибки среднего (m), медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q1, Q3), межгрупповое сравнение показателей с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни, Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. После 1 мес вибрационно-шумового воздействия полученные результаты параметров поведенческой активности животных в «Открытом поле» и «Приподнятом крестообразном лабиринте» свидетельствовали о стресс-индуцирующем действии повышенных уровней общей вибрации и шума, что подтверждено повышением содержания в сыворотке крови кортикостерона и нейронспецифической енолазы. Испытания животных в тесте принудительного плавания позволили зафиксировать двукратное снижение уровня физической работоспособности, что может быть обусловлено структурно-функциональными нарушениями в нервно-мышечном аппарате.

Гистологическая оценка состояния внутренних органов крыс при моделировании длительного вибрационно-шумового воздействия показала, что структура миокарда у всех крыс контрольной и опытной групп не отличалась от нормы. В корковом веществе надпочечников у животных при действии вибрации и шума наблюдалась мелкоочаговая делипоидизация цитоплазмы клеток. Кровенаполнение варьировало от участков слабо-умеренного кровенаполнения до очагов резко выраженного капиллярно-венозного полнокровия с эритростазами. Микроциркуляторные расстройства были значительно выражены в глубоких частях пучковой зоны и сетчатой зоне. В мышечной ткани выявлено венозно-капиллярное полнокровие с «монетными столбиками» эритроцитов в капиллярах. В молекулярном и зернистом слоях мозжечка сосуды были выражено полнокровны и резко расширены.

По данным биохимического теста при моделировании вибрационно-шумового воздействия у крыс не отмечалось изменений активности АЛТ, АСТ и уровня глюкозы в сыворотке крови. Однако содержание креатинина в сыворотке крови у экспериментальных животных было снижено на 38,5 %, что может быть признаком мышечной дистрофии или атрофии.

При коррекции клеточными продуктами на основе биodeградируемых матриксов сравнительный анализ продемонстрировал положительную динамику показателей психо-эмоционального статуса, улучшение физической работоспособности, нормализацию уровней кортикостерона и нейронспецифической енолазы сыворотки крови и тенденцию к восстановлению гистологической структуры органов-мишеней у крыс с моделью вибрационно-шумового воздействия при имплантации скеффолдов, несущих мезенхимальные стволовые клетки.

Выводы. Выбранные для моделирования уровни вибрации (30–40 Гц) и шума (94 дБА) оказывали стресс-индуцирующее действие, вызывали снижение физической работоспособности у крыс.

При повышенном уровне вибрационно-шумового воздействия у экспериментальных животных было зафиксировано сильное эмоциональное напряжение отрицательного характера, подтвержденное повышенным содержанием в крови кортикостерона, увеличение уровня нейронспецифической енолазы, микроциркуляторные нарушения, различные виды микроангиопатий с признаками дистрофических изменений в мозжечке, надпочечниках, бедренной мышце.

При коррекции нарушений, вызванных длительным вибрационным и шумовым воздействием с помощью персонифицированных клеточных продуктов на основе биodeградируемых матриц, была отмечена положительная динамика показателей психо-эмоционального статуса, нормализация уровней кортикостерона и нейронспецифической енолазы сыворотки крови и тенденция к восстановлению гистологической структуры органов-мишеней у крыс с моделью вибрационно-шумового воздействия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беско В.А. Организация медицинского обслуживания работников ЛПУ: производственный принцип. Здравоохранение. 2012; (5.): 30–34.
2. Бабанов С.А., Воробьева Е.В. Психологический профиль больных вибрационной болезнью. Медицина труда и промышленная экология. 2011; (1): 11–14.
3. Павлович Е.Р. Регенеративная медицина: плюсы и минусы применения клеточных технологий в медико-биологических исследованиях. Современные наукоемкие технологии. 2013; (2): 103–106.
4. Directive C. 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Off. J. Eur. Commun. 1986; 29; L358.

ИЗУЧЕНИЕ БИОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕФРОЦИТОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ПЕПТИДНОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ТКАНЕЙ СВИНЫХ ПОЧЕК В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОКСАЛАТНОГО НЕФРОЛИТИАЗА

Г.В. Жарикова, В.М. Брюханов

ФГБОУ ВО Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России,
г. Барнаул, Россия

Аннотация

Цель исследования – изучить влияние пептидного комплекса из тканей свинных почек на биосинтетическую активность ядрышковых организаторов нефроцитов в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза. Эксперименты проведены на 24 самцах крыс сток Вистар, разделенных на 2 группы: контрольная и подопытная. Подопытная группа получала пептидный комплекс из тканей свинных почек в дозе 15 мг. Выявление ядрышковых организаторов осуществлялось модифицированным методом Y. Daskal. Проведенные эксперименты показали, что применение пептидного комплекса из тканей свинных почек значительно усиливает биосинтетические процессы в нефроцитах. Повышение активности ядрышкового аппарата клеток проявлялось как увеличением числа ядрышек и числа гранул серебра (фибриллярных центров) в них, так и увеличением содержания клеток с большим количеством фибриллярных центров на 1 ядро.

Ключевые слова: биосинтетическая активность, пептидный комплекс из тканей свинных почек, оксалатный нефролитиаз.

STUDY OF BIOSYNTHETIC ACTIVITY OF NEPHROCYTES DURING LONG-TERM ADMINISTRATION OF PEPTIDE EXTRACT FROM TISSUES OF PORCINE KIDNEYS UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL OXALATE NEPHROLITHIASIS

G.V. Zharikova, V.M. Bryukhanov

FSBEI HPE Altai State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Barnaul,
Russia

Abstract

The aim of the study was to study the effect of peptide complex from pig kidney tissues on the biosynthetic activity of nucleolar organizers of nephrocytes under experimental oxalate nephrolithiasis. The experiments were performed on 24 male Wistar rats, divided into 2 groups: control and experimental. The experimental group received a peptide complex from the tissues of porcine kidneys at a dose of 15 mg. Identification of nucleolar organizers was carried out by the modified method of Y. Daskal. The conducted experiments showed that the use of a peptide complex from porcine tissues significantly enhances biosynthetic processes in nephrocytes. The increase in the activity of the nucleolus apparatus of the cells was manifested as an increase in the number of nucleoli and the number of silver granules (fibrillar centers) in them, and an increase in the content of cells with a large number of fibrillar centers per nucleus.

Keywords: biosynthetic activity, peptide complex from pig kidney tissues, oxalate nephrolithiasis.

Актуальность. Вопрос разработки эффективных и безопасных лекарственных средств для лечения мочекаменной болезни на сегодняшний день по-прежнему остается актуальным. Свиные сырые почки могут являться перспективным сырьем для создания нового лекарственного средства для коррекции нефролитиаза. Из ткани свиных почек нами был получен пептидный экстракт, установлен его аминокислотный состав, а также апробировано его лечебное действие при экспериментальной мочекаменной болезни. Ранее нами было установлено, что трехнедельное применение пептидного экстракта из тканей свиных почек в дозе 15 мг при экспериментальном оксалатном нефролитиазе способствовало 100 % разрушению крупных и средних почечных конкрементов до мелкой пылевидной зернистости в почках подопытных крыс [1]. Известно, что в почках образуются и функционируют так называемые ингибиторы кристаллизации, которые представляют собой высокомолекулярные белки, препятствующие камнеобразованию [2]. В этой связи нас заинтересовал вопрос влияния пептидного комплекса на биосинтетические процессы в нефроцитах в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза. Что и явилось целью настоящего исследования.

Материал и методы. Эксперименты проведены на 24 самцах крыс сток Вистар массой 220–250 г. Животные были разделены на две группы: контрольная и подопытная. В течение шести недель обе группы получали в свободном доступе 1 % раствор этиленгликоля. Крысам подопытной группы с 22-го по 42-й день опыта ежедневно вводили пептидный экстракт из свиных почек через зонд в виде крахмальной взвеси в дозе 15 мг. Пептидный комплекс был получен методом уксуснокислой экстракции [3].

По истечении шести недель крысы подвергались декапитации под эфирным наркозом с соблюдением требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000 г.). Материалом для исследований служила почка. Орган фиксировали в 10 % растворе формалина, обрабатывали по стандартной методике и изготавливали поперечный срез толщиной 6 мкм через почечный сосочек. Выявление ядрышковых организаторов осуществлялось методом Y. Daskal в модификации И.П. Боброва [4]. Статистическую обработку материала проводили при помощи статистического пакета Statistica 10.0. При нормальном распределении данных при проверке статистических гипотез применяли методы параметрической статистики (t-test Стьюдента), а если полученные данные не соответствовали критериям нормального распределения (критерий Шапиро – Уилка $W=0,89$, $p<0,01$), то применяли тест Колмогорова – Смирнова или U-тест Манна–Уитни. Данные считали достоверными при $p<0,05$.

Результаты. Проведенные эксперименты по оценке биосинтетической активности ядрышковых организаторов клеток собирательных трубочек почечного сосочка показали, что в контрольной группе число гранул серебра в ядрышках на 1 ядро составило $2,5\pm0,1$, пределы колебаний числа гранул варьировали от 1 до 3 гранул, модальное значение составило 3 гранулы. Количество ядрышек в ядрах клеток в среднем составило $2,0\pm0,1$, пределы колебаний числа ядрышек варьировали от 1 до 3, модальное значение составило 2 ядрышка. На этом фоне в почках крыс подопытной группы, где 3 нед вводился пептидный комплекс из тканей свиных почек, были получены свидетельства существенного усиления биосинтетических процессов. Оказалось, что в подопытной группе по сравнению с контролем заболевания выявлялось достоверное ($p=0,0000001$) возрастание среднего числа гранул серебра в ядрышках на 1 ядро до $3,4\pm0,1$, пределы колебаний числа гранул варьировали от 2 до 7, модальное значение составило 3 гранулы. Количество ядрышек в данной группе в среднем было также достоверно ($p=0,000035$) больше, чем в контроле ($2,7\pm0,1$), пределы колебаний числа ядрышек варьировали от 1 до 4, модальное значение составило 3 ядрышка.

Как известно, ядрышко – это динамичная структура, его морфология тесно связана с биогенезом рибосом: синтезом прерибосомальной РНК, процессингом и миграцией РНП-частиц в нуклеоплазму, а затем и в цитоплазму. Чем выше активность ядрышка и чем больше в нем фибриллярных центров, тем выше синтез белка в клетке и ее биосинтетическая активность [5]. На основании проведенных нами исследований можно сделать вывод о существенном усилении синтеза белка в нефроцитах.

Выводы. Таким образом, результаты эксперимента показали, что при применении пептидного комплекса из тканей свиных почек отмечалось увеличение активности ядрышковых организаторов клеток почки по сравнению с контролем. Повышение активности ядрышкового аппарата клеток проявлялось как увеличением числа ядрышек и числа гранул серебра (фибриллярных центров) в них, так и увеличением содержания клеток с большим количеством фибриллярных центров на 1 ядро. На основании полученных данных можно предположить, что усиление биосинтеза белка в нефроцитах имеет весомое значение для возникновения антилитогенного эффекта пептидного комплекса из тканей свиных почек.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жариков А.Ю., Киселев В.И., Салдан И.П., Жарикова Г.В., Лепилов А.В., Бобров И.П. Морфологическая оценка влияния пептидного комплекса из тканей свиных почек на течение экспериментальной мочекаменной болезни. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017; 164(8): 237–240.
2. Bird V.Y., Khan S.R. How do stones form? Is unification of theories on stone formation possible? Arch Esp Urol. 2017; 70(1): 1227.
3. Хавинсон Х.В. Малинин В.В., Рыжак Г.А. Способ получения средства для поддерживающей терапии, обладающего тканеспецифической активностью. Патент № 2290936 РФ. Опубл. 31.01.2006.
4. Бобров И.П. Модифицированный метод выявления аргирофильных белков области ядрышкового организатора на парафиновых срезах. Морфология. 2010; 138(5): 65–67.
5. Челидзе П.В., Зацепина О.В. Морфофункциональная классификация ядрышек. Успехи современной биологии. 1988; 105(2): 252–269.

БЛОКАДА D2 ДОФАМИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ – НОВЫЙ ПОДХОД К РЕГУЛЯЦИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК И NOTCH1 СИГНАЛИНГА ПРИ ЭМФИЗЕМЕ ЛЕГКИХ

М.А. Жукова², Э.С. Пан¹, В.А. Крупин¹

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины
имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, г. Томск, Россия²

Аннотация

На модели эмфиземы легких, вызванной экстрактом сигаретного дыма и эластазой, было показано, что спиперон оказывает противовоспалительное действие, уменьшает площадь эмфиземы, стимулирует регенерацию альвеолярных клеток и микрососудистого русла. Эффекты спиперона связаны с изменением активности прогениторных клеток, в частности клеток, экспрессирующих Notch1.

Ключевые слова: эмфизема, спиперон, прогениторные клетки, Notch1 сигналинг.

THE BLOCKADE OF D2 DOPAMINE RECEPTORS IS A NEW APPROACH TO THE REGULATION OF ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS AND NOTCH1 SIGNALING IN EMPHYSEMA

М.А. Zhukova², E.S. Pan¹, V.A. Krupin¹

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research
Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

Abstract

On the model of emphysema of the lungs caused by an extract of cigarette smoke or elastase, it was shown that spiperone has an anti-inflammatory effect, reduces the area of emphysema, stimulates the regeneration of alveolar cells and the microvascular channel. The effects of spiperone are associated with changes in the activity of the progenitor cells, in particular cells expressing Notch1.

Keywords: emphysema, spiperone, progenitor cells, Notch1 signaling.

Актуальность. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) представляет собой прогрессирующее заболевание легких с хроническим воспалением альвеолярной ткани. Терапия ХОБЛ основывается на использовании лекарственных средств (бронхолитики, вакцины, глюкокортикоиды, антибиотики, муколитики, иммунорегуляторы) и немедикаментозных подходах (оксигенотерапия, трансплантация легких и др.). Однако известные лекарственные средства не способны стимулировать регенерацию альвеолярной паренхимы, полного выздоровления больного достичь невозможно [1]. Органная трансплантация ограничена из-за отсутствия необходимого донорского материала [2]. Применение клеточной терапии затруднено в связи с недостаточностью сведений о судьбе введенных в организм клеток и механизме регуляции их функций [3].

Перспективным направлением терапии ХОБЛ может являться регуляция активности костномозговых и тканеспецифических стволовых и прогениторных клеток больного. Как известно, стволовые и прогениторные клетки взрослого человека обладают достаточно высоким потенциалом для регенерации специализированных клеток и тканей при патологии. Между тем во врачебной практике нет средств регуляции свойств костномозговых и тканеспецифических стволовых клеток (СК) при ХОБЛ (мобилизации, миграции, пролиферации, дифференцировки и др.), применение которых могло бы привести к восстановлению структуры и функции микрососудистого русла, альвеолярного эпителия, соединительнотканной компоненты легкого. В качестве возможного средства, способного оказать влияние на эндотелиальные стволовые клетки-предшественницы, нами предложен спиперон – антагонист D_2 рецепторов. Выбор в пользу спиперона обусловлен его положительным влиянием на альвеолярную паренхиму при фиброзе легкого [4].

Цель исследования – изучить влияние спиперона на воспаление, микроциркуляторные нарушения, альвеолярный эпителий и прогениторные клетки при эмфиземе легкого.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на мышах-самках линии C57Bl/6 в возрасте 8 нед. Эмфизему легких вызывали свиной панкреатической эластазой или экстрактом табачного дыма [5]. Исследовали эффекты спиперона (Sigma, США) в дозе 0,15 мг/кг. В морфологических исследованиях оценивали гистоархитектонику ткани легких: наличие отека, воспалительную инфильтрацию, венозный застой, утолщения стенок сосудов и бронхов, относительную площадь эмфизематозно-расширенных альвеол. Иммуногистохимическое исследование легких проводили стрептавидин-биотин-пероксидазным методом с использованием кроличьих поликлональных специфических мышинных антител «Abcam» к CD16, CD31 и пан-цитокератину (AE1/AE3). В цитофлуориметрических исследованиях использовали прибор FACS Canto II с программным обеспечением FACS Diva («BD Biosciences», США). По результатам исследования экспрессии антигенов CD31, CD34, CD45, CD49f, CD73, CD90, CD117, CD309, CD326, TER119 на мононуклеарах легких делали вывод о количестве мультипотентных предшественников эпителиальных клеток ($CD326^{hi}CD49f^+CD45^-$) и эпителиальных прогениторных клеток ($CD45^-TER119^-CD49f^+$), предшественников ангиогенеза ($CD45^-CD309^+CD117^+$) и прогениторных эндотелиальных клеток ($CD45^-CD31^+CD34^+$), экспрессирующих рецептор к VEGF (Vascular *endothelial* growth factor), в легких и крови. При изучении экспрессии внутриклеточного рецептора Notch1-сигналинга на клетках использовали антитела Notch1 (PE) («BD Biosciences», США).

Результаты. Показано, что спиперон уменьшает воспаление и инфильтрацию интерстиция альвеол и альвеолярных ходов $CD16^+$ клетками (лимфоциты, макрофаги, нейтрофилы), препятствует разрушению межальвеолярных перегородок и эмфизематозному расширению альвеол, при этом повышается экспрессия CD31 на клетках просветов кровеносных сосудов и цитокератина, локализуя диффузно в альвеолярной ткани. Одновременно с регенерацией эпителия и эндотелия отмечается повышение количества различных предшественников эндотелиальных клеток, прогениторных эпителиальных клеток, мультипотентных

мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) в легких и крови. Изменение числа Notch1⁺ клеток в ряде фракций предшественников ангиогенеза и прогениторных эндотелиальных клеток, экспрессирующих VEGF, и ММСК указывает на вовлечение Notch 1 сигналинга в регенерацию микрососудистой сети легких.

Выводы. Полученные результаты могут стать основой для разработки нового подхода к ускорению регенерации альвеолярной ткани при ХОБЛ, направленного на коррекцию свойств прогениторных клеток и активности Notch1 сигналинга препаратами, угнетающими активность дофаминной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чучалин А.Г. Клинические рекомендации. Пульмонология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 240.
2. Щербук Ю.А., Багненко С.Ф., Гриненко О.А., Полушин Ю.С., Логинов И.В., Бутина Л.В., Резник О.Н., Соколов А.В., Кечаева Н.В., Теплов В.М., Семенов М.Е. Дефицит донорских органов: причины, проблемы, пути решения. Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2011; VIII(2): 31–42.
3. Tzouveleakis A., Laurent G., Bouros D. Stem cell therapy in chronic obstructive pulmonary diseases. Seeking the Prometheus effect. *Current Drug Targets*. 2013. Feb; 14(2): 246–52.
4. Skurikhin E.G., Khmelevskaya E.S., Ermakova N.N., Pershina O.V., Reztsova A.M., Krupin V.A., Stepanova I.E., Reztsova V.M., Reikhardt D.V., Dygai A.M. Effect of siperone on mesenchymal multipotent stromal and hemopoietic stem cells under conditions of pulmonary fibrosis. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2014. May; 157(1): 132–7. doi: 10.1007/s10517-014-2508-y.
5. Chen Y., Hanaoka M., Chen P., Droma Y., Voelkel N.F., Kubo K. Protective effect of beraprost sodium, a stable prostacyclin analog, in the development of cigarette smoke extract-induced emphysema. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*. 2009. Apr; 296(4): L648–56. doi: 10.1152/ajplung.90270.2008.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТОВ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В ТЕРАПИИ МУЖСКОЙ ИНФЕРТИЛЬНОСТИ

С.И. Камалова, В.А. Григорьева

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Терапия антиоксидантами является главной стратегией лечения мужской инфертильности, обусловленной структурными и функциональными нарушениями сперматозоидов. Однако данные о степени выраженности их фармакологической активности достаточно противоречивы. В экспериментальных моделях бесплодия, обусловленных патоспермией, а также ДНК-разрывами сперматозоидов изучена эффективность фенольных антиоксидантов: диgidрохверцетина, пара-тирозола, диборнола, простагенина. Высокий терапевтический эффект в первой модели выявлялся у диборнола, во второй – у диgidрохверцетина. Установлено, что нормализация антипрооксидантного баланса в мужских половых клетках является обязательным, но не достаточным условием для проявления максимального терапевтического эффекта.

Ключевые слова: мужская инфертильность, патоспермия, фрагментация ДНК сперматозоидов, антиоксиданты фенольной природы.

EFFECTIVENESS OF PHENOLIC ANTIOXIDANTS IN THE TREATMENT OF MALE INFERTILITY

S.I. Kamalova, V.A. Grigorieva

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Antioxidant therapy is the main strategy for treating male infertility due to structural and functional disorders of spermatozoa. However, the data on the degree of expression of their pharmacological activity, in this respect, are quite contradictory. In the experimental models of infertility caused by pathospermia, as well as DNA-ruptured spermatozoa, the effectiveness of phenolic antioxidants was studied: dihydroquercetin, para-tyrosol, diborol, prostagenin. High therapeutic effect in the first model was detected in diborol, in the second –

in dihydroquercetin. It has been established that the normalization of antiprooxidant balance in male germ cells is mandatory, but not sufficient for the manifestation of maximum therapeutic effect.

Keywords: male infertility, pathospermia, fragmentation of sperm DNA, antioxidants of phenolic nature.

Актуальность. В настоящее время отмечается беспрецедентное снижение фертильности мужчин, что связывают с возрастанием уровня экзогенных токсических воздействий, которые, как известно, инициируют образование свободных радикалов [1]. В большинстве случаев при этом наблюдается патоспермия и повреждение ДНК сперматозоидов. Основной стратегией лечения этих видов патологий является использование антиоксидантов [2]. Однако эффективность антиоксидантной терапии, по данным клинических наблюдений, невелика. Одной из причин этого может быть нерациональный подход к выбору вида антиоксидантной терапии. Поиск избирательно действующих антиоксидантов является актуальным. В настоящей работе изучена эффективность антиоксидантов дигидрохверцетина, *para*-тирозола, диборнола и простагенина, в экспериментальных моделях патоспермии и мужского бесплодия, обусловленного повреждением ДНК-сперматозоидов.

Материал и методы. В работе использовались 120 половозрелых крыс-самцов популяции Вистар (возраст 4 мес). Для моделирования бесплодия, обусловленного патоспермией, животным вводили этопозид. ДНК повреждения спермиев вызывали введением паклитаксела. Цитостатические препараты вводили однократно внутривенно в МПД. Исследуемые антиоксиданты диборнол (10 мг/кг), простагенин (10 мг/кг), дигидрохверцетин (10,4 мг/кг) *para*-тирозол (7,8 мг/кг) и препарат сравнения – мексидол (50 мг/кг) вводили в течение 5 сут до и 5 сут после цитостатического воздействия. Все исследуемые показатели определяли через сутки после окончания введений антиоксидантов. Критериями эффективности являлись: в модели патоспермии – общее количество сперматозоидов (ОКС) на эпидидимис (млн), процент подвижных (ПФ) и патологических форм спермиев (ПатФ); в модели ДНК-повреждений сперматозоидов – процент повреждений ДНК сперматозоидов. Последний определяли методом «ДНК-комет» [3]. Анти-прооксидантный баланс (АОА/Про) подсчитывали как отношение SmАОА к SmПро. Прооксидантную (Про) и антиоксидантную (АОА) активности гомогената мужских половых клеток определяли методом хемилюминесценции. В качестве количественного показателя использовали уровень светосуммы (Sm), который выражали в RLU/1г ткани/сек, где RLU (относительная единица света relative light units=10 фотонов). Результаты обрабатывали методом вариационной статистики с использованием непараметрического U критерия Манна – Уитни.

Результаты. ОКС и ПФ на фоне введения этопозиды и почти всех антиоксидантов статистически значимо не превышали контрольные значения (этопозид) и оказались сниженными по сравнению с фоном. Исключение составили крысы, получавшие диборнол. Оба показателя на фоне его введения возрастали на 15 % и 54 % соответственно. Процент ПатФ мужских половых клеток снижался (на 21–40 %) по сравнению с таковым в контроле (этопозид) во всех экспериментальных группах, за исключением животных, получавших мексидол. Наибольшая активность выявлялась у диборнола. В половых клетках животных почти всех экспериментальных групп (за исключением группы крыс, которым вводили препарат сравнения) отмечалась нормализация про-антиоксидантного баланса. Наиболее приближенным к фону АОА/Про баланс был в группах животных, получавших *para*-тирозола и диборнола. Обращает на себя внимание тот факт, что, несмотря на сходный уровень АОА/Про баланса, эффективность диборнола оказалась несопоставимо выше по сравнению с *para*-тирозолом. Одной из причин этого, возможно, является способность диборнола стимулировать образование стартового фермента гликолиза – спермоспецифичной изоформы глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, который в значительной степени обуславливает энергообеспечение, необходимое для движения спермиев. Это косвенно подтверждают данные литературы о способности диборнола стимулировать супероксиддисмутазу.

В модели мужского бесплодия, обусловленного повреждением ДНК сперматозоидов, наблюдалось статистически значимое снижение (на 33 %) уровня фрагментации ДНК по сравнению с контролем (паклитаксел) у животных, получавших паклитаксел совместно с дигидрохверцетином. При сочетанном введении паклитаксела и *para*-тирозола наблюдалась лишь тенденция к снижению этого показателя. Уровень SmПро на фоне введения дигидрохверцетина и *para*-тирозола сокращался в 2 раза, SmАОА возрастала (в 5 и 4,6 раза соответственно), АОА/Про баланс увеличился (в 8,5 и 9,1 раза соответственно) относительно показателей контроля. В группах животных, получавших паклитаксел совместно с

диборнолом, простагенином и мексидолом, отмеченные выше показатели не отличались от контрольных значений. Следует отметить, что, несмотря на то, что на фоне введения *пара*-тирозолом и дигидрокверцетина АОА/ПРО был сходным, эффективность последнего оказалась существенно выше. Этот эффект может быть связан с тем, что дигидрокверцетин, как известно, воздействует на более широкий спектр свободных радикалов, чем *пара*-тирозол. Кроме того, он обладает способностью повышать экспрессию детоксицирующих генов GSTM1, GSTM2, GSTT2, GSTP1.

Выводы

1. В модели патоспермии эффективность проявлялась на фоне введения всех исследуемых антиоксидантов. Наиболее выраженными терапевтическими свойствами обладал диборнол.

2. В модели мужского бесплодия, обусловленного повреждением ДНК-сперматозоидов, терапевтический эффект выявлялся в группах животных, получавших паклитаксел совместно с дигидрокверцетином и *пара*-тирозолом. Наиболее выраженными свойствами обладал дигидрокверцетин.

3. Нормализация анти-прооксидантного баланса является обязательным, но не достаточным критерием высокой эффективности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Евдокимов В.В., Жуков О.Б., Кастрикин Ю.В., Байжустанов А.А., Туровецкий В.В., Пирутин С.К. Оксидативный стресс и патозооспермия. Андрология и генитальная хирургия. 2017; 18(2): 27–32. doi:10.17650/2070-9781-2017-18-2-27-32.
2. Agarwal A., Roychoudhury S., Bjugstad K.B., Cho C.L. Oxidation–reduction potential of semen: what is its role in the treatment of male infertility? Ther. Adv. Urol. 2016; 8 (5):302–318. doi: 10.1177/1756287216652779.
3. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2013, 944.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА ПЛОДОВ РЯБИНЫ ЧЕРНОПЛОДНОЙ (*ARONIA MELANOCARPA* (MICHX.) ELLIOTT) НА РАЗВИТИЕ ДОКСОРУБИЦИН-ИНДУЦИРОВАННОГО АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА

К.М. Кириленко¹, Е.П. Федорова^{1,2}, О.Ю. Рыбалкина²

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия¹
Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

Выявлена эритропозстимулирующая активность экстракта плодов аронии черноплодной (*Arónia melanocarpa* (Michx.) Elliott.) в условиях доксорубин-индуцированного анемического синдрома у мышей.

Ключевые слова: доксорубин, анемический синдром, эритроидный росток кроветворения, арония черноплодная, экстракт.

THE STUDY OF THE EFFECT OF THE BLACK CHOKEBERRY (*ARONIA MELANOCARPA* (MICHX.) ELLIOTT) FRUIT EXTRACT ON THE DOXORUBICIN-INDUCED ANEMIC SYNDROME DEVELOPMENT

K.M. Kirilenko¹, E.P. Fedorova^{1,2}, O.Yu. Rybalkina²

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia¹
Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

Erythropoiesis-stimulating activity of the black chokeberry (*Arónia melanocárpa* (Michx.) Elliott.) fruit extract under conditions of the doxorubicin-induced anemic syndrome was detected.

Keywords: Doxorubicin, anemic syndrome, hematopoietic erythroid lineage, black chokeberry, fruit extract.

Актуальность. Одним из основных средств терапевтического лечения злокачественных новообразований является цитостатическая терапия. Несмотря на высокую противоопухолевую активность, цитостатики обладают побочным действием, среди которых особое место занимает угнетение эритропоэза, что приводит к ухудшению состояния таких пациентов [1,2]. В онкофармакологии подающим надежды направлением является поиск препаратов на основе природных соединений, снижающих анемический синдром. Перспективными в этом плане могут быть фенольные соединения, в частности, антоцианы. Среди антоцианосодержащих растений можно выделить растения рода *Aronia*. Ряд исследований доказывают возможность использования рябины черноплодной (*Arónia melanocárpa* (Michx.) Elliott.) в качестве источника для получения препаратов, снижающих выраженность анемического синдрома на фоне развития сахарного диабета [3]. Также в литературе имеются сведения о противоопухолевом действии *Arónia melanocárpa* (Michx.) Elliott. [4].

Цель – изучить влияние экстракта плодов рябины черноплодной (*Arónia melanocárpa* (Michx.) Elliott) на эритроидный росток кроветворения в условиях доксорубицин-индуцированного анемического синдрома у здоровых животных.

Материал и методы. Эксперимент выполнен на 78 мышцах-самках линии C57BL/6. В качестве модели угнетения эритроидного ростка кроветворения использовалась цитостатическая миелосупрессия, вызванная однократным внутрибрюшинным введением интактным животным доксорубицина (цитостатический антибиотик антрациклинного ряда) в дозе 6 мг/кг (максимально переносимая доза). Экстракт рябины черноплодной (*Arónia melanocárpa* (Michx.) Elliott), полученный на кафедре фармакогнозии с курсами ботаники и экологии СибГМУ [5], вводили мышам внутривентрикулярно в дозе 5 мл/кг ежедневно в течение 14 сут, начиная через 24 часа после инъекции доксорубицина. Показателей периферической крови (общее количество эритроцитов, гемоглобин, гематокрит, ретикулоциты), костного мозга (общее количество миелокариоцитов, миелограммы) и его клональной активности определяли на 0, 3, 5, 7, 10, 12 и 15-е сут после введения цитостатика стандартными гематологическими методами. Статистическая обработка результатов производилась с использованием непараметрических методов Вилкоксона–Манна–Уитни [6].

Результаты. Однократное внутрибрюшинное введение доксорубицина в дозе 6 мг/кг оказывает угнетающее действие на эритроидный росток кроветворения. Так, динамика содержания ретикулоцитов в периферической крови животных характеризовалась развитием ретикулоцитопении. Максимальное падение числа ретикулоцитов наблюдалось на 5-е сут эксперимента: их количество в периферической крови мышей, получавших доксорубицин, снизилось в 3,8 раза ($p < 0,01$) относительно показателя у здоровых животных. Содержание общего количества эритроцитов (на 3 и 5-е сут), а также уровень гемоглобина (на 5-е сут) в периферической крови в группе монокимиотерапии оставались достоверно ниже значений у мышей группы интактного контроля. Аналогичные результаты выявлены при оценке основных показателей миелограмм и клональной активности.

Курсовое введение экстракта плодов рябины черноплодной (*Arónia melanocárpa* (Michx.) Elliott) оказало стимулирующее действие на процесс эритропоэза у мышей в условиях цитостатического угнетения эритроидного ростка кроветворения. На 3–12-е сут эксперимента количество ретикулоцитов у животных, получавших экстракт, было достоверно выше значений в группе монокимиотерапии. Кроме того, на 3, 10-е сут включение экстракта плодов аронии черноплодной в схему химиотерапии приводило к достоверному росту содержания общего количества эритроцитов, уровня гемоглобина и гематокрита в периферической крови животных относительно таковых показателей в группе мышей, получавших только доксорубицин. Анализ миелограмм показал достоверное увеличение содержания эритроидных клеток в костном мозге в группе мышей, получавших растительный препарат, на 3 (в 3,4 раза), 5 (в 2,2 раза), 7 (в 1,8 раза), 10 (1,6 раза), 12-е сут (в 1,3 раза). При изучении колониеобразующей способности кроветворных клеток-предшественников эритропоэза в костном мозге у мышей, получавших доксорубицин, выявлено достоверное снижение содержания КлОЕ-Э и КОЕ-Э

на 3, 5, 7-е сут после инъекции цитостатика, с последующим их восстановлением на 15-е сут. Анализ колониеобразующей способности костного мозга мышей после применения экстракта плодов аронии черноплодной (*Arónia melanocárpa (Michx.) Elliot.*) на фоне однократного цитостатического воздействия показал достоверное увеличение выхода КлОЕ-Э и КОЕ-Э. Кроме того, стимулирующее действие экстракта в отношении эритропоэтических прекурсоров в костном мозге мышей отмечено на 5, 12 и 15-е сут после инъекции цитостатика. Так, количество КлОЕ-Э на 12 и 15-е сут эксперимента достоверно повысилось в 1,4 и 2,0 раза соответственно относительно этого показателя в группе монокимиотерапии. На 5-е сут наблюдалось увеличение числа КОЕ-Э в 3,0 раза.

Выводы. Комбинированное использование экстракта плодов аронии черноплодной (*Arónia melanocárpa (Michx.) Elliot.*) в дозе 5 мл/кг совместно с доксорубицином препятствует развитию анемического синдрома за счет мобилизации эритроидных клеток-предшественников костного мозга, что приводит к увеличению выхода клеток эритроидного ростка кроветворения из костного мозга в периферическую кровь животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Новицкий В.В., Степная Е.А., Гольдберг В.Е., Колосова М.В., Рязанцева Н.В., Корчин В.И. Эритроциты и злокачественные новообразования. Томск: СГТ, 2000. 288.
2. Королева И.А., Копн М.В., Шаплыгин Л.В. Профилактика и коррекция нейтропении и анемии, вызванных противоопухолевой химиотерапией. Клиническая онкогематология. 2012; 5(3): 246–254.
3. Ciocoiu M., Miron A., Bădescu M. New polyphenolic extracts for oxidative stress treatment in experimental diabetes. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi. 2008; 112: 757–763.
4. Thani N.A., Keshavarz S., Lwaleed B.A., Cooper A.J., Rooprai H.K. Cytotoxicity of gemcitabine enhanced by polyphenolics from *Arónia melanocarpa* in pancreatic cancer cell line AsPC-1. J Clin Pathol. 2014; 67: 949–954.
5. Андреева В.Ю., Калинкина Г.И., Коломиец Н.Э., Исайкина Н.В. Методика определения антоцианов в плодах аронии черноплодной. Фармация, 2013; 3: 19–21.
6. Гмурман В.Е. Теория вероятностей и математическая статистика: учеб. Пособие для вузов. М: Высш. шк., 2002. 479.

МЕТОД ОЦЕНКИ КЛЕТОЧНОГО СТРЕССА ДЛЯ СКРИНИНГА ПОТЕНЦИАЛЬНО ТОКСИЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Л.С. Ключова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», г. Томск, Россия

Аннотация

Методы фенотипического скрининга на основе флуоресцентной визуализации имеют большой потенциал для мониторинга клеточных реакций на лекарственные препараты. Данное исследование направлено на разработку скринингового метода для выявления фенотипических изменений липофильных структур клеток, окрашиваемых DiD (1,1'-Diocadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindodicarbocyanine perchlorate), при воздействии на них потенциально токсичных препаратов. В дальнейшем этот метод предполагается использовать для оценки морфологических изменений клеток при поиске новых лекарств, в том числе и химиопрепаратов.

Ключевые слова: клеточный стресс, фенотипический скрининг, флуоресцентное окрашивание.

METHOD FOR ASSESSING CELLULAR STRESS FOR SCREENING POTENTIALLY TOXIC COMPOUNDS

L.S. Klushova

Federal State Budget Scientific Institution «Research Institute of Molecular Biology and Biophysics», Tomsk, Russia

Abstract

Methods of phenotypic fluorescent imaging-based screening (high content screening) have a great potential for monitoring cellular responses to drugs. This study aimed at the development of a screening method to detect phenotypic changes in lipophilic cellular structures stained with DiD (1,1'-Diocadecyl-3,3,3',3'-

tetramethylindodicarbocyanine perchlorate) under the influence of potentially toxic drugs. In the future, this method is supposed to be used to assess morphological changes of cells in the search for new drugs, including chemotherapy drugs.

Keywords: cellular stress, phenotypic screening, fluorescent staining.

Актуальность. Скрининговый метод анализа представляет собой мощный инструмент для изучения внутриклеточных процессов [1] и поиска новых лекарств. В настоящее время существует необходимость разработки методов фенотипического скрининга для тестирования лекарственных препаратов на потенциальную токсичность [2].

Оценка изменений внутриклеточных структур с помощью флуоресцентной окраски позволяет выявить незначительные изменения в морфологии клеток на нетоксичном уровне. DiD представляет собой аналог люминесцентных липофильных карбоцианиновых красителей (DiI), флуоресцирующих при включении в мембраны. Простая процедура окрашивания, структурное сходство с фосфолипидами клеточных мембран и длительное сохранение в клетках являются одними из преимуществ DiD для скрининговых технологий. Предполагается, что выявление фенотипических изменений липофильных структур [3], окрашиваемых данным красителем, может быть использовано для мониторинга клеточных реакций на возможное действие лекарства.

Целью настоящего исследования была разработка скринингового метода анализа на основе флуоресцентной визуализации для выявления фенотипических изменений липофильных структур клеток в ответ на клеточный стресс.

Материал и методы. Исследование проводили на клеточных линиях рака молочной железы MCF7 и карциномы гортани Her2. Для оценки морфологических изменений, детектируемых с помощью DiD, использовали различные концентрации следующих химических соединений: эстрогена (0,01–5 мкМ), CoCl_2 (0,5–10 мМ), бензопирена (1–25 мкМ), DDT (1–40 мкМ) и метилхолантрена (1–40 мкМ).

Клетки инкубировали с препаратами в течение 24 ч при 37 °C 5 % CO_2 в 96-луночном планшете, затем фиксировали 4 % раствором параформальдегида в течение 10 мин и промывали натрий-фосфатным буфером (PBS). Одновременно с пермобилизацией 0,1 % Triton X100 в PBS проводили окраску клеток DiD в течение 30 мин. За 5 мин до окончания инкубации добавляли Hoechst (33342) для визуализации ядер.

При помощи анализатора IN Cell Analyzer 2200 (GE Healthcare) были получены изображения (по 6 полей на лунку) с увеличением $\times 20$ (0.45NA). Съемку проводили в трех каналах: DAPI (возбуждение 390/18 нм, эмиссионный фильтр 435/48 нм, время экспозиции 0,1 с), Cy5 (возбуждение 632/22 нм, эмиссионный фильтр 679/34 нм, время экспозиции 0,2 с), Brightfield (возбуждение 595/10 нм, эмиссионный фильтр 587/45 нм, время экспозиции 0,8 с). Для обработки изображений были использованы специально разработанные протоколы анализа с помощью программного обеспечения IN Cell Investigator (GE Healthcare). Качественную оценку морфологии клеток проводили визуальным контролем для подтверждения индукции клеточного стресса.

Результаты. В клетках MCF7 и Her2 были выявлены фенотипические изменения при реакции на различные концентрации эстрогена, CoCl_2 , бензопирена, DDT и метилхолантрена (MX). На рис.1 представлены результаты фенотипического изменения клеток MCF7 на примере MX по трем параметрам: площадь клеток, интенсивность флуоресценции DiD и средняя интенсивность флуоресценции DiD на единицу площади (DxA).

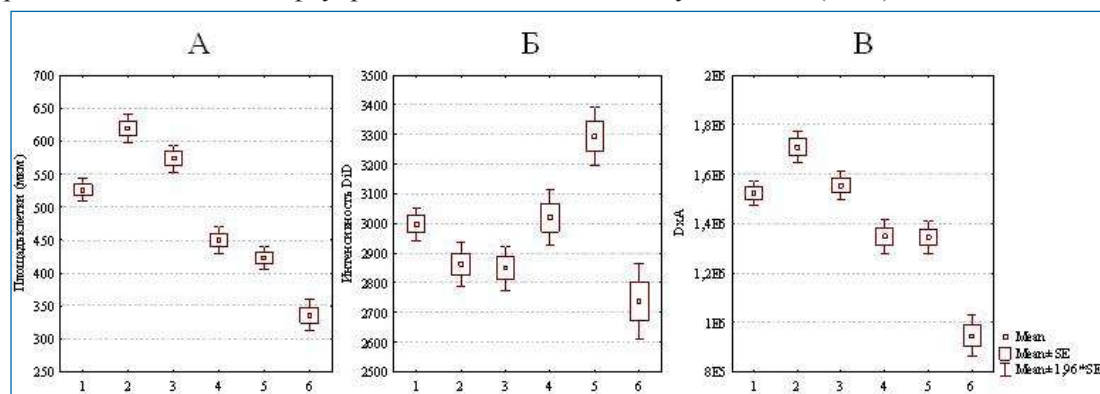


Рис.1 Изменение площади клеток MCF7 (А), интенсивности флуоресценции DiD (Б) и DxA (В) в зависимости от концентрации MX (1–контроль; 2–1 мкМ; 3–5 мкМ; 4–10 мкМ; 5–20 мкМ; 6–40 мкМ).

При воздействии низкой концентрации МХ площадь клеточных структур, окрашенных DiD, увеличивалась, при более высоких концентрациях уменьшалась. При этом для интенсивности флуоресценции DiD наблюдалась обратная зависимость, что связано с непосредственным изменением площади клеток и концентрацией (сжатием) липофильных компонентов при стрессировании. При максимальной концентрации МХ интенсивность флуоресценции DiD резко снизилась, что говорит о высокой токсичности препарата при такой концентрации. Изменение параметра DxA повторяет концентрационную зависимость изменения площади клеток. Аналогичный анализ был проведен для всех препаратов на обеих клеточных линиях. Была показана концентрационная зависимость выбранных параметров для линий MCF7 и Hep2.

Выводы. Скрининговый анализ по выявлению фенотипических изменений липофильных структур клеток MCF7 и Hep2, окрашиваемых DiD, с целью мониторинга клеточных реакций на воздействие потенциально токсичных препаратов показал, что метод окраски DiD позволяет выявить изменения в морфологии клеток. Данный метод может быть использован для оценки морфологических изменений при поиске лекарств, в том числе и химиопрепаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mattiazzi Usag M., Styles E.B., Verster A.J., Friesen H., Boone C., Andrews B.J. High-Content Screening for Quantitative Cell Biology. Trends Cell Biol. 2016 Aug; 26(8): 598–611. doi: 10.1016/j.tcb.2016.03.008.
2. Wink S., Hiemstra S., Huppelschoten S., Danen E., Niemeijer M., Hendriks G., Vrieling H., Herpers B., van de Water B. Quantitative high content imaging of cellular adaptive stress response pathways in toxicity for chemical safety assessment. Chem Res Toxicol. 2014 Mar 17; 27(3): 338–55. doi: 10.1021/tx4004038.
3. Han J., Kaufman R.J. The role of ER stress in lipid metabolism and lipotoxicity. J Lipid Res. 2016 Aug; 57(8): 1329–38. doi: 10.1194/jlr.R067595.

ЭМПАГЛИФЛОЗИН И ЛИНАГЛИПТИН УМЕНЬШАЮТ СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛУБОЧКОВ ПОЧЕК В МОДЕЛИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

А.И. Корбут, В.В. Климонтов, Н.П. Бгатова, Н.Б. Орлов, А.П. Лыков

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН), г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Эмпаглифлозин и линаглиптин – новые сахароснижающие препараты с доказанными нефропротективными свойствами. Настоящая работа оценивает эффект этих препаратов на структурные изменения в почках в модели сахарного диабета (СД) 2 типа. Эксперимент проведен на мышах линии BKS.Cg-Dock7tm +/+Lep^{db}/J (db/db) и гетерозиготах db/+ без СД. Эмпаглифлозин, линаглиптин, их комбинация либо плацебо вводились в течение 8 нед – с 7 по 15-ю нед жизни животных. По окончании эксперимента проведено биохимическое исследование крови и мочи, определена экскреция альбумина, MCP-1 и TGF-β с мочой, исследована структура клубочков на светооптическом и ультраструктурном уровне. На фоне введения эмпаглифлозина, линаглиптина, либо их комбинации выявлено уменьшение экспансии мезангия, уменьшение толщины гломерулярной базальной мембраны, уменьшение выраженности изменений подоцитов, обусловленных сахарным диабетом.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая нефропатия, эмпаглифлозин, линаглиптин.

EMPAGLIFLOZIN AND LINAGLIPTIN ALLEVIATE RENAL GLOMERULAR CHANGES IN A MODEL OF DIABETIC NEPHROPATHY

A.I. Korbut, V.V. Klimontov, N.P. Bgatova, N.B. Orlov, A.P. Lykov

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Abstract

Empagliflozin and linagliptin are new hypoglycemic agents with shown nephroprotective activity. The study assesses the effect of these medicines on structural changes in the kidneys in a model of type 2 diabetes mellitus (DM). The experiment was carried out on BKS.Cg-Dock^{7M}+/+Lepr^{db}/J (*db/db*) mice and heterozygote *db*/+ mice without DM. Empagliflozin, linagliptin, combination or placebo were administered for 8 weeks from 7 to 15 weeks of life. At the end of the experiment, a biochemical study of blood and urine was performed, urinary albumin, MCP-1 and TGF- β excretion was determined; the glomerular structure was investigated under light and electron microscopy. Under treatment of empagliflozin, linagliptin, and combination, we revealed a reduction of mesangial expansion, reducing the thickness of glomerular basement membrane and alleviating of diabetic podocytopathy.

Keywords: diabetes mellitus, diabetic nephropathy, empagliflozin, linagliptin.

Актуальность. Эмпаглифлозин – ингибитор глюкозо-натриевого контранспортёра (НГЛТ) 2 типа, обладающий сахароснижающим эффектом за счет стимуляции выведения глюкозы с мочой. Линаглиптин является ингибитором фермента дипептидил-пептидазы 4 типа, которому принадлежит основная роль в деградации инкретинов: глюкагоноподобного пептида 1 типа и глюкозозависимого интестинального полипептида – стимуляторов секреции инсулина. В клинических исследованиях показан антиальбинурический эффект линаглиптина у больных СД 2 типа [1]. У эмпаглифлозина показана способность снижать альбинурию и замедлять снижение функции почек [2]. Механизмы нефропротективной активности данных препаратов требуют уточнения.

Цель работы – оценить влияние эмпаглифлозина и линаглиптина на структурно-функциональные изменения в почках в модели СД 2 типа.

Материал и методы. Эксперимент проведен на самцах мышей линии BKS.Cg-Dock^{7M}+/+Lepr^{db}/J (*db/db*) на базе «SPF-виварий» ИЦиГ СО РАН (RFMEFI61914X0005 и RFMEFI62114X0010). Мыши опытной группы получали эмпаглифлозин в дозе 10 мг/кг массы животного, линаглиптин в дозе 10 мг/кг массы тела либо комбинацию эмпаглифлозина и линаглиптина по 10 мг/кг массы тела в 200 мкл физиологического раствора ежедневно. Мыши группы плацебо и контроль (гетерозиготы *db*/+ без СД) получали по 200 мкл физиологического раствора в сутки. Введения осуществляли внутрижелудочно в течение 56 дней – с 7 по 15-ю нед жизни животных. Перед началом на 4 нед и по окончании эксперимента забирали кровь и мочу. По окончании эксперимента забирали материал для гистологического исследования. Композитный состав тела (КСТ) определяли с использованием МР-томографа *EchoMRI-100*. Биохимические исследования проведены на анализаторе Dimension RxL Max (*Siemens*, Германия). Инсулин, глюкагон, грелин, лептин плазмы определяли мультиплексным анализом (*BioRad*, США). Концентрацию альбумина мочи определяли с помощью ИФА (*AssayPro*, США), MCP-1 и TGF- β – тест-систем *eBioscience* (США). Морфологические исследования проведены с помощью светового микроскопа Leica DM2500 (Германия) и электронного микроскопа JEM 1400 (Япония). Микрофотографии морфометрировали с помощью программы *ImageJ* (США).

Результаты. Исходно мыши *db/db* в сравнении с контролем без СД *db*/+ имели большую массу тела, большую долю жировой ткани, меньшую долю безжировой массы тела (БЖМТ), гипергликемию, гиперлептемию, гиперинсулинемию (все $p < 0,0001$) и умеренное снижение уровня грелина в крови ($p = 0,04$). У мышей *db/db* были увеличены экскреция альбумина (АКМ, $p = 0,001$), MCP-1 ($p = 0,00005$) и TGF- β ($p = 0,002$) (концентрации нормированы на концентрацию креатинина мочи). По окончании эксперимента мыши *db/db* в сравнении с контролем *db*/+ характеризовались большей массой почек: абсолютной ($p = 0,04$) и нормированной на БЖМТ ($p = 0,00002$). Мыши *db/db* в сравнении с *db*/+ имели большую долю мезангиума ($p = 0,004$). На ультраструктурном уровне у мышей с СД наблюдалось утолщение ГБМ ($p = 0,02$), уменьшение количества малых ножек подоцитов ($p = 0,03$) при увеличении их толщины ($p = 0,007$) и уменьшении количества фенестр эндотелия ($p = 0,01$). В динамике, по сравнению с началом эксперимента, на 4-й нед в группе комбинации эмпаглифлозина и линаглиптина наблюдалось снижение АКМ ($p = 0,046$). Не выявлено достоверных изменений экскреции MCP-1 и TGF- β на фоне введения эмпаглифлозина и его комбинации с линаглиптином. На фоне введения эмпаглифлозина и его комбинации с линаглиптином наблюдалось увеличение абсолютной массы почек ($p = 0,03$) без изменения массы почек, нормированной на массу тела (общую и БЖМТ). У мышей *db/db*, получавших эмпаглифлозин, линаглиптин

либо их комбинацию, выявлено уменьшение отношения объем мезангиума/объем клубочка, в сравнении с группой плацебо ($p=0,008$ для эмпаглифлозина, $p=0,03$ для линаглиптина и комбинации). На фоне введения препаратов наблюдалось уменьшение толщины ГБМ ($p=0,002$ для групп эмпаглифлозина и линаглиптина, $p=0,01$ для комбинации), увеличение количества отростков подоцитов ($p=0,003$ для линаглиптина, $p=0,03$ для эмпаглифлозина и комбинации) и уменьшение их ширины ($p=0,02$ для групп эмпаглифлозина и линаглиптина, $p=0,001$ для комбинации), увеличение количества фенестр эндотелия ($p<0,01$).

Выводы. Течение диабетической нефропатии у мышей *db/db* с генетически детерминированным СД 2 типа характеризуется большей абсолютной и меньшей относительной массой почек, альбуминурией, экспансией мезангиума, увеличением мочевого экскреции цитокинов с профиброгенными и провоспалительными свойствами (TGF- β и MCP-1), экспансией мезангия, утолщением ГБМ, слиянием отростков подоцитов, уменьшением количества фенестр эндотелия капилляров клубочка. При введении эмпаглифлозина и линаглиптина отмечается достоверное уменьшение фибротических изменений в клубочках и ультраструктурных изменений гломерулярного фильтра.

ЛИТЕРАТУРА

1. Корбут А.И., Климонтов В.В. Терапия, основанная на инкретинах: почечные эффекты. Сахарный диабет 2016; 19(1): 53–63.
2. Корбут А.И., Климонтов В.В. Эмпаглифлозин: новая стратегия нефропротекции при сахарном диабете. Сахарный диабет 2017; 20(1): 75–84.

СОСТОЯНИЕ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ 1–2 СТЕПЕНИ

Л.Ю. Котловская, М.А. Соловьев, А.В. Удут, М.С. Тимофеев

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины
имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Необходимость мониторинга функционального состояния гемостатического потенциала обусловлена, в первую очередь, назначением и/или коррекцией антиагрегантной/ антикоагулянтной терапии, нацеленной на предотвращение развития и манифестации тромботических осложнений.

Ключевые слова: гемостатический потенциал, противотромботическая терапия.

STATE OF HEMOSTATIC POTENTIAL IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION OF 1-2 DEGREES

L.Y. Kotlovskaya, M.A. Soloviv, A.V. Udut, M.S. Timofeev

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research
Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The need to monitor the functional state of the haemostatic potential is primarily due to the appointment and/or correction of antiaggregant / anticoagulant therapy aimed at preventing the development and manifestation of thrombotic complications.

Keywords: hemostatic potential, antithrombotic therapy.

Актуальность. Артериальная гипертензия (АГ) сопровождается приобретением гемостатического потенциала прокоагулянтной направленности, являющейся основной для формирования тромботических осложнений, таких как инфаркт миокарда, церебральные

инсульты и т. д. Именно это обуславливает необходимость внедрения «глобального» теста системы гемостаза – низкочастотной пьезотромбоэластографии – в общепринятую клинко-лабораторную практику, что позволит мониторировать фармакодинамические эффекты назначаемой антиагрегантной/ антикоагулянтной терапии, но анализировать интенсивность всех этапов фибриногенеза, способствуя персонализации профилактики тромботических осложнений.

Цель исследования – определение функционального состояния гемостатического потенциала у пациентов с АГ 1–2 степени.

Материал и методы. Сравнительная оценка функционального состояния гемостатического потенциала проводилась у здоровых добровольцев обоих полов – мужского ($n=9$, средний возраст $46\pm4,7$ года) и женского ($n=21$, средний возраст $49,2\pm3,9$ года) – и у пациентов с АГ 1–2 ст. обоих полов. Оценка функционального состояния гемостатического потенциала проводилась на основании исследования цельной нестабилизированной крови методом НПТЭГ. Статистическая обработка проводилась на базе программы IBM SPSS Statistics 22.0 с использованием непараметрических методов обработки данных – U-критерия Манна – Уитни и анализа Краскела – Уоллиса. Количественные показатели представлены в виде $Me [LQ;UQ]$, где Me – медиана, LQ – верхний квартиль, UQ – нижний квартиль. Различия считались достоверными при достигнутом уровне $p<0,05$.

Результаты. В рамках проведенного исследования в группе пациентов с АГ была выявлена разнонаправленность полученных данных в отношении активности тромбина (показатель КТА), ввиду чего целесообразным стало разделение всех обследуемых на две подгруппы – подгруппу с физиологическим уровнем активности тромбина – $КТА\leq 49$ о.е. (далее подгруппа 1) и подгруппу с повышенным уровнем активности тромбина – $КТА\geq 50$ о.е. (далее подгруппа 2). Подгруппу 1 составили 42 пациента мужского пола ($n=12$, средний возраст $55\pm2,6$ года) и женского ($n=30$, средний возраст $56\pm1,4$ года). Подгруппу 2 составили 84 пациента мужского ($n=25$, средний возраст $53,7\pm1,7$ года) и женского ($n=59$, средний возраст $52,8\pm0,8$ года) полов.

При анализе общего тренда гемокоагуляции гиперкоагуляция наблюдалась в обеих подгруппах – увеличение показателя ИТС в 1,2 раза в подгруппе 1 – с 15,85 о.е. [12,35; 17] до 19,17 о.е. [15,3; 22,37] и в 1,2 раза в подгруппе 2 – с 15,85 о.е. [12,35; 17] до 19,12 о.е. [15,9; 22,9] по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$). Функциональное состояние гемостатического потенциала на начальных этапах гемокоагуляции характеризовалось однонаправленными изменениями. В группе контроля наблюдалась нормальная и повышенная суспензионная стабильность крови – $t1$ 2,2 мин [1,08; 3,03], которая снижалась в подгруппе 1 в 2,4 раза – $t1$ 0,9 мин [0,5; 1,9], а в подгруппе 2 в 4,4 раза – $t1$ 0,5 мин [0,3; 0,9] по сравнению с группой контроля ($p<0,001$). В свою очередь, интенсивность контактной активации форменных элементов крови была минимальна в группе контроля – ИКК 17,9 о.е. [11,9; 21,8] и повышалась соразмерно активности тромбина – в подгруппе 1 в 1,4 раза – ИКК 23,6 о.е. [16,5; 39,6] ($p<0,05$) и в подгруппе 2 – в 2 раза – ИКК 36,7 о.е. [21,5; 52] ($p<0,001$). Достоверных различий во времени желирования крови (показатель $t3$) между группой контроля и подгруппой 1 выявлено не было, однако при сравнении группы контроля и подгруппы 2 выявлялось сокращение времени желирования крови, что отображалось снижением показателя $t3$ в 2 раза – с 9,45 мин [7,4; 12,5] до 4,7 мин [3,95; 5,4] ($p<0,001$). Сокращение времени желирования крови наблюдалось и при сравнении подгруппы 1 и подгруппы 2, показатель $t3$ снижался в 1,8 раза – с 8,45 мин [6; 11,7] до 4,7 мин [3,95; 5,4] ($p<0,01$). Было выявлено однонаправленное повышение интенсивности протеолитического этапа фибриногенеза с активностью тромбина, что отображалось повышением значения показателя ИКД в подгруппе 1 в 1,2 раза – 43 о.е. [34,6; 55] ($p<0,05$) и в подгруппе 2 – в 2 раза – 69,1 о.е. [62,4; 79,3] ($p<0,001$) по сравнению с группой контроля. В свою очередь, статистически значимых изменений в активности полимеризационного этапа фибриногенеза (показатель ИПС) между группой контроля и подгруппой 1 выявлено не было, однако по сравнению с группой контроля в подгруппе 2 наблюдалось увеличение активности в 1,4 раза – повышение значения ИПС с 15 о.е. [12,8; 20,8] до 21,3 о.е. [20; 23] ($p<0,001$). Также наблюдалось повышение активности полимеризации фибрина при сравнении подгруппы 1 и подгруппы 2 в 1,1 раза – с 18,5 о.е. [16,5; 20,37] до 21,3 о.е. [20; 23] ($p<0,01$). Статистически значимых отличий при оценке максимальной плотности сгустка между подгруппой 1 и подгруппой 2 выявлено не было, однако в подгруппе 1 наблюдалась тенденция к большей плотности фибринового сгустка, чем в подгруппе 2. Так, в подгруппе 1 наблюдалось увеличение плотности сгустка в 1,3 раза – повышение показателя МА с 610,5 о.е. [470,5; 686,5] до 694 о.е. [665,8; 738], а

в подгруппе 2 наблюдалось увеличение в 1,1 раза – повышение показателя МА с 610,5 о.е. [470,5; 686,5] до 680 о.е. [633,8; 741] в сравнении с группой контроля ($p < 0,01$).

Выводы. При сравнении гемостатического потенциала пациентов с АГ 1–2 степени (подгруппа 1, подгруппа 2) и здоровых добровольцев (группа контроля) были выявлены статистически значимые различия на всех этапах фибриногенеза: инициации/амплификации – t1, ИКК; протеолитического и полимеризационного этапов – t3, ИКД, ИПС; максимальной плотности сгустка – МА; общей интенсивности гемокоагуляции – ИТС. На ранних стадиях течения АГ у исследуемых была выявлена неоднородность функционального состояния гемостатического потенциала, зависящая от степени выраженности эндотелиальной дисфункции, что является основанием для подбора патогенетически обоснованных схем профилактики тромботической терапии.

ЭФФЕКТЫ И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ПЕГИЛИРОВАННОЙ ФОРМЫ ГЛЮКАГОН-ПОДОБНОГО ПЕПТИДА 1 В УСЛОВИЯХ ДИАБЕТА 1 ТИПА

А.И. Кудряшова, Н.Н. Ермакова

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

У мышей C57BL/6 в естественных условиях и при моделировании стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета 1 типа изучали биологические эффекты новой пегилированной формы аналога глюкагон-подобного пептида 1 (pegGLP-1). Показано, что однократное внутривентральное введение pegGLP-1 вызывает повышение уровня GLP-1 в сыворотке крови у здоровых мышей. При моделировании диабета введение pegGLP-1 повышало уровень GLP-1 и инсулина в сыворотке крови, вызывало гипогликемический эффект и положительно влияло на глюкозотолерантный тест. Выраженность эффектов pegGLP-1 превосходила активность GLP-1.

Ключевые слова: сахарный диабет 1 тип, глюкагон-подобный пептид 1, пегилированная форма глюкагон-подобного пептида 1.

EFFECTS AND ACTION MECHANISM OF PEGYLATED GLUCAGON-LIKE PEPTIDE-1 ANALOGUE IN DURING DIABETES TYPE 1

A.I. Kudryashova, N.N. Ermakova

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Biological activity of a new pegylated form of an of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogue pegGLP-1 was studied in C57BL/6 mice under normal conditions and during modeling of streptozotocin-induced type I diabetes mellitus. It was shown that single intragastrical administration of pegGLP-1 induced an increase in GLP-1 level in blood serum of healthy mice. Administration of pegGLP-1 to animals with modeled type I diabetes mellitus was followed by an increase in the levels of GLP-1 and insulin in blood serum, produced a hypoglycemic effect, and improved the parameters of glucose-tolerance test. Biological activity of pegGLP-1 was higher than activity of GLP-1.

Keywords: diabetes type 1 mellitus, glucagon-like peptide, pegylated glucagon-like peptide analogue.

Актуальность. Число пациентов с сахарным диабетом (СД) в настоящее время прогрес-

сивно увеличивается. В мире около 400 миллионов человек страдает от СД [1]. Примерно 10 % от общего числа больных приходится на долю сахарного диабета 1 типа (СД1) [2]. Основными средствами лечения гипергликемии у пациентов, страдающих СД1, является ежедневное введение инсулиновых препаратов с регулярным контролем уровня глюкозы крови. Тем не менее инсулинотерапия и назначение других лекарственных средств не восстанавливают нормальную физиологическую регуляцию уровня глюкозы крови. [3]. Единственным возможным способом лечения пациентов с СД1 представляется устранение основной причины заболевания – дефицита инсулин-продуцирующих бета-клеток. Глюкагон-подобный пептид-1 (GLP-1) представляет собой полипептид, вырабатываемый L клетками желудочно-кишечного тракта в ответ на прием пищи [4]. Показано, что *in vitro* GLP-1 способен стимулировать дифференцировку панкреатических предшественников бета-клеток, полученных от мышей с СД1, в инсулин продуцирующие клетки [5]. Таким образом, полипептид может быть потенциальной основой для создания препарата для лечения СД1. Недостатком GLP-1 является кратковременность его действия: время полураспада составляет 2 мин [4]. Одна из возможностей повысить устойчивость GLP-1 к действию ферментов – это пегилирование. Между тем известные пегилированные аналоги GLP-1 не активны в условиях моделирования СД1, рассматриваются в качестве основы для создания препаратов для лечения диабета 2 типа [6].

Целью исследования является изучение биологических эффектов и механизмов действия новой пегилированной формы аналога GLP-1 для лечения сахарного диабета 1 типа.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на мышах-самцах линии C57Bl/6 в возрасте 4 нед. Исследование одобрено Комитетом по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга.

Объектом исследования выступила пегилированная форма аналога глюкагон-подобного пептида 1 (pegGLP-1). СД1 моделировали 5-кратным внутрибрюшинным введением стрептозотоцина (40 мг/кг в 0,25 мкл фосфатного буфера) животным. Первое введение стрептозотоцина принято за 0 день эксперимента. Мышей делили на 4 группы: 1 – интактный контроль; 2 – мыши с СД1; 3 – мыши с СД1, леченные GLP-1; 4 – мыши с СД1, леченные pegGLP-1. GLP-1 и pegGLP-1 вводили внутривенно в дозе 0,02 мг/мышь курсом в течение 4 сут (с 24-х по 27-е сут эксперимента). Проводили измерения уровня GLP-1 и инсулина в сыворотке крови мышей, определяли глюкозу в крови, проводили глюкозотолерантный тест (ГТТ).

Математическую обработку результатов производили с применением стандартных методов вариационной статистики. Достоверность различий оценивали с использованием непараметрического U критерия Манна – Уитни.

Результаты. Моделирование СД1 вызвало стойкую гипергликемию в крови, нарушение ГТТ, снижение уровня сывороточного GLP-1 и инсулина.

Лечение диабета GLP-1 и pegGLP-1 повышало уровень инсулина в сыворотке крови. Однако уже через 2 сут после курса лечения концентрация инсулина в сыворотке у диабетических мышей, получавших GLP-1, снижалась до уровня диабетического контроля. В группе мышей с СД1, леченных pegGLP-1, уровень инсулина в сыворотке, напротив, сохранялся высоким и превышал показатель у нелеченых диабетических мышей в 3 раза. Кроме этого, pegGLP-1 оказала выраженное гипогликемическое действие. В ГТТ уровень глюкозы в крови у леченых животных с СД1 достоверно снижался на 120 и 150 мин эксперимента по сравнению с патологическим контролем. pegGLP-1 значительно повышала уровень GLP-1 у мышей с СД1. Назначение нативной формы не влияло на концентрацию белка. Следует отметить, что влияние нативной формы GLP-1 на глюкозу в крови было незначительным.

Выводы. Из результатов исследования следует, что гипогликемический эффект, повышение уровня инсулина и GLP-1 в сыворотке крови при назначении pegGLP-1 превосходят биологическую активность нативного GLP-1. Это объясняется устойчивостью pegGLP-1 к действию протеолитических ферментов. Вероятно, гипогликемический эффект pegGLP-1 связан с дополнительной секрецией инсулина бета-клетками. Таким образом, изученная в настоящей работе пегилированная форма аналога глюкагон-подобного пептида 1 (pegGLP-1) может выступать основой для создания препарата для лечения сахарного диабета 1 типа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ding G.L., Liu Y., Liu M.E., Pan J.X., Guo M.X., Sheng J.Z., Huang H.F. The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. *Asian Journal of Andrology*. 2015; 17: 948–953. doi: 10.4103/1008-682X.150844.
2. *International Diabetes Federation*. 2017. URL: <http://www.idf.org/worlddiabetesday/toolkit/gp/facts-figures/> (дата обращения: 1.03.2018).
3. Van Belle T.L., Coppieters K.T., Von Herrath M.G. Type 1 Diabetes: Etiology, Immunology, and Therapeutic Strategies. *Physiological Reviews*. 2011; 91(1): 79–118. doi: 10.1152/physrev.00003.2010.

4. Kieffer T.J., Habener J.F. The glucagon-like peptides. *Endocr Rev.* 1999; 20: 876–913. doi: 10.1210/edrv.20.6.0385.
5. Skurikhin E.G., Ermakova N.N., Khmelevskaya E.S., Pershina O.V., Krupin V.A., Ermolaeva L.A., Dygai A.M. Differentiation of Pancreatic Stem and Progenitor β -Cells into Insulin Secreting Cells in Mice with Diabetes Mellitus. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2014; 156 (6): 726–730. doi: 10.1007/s10517-014-2518-9.
6. Lee Y.S., Youn S-H., Lee Y., Byun K., Lee C. PEGylated glucagon-like peptide-1 displays preserved effects on insulin release in isolated pancreatic islets and improved biological activity in db/db mice. *Diabetologia.* 2006; 49: 1608–1611. doi: 10.1007/s00125-006-0234-3.

ВЛИЯНИЕ СПИРТОВОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ПЕРИКАРПИЯ *GARCINIA MANGOSTANA* L. НА ЭМОЦИОНАЛЬНУЮ РЕАКЦИЮ МЫШЕЙ

П.В. Кульпин

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины
имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В данной работе было изучено влияние различных доз 50 % спиртового экстракта из *Garcinia mangostana* L. на эмоциональную реакцию самцов мышей CD-1. Оценку эмоциональной реакции осуществляли до и после проведения теста открытого поля. В результате можно предположить о наличии у экстракта *Garcinia mangostana* L. анксиогенного действия, наиболее выраженного в дозировке 50 мг/кг.

Ключевые слова: эмоциональная реакция, мангустин, открытое поле, анксиогенное действие.

INFLUENCE OF SPIRIT EXTRACT FROM A PERICARP OF *GARCINIA MANGOSTANA* L. ON EMOTIONAL REACTION OF MICE

P.V. Kulpin

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research
Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

In this work influence of various doses of 50 % spirit extract from *Garcinia mangostana* L. has been studied. on emotional reaction of males of mice of CD-1. Assessment of emotional reaction was carried out before test of the open field. As a result it is possible to assume about presence at *Garcinia mangostana* L. extract. the anksiogenny action which is most expressed in a dosage of 50 mg/kg.

Keywords: emotional reaction, *Garcinia mangostana* L., open field, anksiogenny action.

Актуальность. Мангустин, или гарциния (лат. *Garcinia mangostana* L.) – высокое вечно-зеленое медленно растущее дерево семейства *Clusiaceae* Lindl. Название рода образовано Карлом Линнеем в 1753 г. от имени французского врача Лаврентия Гарсена (1683–1752), написавшего в 1697 г. первую статью о целебных свойствах этого растения. По другим данным, названо в честь португальского врача Гарсии де Орта (1502–1570), «открывшего» для европейцев Восточную медицину [1]. Сок, порошки и экстракты плода мангустина традиционно широко применяются в качестве противовоспалительного, противомикробного и антипиретического средства в народной медицине стран Юго-Восточной Азии [2], в связи с чем к нему обусловлен большой интерес как к перспективному источнику фитопрепаратов и веществ, обладающих положительными фармакологическими эффектами. На данный момент *Garcinia mangostana* L. привлекает внимание ученых по всему миру, а результаты большинства исследований подтверждают наличие большого количества биологически активных веществ в различных частях данного растения.

На сегодняшний день единственным лекарственным препаратом из перикарпия *Garcinia*

mangostana L. является неогаленовый препарат *Amibiasine*[®], производства *Vietnam Rosa Phytopharma Laboratoires*, Вьетнам, применяемый при амебной дизентерии во Вьетнаме и экспортируемый в Таиланд и другие страны Юго-Восточной Азии [3].

Однако современных объективных данных недостаточно для подтверждения безопасности применения и научной обоснованности заявленных фармакологических эффектов, что обуславливает необходимость в проведении детальных исследований *Garcinia mangostana* L.

Материал и методы. Объектом исследования являлся высушенный 50 % спиртовой экстракт перикарпия *Garcinia mangostana* L.

Эмоциональная реакция оценивалась по методу Brady & Nauta (1953 г.) на мышах-самцах линии CD-I. При этом полуколичественным способом оценивалась реакция на 4 вида воздействия: захват в клетке, где животное постоянно живет, захват в руку после помещения животного на плоскую поверхность, реакция на приближение пинцета, реакция на толчок пинцетом, при этом дополнительно регистрировались дефекация с мочеиспусканием, писк и мышечное напряжение (всего 7 реакций). Каждая реакция оценивалась по 4-балльной системе, после чего все баллы суммировались, давая общую оценку эмоциональной реакции [4]. Тестирование в «открытом поле» расценивалось как стресс новизны.

Группы исследования:

- 1) Экстракт 10–50 % спиртовой экстракт *Garcinia mangostana* L. в дозе 10 мг/кг массы тела животного;
- 2) Экстракт 50–50 % спиртовой экстракт *Garcinia mangostana* L. в дозе 50 мг/кг массы тела животного;
- 3) Экстракт 200–50 % спиртовой экстракт *Garcinia mangostana* L. в дозе 200 мг/кг массы тела животного;
- 4) Экстракт 1000–50 % спиртовой экстракт *Garcinia mangostana* L. в дозе 1000 мг/кг массы тела животного;
- 5) Контроль – группа интактного контроля, получавшая воду.

Результаты. Результаты исследования представлены на рис. 1. Отмечено повышение эмоциональной реакции животных во всех группах исследуемых объектов по сравнению с контролем. При этом наиболее выраженное влияние оказал экстракт в дозе 10 мг/кг, а наименьшее – экстракт в дозе 1000 мг/кг массы тела животного.

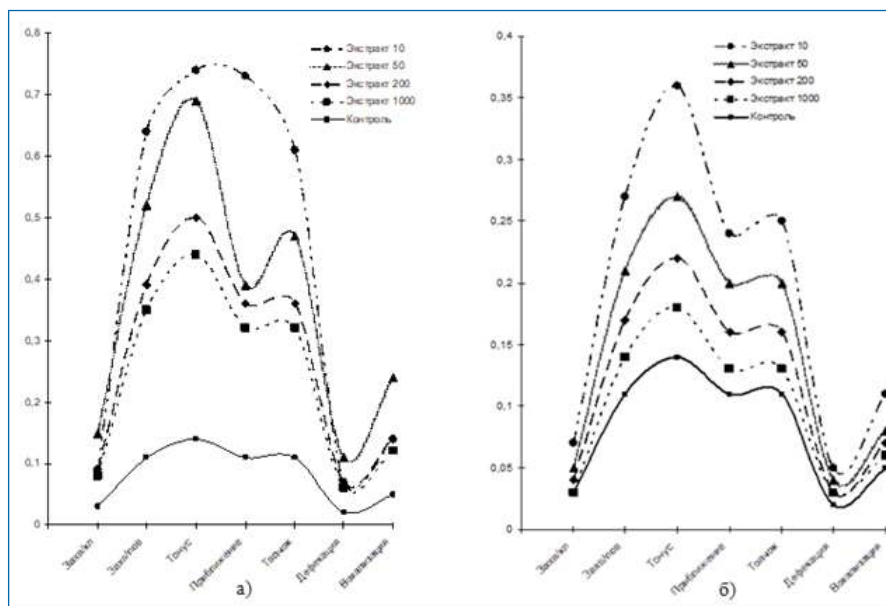


Рис. 1. Влияние 50 % спиртового экстракта *Garcinia mangostana* L. на эмоциональную реакцию мышей линии CD-I: а) до проведения теста «открытое поле»; б) после проведения теста «открытое поле»

По результатам исследований эмоциональной реакции до и после изучения влияния на ориентировочно-исследовательское поведение мышей в контрольной группе имелись отличия – после тестирования в «открытом поле» было отмечено увеличение по некоторым видам воздействий – реакция на захват животного в клетке, тонус, толчок пинцетом и вокализация. В группе, получавшей экстракт *Garcinia mangostana* L., не отмечено роста реакций после стресса.

Повышение суммарной эмоциональной реакции животных показано на рис. 2.

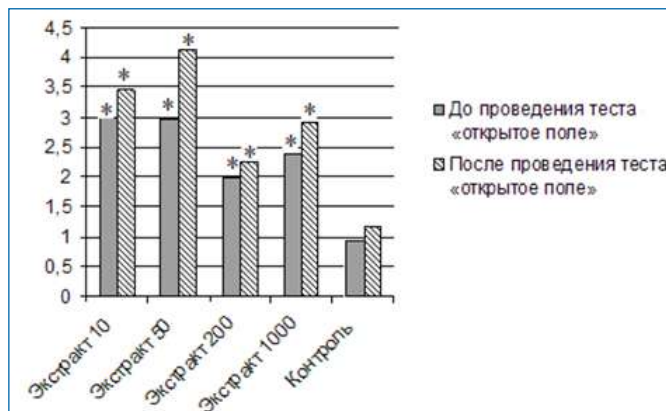


Рис. 2. Влияние 50 % спиртового экстракта *Garcinia mangostana* L. на суммарную эмоциональную реакцию мышной линии CD-1 до и после проведения теста «открытое поле»

Наибольшее повышение суммарной эмоциональной реакции после проведения теста «открытое поле» отмечено у группы мышей, получавших экстракт *Garcinia mangostana* L. в дозе 50 мг/кг массы тела животного.

Выводы. Таким образом, полученные данные позволяют предположить наличие анксиогенного действия 50 % спиртового экстракта *Garcinia mangostana* L., возможно, обусловленного содержанием алкалоидов трополонового ряда [5].

ЛИТЕРАТУРА

1. Quattrocchi U. CRC World Dictionary of Grasses: Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms, and Etymology. CRC Press, 2006. 2408.
2. Song Y. Chemical constituents and biological activities of *Garcinia mangostana* and Piper beetle Master's thesis. Universiti Putra Malaysia, 2012. 22.
3. Suksamrarn S., Suwannapoch N., Phakhodee W., Thanuheranlert J., Ratananukul P., Chimnoi N., Suksamrarn A. Antimycobacterial activity of prenylated xanthenes from the fruits of *Garcinia mangostana*. Chem Pharm Bull Tokyo, 2003; 51(7): 857–859.
4. Brady J.V., Nauta W.J. Subcortical mechanisms in emotional behavioral affective changes following septal forebrain lesion in the albino rat. J. comparative and phisiol psychol. 1953; 46(3): 339–341.
5. Федорова Ю.С., Кульпин П.В. Исследование водно-спиртового извлечения перикарпия *Garcinia mangostana* L. методом газожидкостной масс-спектрометрии. Медицина в Кузбассе. 2015; 14(4): 76–78.

НО-СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТРАВЫ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ (*MEDICAGO SATIVA*)

А.А. Лигачёва^{1,2}, С.В. Кривощёков^{1,2}, К.И. Ровкина^{1,2}

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, России²

Аннотация

Проведено изучение влияния суммы водорастворимых полисахаридов и фенольных соединений этанольных извлечений, выделенных из травы люцерны посевной, на продукцию оксида азота макрофагами мышей в широком диапазоне доз. В результате проведённых исследований установлено, что только полисахариды во всех использованных концентрациях от 5 до 100 мкг/мл оказывают НО-стимулирующее влияние на макрофаги, которое не зависит от примеси эндотоксина в образцах. Полифенолы не влияют на концентрацию нитритов в супернатанте клеток, при этом инкубация клеток с этими веществами, в присутствии полимиксина В приводила к достоверному снижению показателя.

Ключевые слова: макрофаги, оксид азота, классическая активация, растительные полисахариды, растительные полифенолы.

NO-STIMULATING ACTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES ISOLATED FROM THE HERB OF *MEDICAGO SATIVA*

A.A. Ligacheva^{1,2}, S.V. Krivoshekov^{1,2}, K.I. Rovkina^{1,2}

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Siberian State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk, Russia^{1,2}

Abstract

A study was made of the effect of water-soluble polysaccharides and phenolic compounds of ethanol extracts isolated from the herb of *Medicago sativa* on the production of nitric oxide by macrophages of mice over a wide range of doses. As a result of the conducted studies it was established that only polysaccharides at all used concentrations from 5 to 100 µg / ml exert a NO-stimulating effect on macrophages, which does not depend on the admixture of endotoxin in the samples. Polyphenols do not affect the concentration of nitrites in the supernatant of cells, and the incubation of cells with these substances in the presence of polymyxin B led to a significant decrease in the index.

Keywords: macrophages, nitric oxide, classical activation, plant polysaccharides, plant polyphenols.

Актуальность. Оксид азота (NO) – является важнейшим медиатором воспаления и цитотоксическим фактором, который вырабатывается различными клетками организма, в том числе классически активированными макрофагами под воздействием различных инфекционных агентов или провоспалительных цитокинов [1].

Кроме того, вещества природного или синтетического происхождения, взаимодействуя с рецепторами на поверхности клеток, также запускают каскад реакций внутриклеточной передачи сигнала, повышая продукцию макрофагами активных форм кислорода и оксида азота, воспалительных цитокинов и хемокинов, стимулируя цитотоксическую, противомикробную и противоопухолевую активность. Среди биологически активных веществ растений важную роль играют полисахариды и полифенолы. Доказано, что полисахариды и полифенолы ряда растений обладают иммуномодулирующими свойствами, способствуя развитию Th1 или Th2-зависимого иммунного ответа, влияя на синтез NO, изменяя продукцию некоторых цитокинов, экспрессию ряда молекул адгезии за счёт взаимодействия с различными рецепторами макрофага [2–6].

Вследствие этого растительные ПС и ПФ могут служить основой для разработки новых иммуномодулирующих средств, влияющих на макрофаги. В связи с этим было изучено действие фенольных соединений этанольных извлечений (ПФ) и суммы водорастворимых полисахаридов (ПС), выделенных из травы люцерны посевной (*Medicago sativa*), на продукцию оксида азота как показателя классической активации макрофагов.

Материал и методы. В экспериментах использовали самок мышей линии C57BL/6 (всего 50) в возрасте 8–10 нед, полученных из отдела экспериментальных биомоделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (протокол этической экспертизы № 98122015 Комиссии по гуманному отношению к животным НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга).

Выделение ПС люцерны посевной проводили экстракцией воздушно-сухого сырья водой с добавлением раствора натрия гидроксида (рН9), ПФ – 70 % этиловым спиртом. Полученные образцы ПС были стандартизованы по содержанию углеводов (спектрофотометрический метод), белка (метод Брэдфорда) и нуклеиновых кислот. При качественном и количественном анализе исследуемых образцов применяли метод газовой и обращённо-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) на приборах: ПС – Agilent 7890A (США), Ultimate 3000 (Германия, «Dionex»), ПФ – Agilent 1100 Series (США) в изократическом режиме.

Макрофаги получали промыванием брюшной полости мышей ледяным изотоническим раствором хлорида натрия и прилипанием к пластику (инкубация в полной культуральной среде стандартного состава в чашках Петри (1,5–2,5×10⁶/мл) 2 ч при 37 °С в атмосфере 5 % CO₂ и абсолютной влажности). Прилипшие к пластику клетки (3×10⁶/мл) переносили в

96-луночные плоскодонные планшеты в присутствии ПС и ПФ от 0,5 до 100 мкг/мл или 1 мкг/мл ЛПС – липополисахарид *E.coli* (серотип O111:B4; «Sigma», США) – стандартный активатор макрофагов (контроль метода). При исследовании ПС и ПФ на наличие примесей эндотоксина к макрофагам и исследуемым образцам или ЛПС добавляли антибиотик полимиксин В (50 мкг/мл). Продукцию оксида азота оценивали через 48 ч культивирования по содержанию нитритов в супернатантах при помощи реактива Грейса, смешивая с эквивалентным объемом надосадка, с использованием многоканального спектрофотометра Titertek Multiskan® MCC («Labsystems», Финляндия) при длине волны 540 нм.

Статистическую обработку проводили с помощью программного обеспечения Statistica, используя однофакторный дисперсионный анализ и t-критерий Даннета.

Результаты. Выход ПС люцерны посевной составил $3,6 \pm 0,5$ % от массы воздушно-сухого сырья; содержание в образце (%) углеводов – $98,9 \pm 1,3$, белка – $0,35 \pm 0,06$, нуклеиновых кислот – $0,0056 \pm 0,0003$. При изучении компонентного состава ПС выявлено, что полисахаридный комплекс является манноуронаном, содержащим сопоставимые количества глюкозы, галактозы, ксилозы, арабинозы и рамнозы. На спектре ОФ ВЭЖХ исследуемого образца присутствует 3 пика, соответствующих молекулярной массе 1100, 16 и 7 кДа. Выход фенольных соединений составил $3,015 \pm 0,109$ % от массы воздушно-сухого сырья. Количественное определение состава фенольных соединений люцерны посевной методом ОФ ВЭЖХ выявило в хроматограмме образца пик, соответствующий рутину. Содержание флавоноидов (в пересчёте на рутин) – $0,044$ %.

Для оценки действия ПС и ПФ, выделенных из люцерны посевной, на антиген-презентирующие клетки было изучено влияние различных концентраций этих веществ на продукцию макрофагами оксида азота *in vitro* при 48-часовом культивировании (табл. 1). Инкубация макрофагов с ЛПС приводила к увеличению концентрации оксида азота в 9,3 раза по сравнению с контролем 1 – макрофагами, инкубированными в культуральной среде. ПС люцерны посевной также оказывали соизмеримый с ЛПС стимулирующий эффект на макрофаги в концентрациях 5, 10 и 20 мкг/мл – в 8,7, 9,4 и 10 раз соответственно. В концентрациях 40 и 100 мкг культивирование макрофагов с ПС приводило к достоверному повышению продукции нитритов по сравнению с ЛПС (контроль 2), в 1,2 и 1,3 раза соответственно. Инкубация клеток с ПФ не влияла на изучаемый показатель.

Для того чтобы оценить степень очистки изучаемых веществ от эндотоксина (липополисахарид), который может содержаться в растительных экстрактах и также вызывает усиление продукции оксида азота, были проведены эксперименты с использованием антибиотика полимиксина В – блокатором эндотоксина. Как видно из табл. 2, полимиксин В не оказывал влияния на спонтанную продукцию оксида азота макрофагами в отсутствие каких-либо веществ. При инкубации макрофагов с ЛПС продукция ими оксида азота увеличивалась в 9,4 раза. В присутствии полимиксина В уровень продукции оксида азота макрофагами, стимулированными ЛПС, достоверно снижался в 1,6 раза, хотя и не отменялся полностью. Добавление в культуру макрофагов изучаемых ПС люцерны привело к повышению ими продукции оксида азота в 10 раз. При инкубации макрофагов с ПС и полимиксином В уровень продукции NO значимо не изменялся. Культивирование клеток с ПФ люцерны не вызывало увеличения концентрации нитритов в супернатанте клеток, при этом инкубация клеток с ПФ в присутствии полимиксина В приводила к достоверному снижению показателя в 1,3 раза.

Выводы. Таким образом, из изученных биологически активных веществ только ПС, выделенные из люцерны посевной (*Medicago sativa*), оказывают NO-стимулирующее влияние на макрофаги, которое не зависит от примеси эндотоксина в образцах. Опираясь на полученные результаты, можно предположить, что при дальнейшем изучении этой группы веществ будут получены данные, которые позволят рассматривать их в качестве перспективных лекарственных субстанций для профилактики и терапии хронических воспалительных заболеваний.

Таблица 1

Влияние различных концентраций полифенолов и водорастворимых полисахаридов *Medicago sativa* на пролиферацию и продукцию оксида азота перитонеальными макрофагами интактных мышей линии C57/BL6 ($\bar{X} \pm m$)

Исследуемое вещество	Концентрация (мкг/мл)	Концентрация нитритов (мкМ)
Среда (контроль 1)	–	$4,15 \pm 0,60$
ЛПС (контроль 2)	1	$38,54 \pm 3,51^*$

	5	36,19±1,06*
	10	39,18±1,02*
ПС <i>Medicago sativa</i>	20	41,62±1,33*
	40	44,46±0,49*
	100	49,94±0,26*
	5	3,89±0,14*
ПФ <i>Medicago sativa</i>	10	3,52±0,37*
	20	2,50±0,29*
	40	3,59±0,43*

Примечание: * – различия показателя с контролем 1 достоверны, $p < 0,05$; • – различия показателя с контролем 2 достоверны, $p < 0,05$, $n = 5$

Таблица 2

Влияние полимиксина В на стимулированную полисахаридами, полифенолами и пектиновыми веществами *Medicago sativa* продукцию оксида азота перитонеальными макрофагами интактных мышей линии C57/BL6 ($\bar{X} \pm m$)

Исследуемое вещество	Концентрация исследуемого вещества, мкг/мл	Концентрация нитритов (мкМ)	
		Без полимиксина В (контроль)	С полимиксином В (50 мкг/мл)
Среда	–	4,15±0,60	4,15±0,33
ЛПС	1	38,54±3,51*	24,63±0,71*
ПС <i>Medicago sativa</i>	20	41,62±1,33*	39,69±1,04*
ПФ <i>Medicago sativa</i>	20	2,50±0,29	1,90±0,28*

Примечание: * – различия показателя с средой достоверны, $p < 0,05$; • – различия показателя с контролем (культивирование без полимиксина В) достоверны, $p < 0,05$, $n = 5$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сомова Л.М., Плехова Н.Г. Оксид азота как медиатор воспаления. Вестник ДВО РАН. 2006; 6: 77–80.
2. Kouakou K., Schepetkin I.A., Jun S.M., Kirpotina L.N., Yapi A., Khranova D.S., Pascual D.W., Ovodov Y.S., Jutila M.A., Quinn M.T. Immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Clerodendrum splendens*: Beneficial effects in experimental autoimmune encephalomyelitis. BMC Complement Altern Med. 2013 Jun 28; 13: 149. doi: 10.1186/1472-6882-13-149.
3. Yi Y., Liao S.T., Zhang M.W., Shi J., Zhang R.F., Deng Y.Y., Wei Z.C. Physicochemical characteristics and immunomodulatory activities of three polysaccharide-protein complexes of Longan Pulp. Molecules. 2011; 16: 6148–64. doi:10.3390/molecules16076148.
4. Lemmon H.R., Sham J., Chau L.A., Madrenas J. High molecular weight polysaccharides are key immunomodulators in North American ginseng extracts: characterization of the ginseng genetic signature in primary human immune cells. Journal of Ethnopharmacology. 2012; 142(1): 1–13. doi: 10.1016/j.jep.2012.04.004.
5. Suzuki F. Effect of lignins and their precursors on nitric oxide, citrulline and asparagine production by mouse macrophage-like Raw 264.7 cells. Anticancer Research. 2002; 22(5): 2719–24.
6. Sadowska B., Micota B., Różalski M., Redzynia M., Różalski M. The immunomodulatory potential of *Leonurus cardiaca* extract in relation to endothelial cells and platelets. Innate Immunity. 2017; 23(3): 285–295.

АНТИГИПОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ АГОНИСТА НЕГЕМАТОПОЭТИЧЕСКОЙ ФОРМЫ РЕЦЕПТОРА ЕРОР (ЕРОР-βCR) ПРИ ТЕРАПИИ ЛОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

А.Д. Малащук, Н.А. Щелчкова, П.А. Логинов, К.И. Самсонова, М.А. Жученко

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия
Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России, г. Нижний Новгород, Россия
ООО «Фармапарк», г. Москва, Россия,

Аннотация

Применение агониста негематопозитической формы рецептора ЕроR (ЕроR-βCR) приводило к снижению активности сывороточной фракции ЛДГ при сохранении лактат/пируватного соотношения, однако активность митохондриальной фракции ЛДГ и СДГ возрастали. Введение ЕроR (ЕроR-βCR) приводило к снижению активности АТФ-азы митохондрий головного мозга.

Ключевые слова: ишемия головного мозга, агонист негематопозитической формы рецептора ЕроR (ЕроR-βCR), нейропротекция, лактатдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа, АТФ-аза.

ANTIHYPOXIC EFFECT OF AGONIST NON-HEMATOPOIETIC FORM OF EPOR RECEPTOR (EPOR- β CR) IN THE THERAPY OF LOCAL CEREBRAL ISCHEMIA OF RATS

A.D. Malashchuk, N.A. Shchelchkova, P.A. Loginov, K.I. Samsonova, M.A. Zhuchenko

National Research Nizhny Novgorod State University. N.I. Lobachevsky, Nizhny Novgorod, Russia
Nizhny Novgorod State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia, Nizhny Novgorod, Russia
ООО «Pharmapark», Moscow, Russia

Abstract

The use of an agonist of the non-hematopoietic form of the EpoR receptor (EpoR- β cR) led to a decrease in the activity of the serum LDH fraction while preserving the lactate / pyruvate ratio, however, the activity of the mitochondrial fraction of LDH and SDH increased. The introduction of EpoR (EpoR- β cR) led to a decrease in the activity of ATP-ase of brain mitochondria.

Keywords: cerebral ischemia, non-hematopoietic form agonist of EpoR receptor (EpoR- β cR), neuroprotection, lactate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, ATPase.

Актуальность. По данным литературы, при ишемии происходит увеличение EpoR на эндотелиальных клетках, астроцитах и нейронах, формируя специфические каскады нейропротекторного действия [1–3]. Одним из новых направлений в разработке терапевтических средств для лечения ишемического инсульта головного мозга является использование агониста рецепторной единицы EpoR- β cR, обнаруженного на клетках головного мозга.

Материал и методы. Локальная ишемия мозга моделировалась на аутбредных крысах-самцах линии Wistar путем одностороннего фотохимического тромбоза в области префронтальной коры правого полушария головного мозга. Агонист негематопойетической формы рецептора EpoR (EpoR- β cR), раствор для внутривенного введения 50 мг/кг (ООО «Фармапарк», Россия), применяли пятикратно через 1 ч после проведения операции. Животные были разделены на 3 группы: интактные, группа ИГМ и группа ИГМ с агонистом EpoR- β cR. На 4-е и 20-е сут после моделирования ишемии проводили забор крови и выделение митохондрий из ишемизированного правого полушария. Определяли активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), общую креатинкиназу (КК), содержание лактата и пирувата в сыворотке крови животных, а также митохондриальную фракцию ЛДГ, сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и АТФ-азы.

Результаты. Активность сывороточной ЛДГ и общей фракции КК во всех исследуемых группах на 4-е сут не превышала интактных показателей. На 20-е сут в группе ИГМ наблюдалось снижение активности как сывороточной фракции ЛДГ, так и КК на 25 % и 23 % соответственно, в группе ИГМ с агонистом EpoR- β cR наблюдалось уменьшение активности только ЛДГ на 20 % относительно интактных показателей.

Однако соотношение лактат/пируват крови в группе ИГМ на 4-е сут ($313,9 \pm 74,6$) и 20-е сут ($358,2 \pm 73,8$) значительно превышало интактные значения ($107,3 \pm 29,0$). Введение агониста EpoR- β cR сохраняло соотношение лактат/пируват в сыворотке крови на уровне интактных значений.

Затем были исследованы митохондриальные ферменты-маркеры ишемии. Активность митохондриальной ЛДГ была снижена на 4-е сут в группе ИГМ, однако восстановилась к 20-м сут. После коррекции агонистом EpoR- β cR показан резкий рост активности митохондриальной ЛДГ на 4-е сут, который сохраняется до 20-го дня эксперимента относительно интактных значений. Такие данные могут свидетельствовать об активации глюкозо-лактатного шатла в нервных клетках для поддержания энергетического метаболизма в условиях гипоксии.

Возрастание активности СДГ наблюдалось только после введения агониста EpoR- β cR в обеих исследуемых временных точках относительно интактных показателей. Однако активность митохондриальной АТФ-азы была ниже относительно интактных значений во всех исследуемых группах в среднем в 2 раза на 4-е сут, а к 20-м сут наблюдалось возрастание данного показателя в группе ИГМ и после коррекции агонистом EpoR- β cR относительно интактных значений.

Выводы. Применение агониста EpoR- β cR сохраняет лактат/пируватную зависимость в

крови в пределах нормы. Увеличивает активность СДГ- альтернативного пути дыхания в митохондриях головного мозга на фоне роста активности митохондриальной фракции ЛДГ, участвующей в реокислении НАДН и стабилизации уровня АТФ-азной активности в постишемический период у крыс. Таким образом, агонист негематопоэтической формы рецептора EpoR (EpoR-βсR) в качестве потенциального нейропротектора обладает антигипоксическими свойствами в условиях локальной ишемии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gui D.M., Yang Y., Li X., Gao D.W. Effect of erythropoietin on the expression of HIF-1 and iNOS in retina in chronic ocular hypertension rats. *Int J Ophthalmol.* 2011; 4(1): 40–43. doi: 10.3980/j.issn.2222-3959.2011.01.09
2. Parra A.L., Rodriguez J.C. Nasal neuro EPO could be a reliable choice for neuroprotective stroke treatment. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem.* 2012; 12(1): 60–68.
3. Ott C., Martens H., Hassouna I., Oliveira B., Erck C., Zafeiriou M.P., Peteri U.K., Hesse D., Gerhart S., Altas B., Kolbow T., Stadler H., Kawabe H., Zimmermann W.H., Nave K.A., Schulz-Schaeffer W., Jahn O., Ehrenreich H. Widespread expression of erythropoietin receptor in brain and its induction by injury. *Mol Med.* 2015 Sep 1. doi: 10.2119/molmed.2015.00192.

КОРРЕКЦИЯ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА С ПОМОЩЬЮ ВВЕДЕНИЯ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

А.В. Мойеева^{1,2}, А.А. Гостюхина¹

Сибирский федеральный научно-клинический центр федерального медико-биологического агентства, г. Северск, Россия¹

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Проведена оценка содержания глюкозы и инсулина в крови лабораторных крыс с моделью аллоксанового диабета и с коррекцией данной патологии стволовыми клетками. Установлено, что внутрибрюшинное введение 17 мг/100 г животного моногидрата аллоксана вызывает увеличение уровня глюкозы и уменьшение инсулина в крови крыс, что свидетельствует о развитии аллоксан-индуцированного сахарного диабета. При коррекции клетками костного мозга показана нормализация уровней глюкозы и инсулина.

Ключевые слова: крысы, сахарный диабет, аллоксан, клетки костного мозга.

CORRECTION OF ALLOXAN DIABETES BY THE INTRODUCTION OF BONE MARROW CELLS (EXPERIMENTAL STUDY)

A.V. Moyeeva^{1,2}, A.A. Gostyukhin¹

Siberian Federal science-clinical center of Federal medicobiological agency, Seversk, Russia¹

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

The content of glucose and insulin in the blood of laboratory rats with the model of alloxan diabetes and with the correction of this pathology by stem cells was assessed. It was found that intraperitoneal administration of 17 mg / 100 g of animal alloxan monohydrate causes an increase in glucose and a decrease in insulin in the blood of rats, which indicates the development of alloxan-induced diabetes mellitus. If this pathology is corrected by bone marrow cells, glucose and insulin levels will be normalized.

Keywords: rats, diabetes, alloxane, bone marrow cells.

Актуальность. Сахарный диабет является одним из распространенных заболеваний и продолжает прогрессировать у людей разного возраста. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, количество больных диабетом за последние десятилетия удвоилось и составляет около 160 миллионов человек, а к 2025 году прогнозируется следующее

удвоение. Большая социальная значимость данного заболевания состоит в том, что оно, в связи с сосудистыми осложнениями микроангиопатии и макроангиопатии, диабетической нефропатии и нейропатии, синдромом диабетической стопы, приводит к ранней инвалидизации и летальности [1].

Основным лабораторным тестом в диагностике диабета является определение уровня глюкозы в крови [2]. Снижение уровня глюкозы обеспечивается действием гормона инсулина, который усиливает трансмембранный перенос глюкозы в клетку в качестве энергетического субстрата.

Цель исследования – оценить динамику содержания глюкозы и уровень инсулина в крови крыс при коррекции аллоксан-индуцируемого сахарного диабета с помощью введения клеток костного мозга.

Материал и методы. Экспериментальное исследование было проведено на 34 половозрелых крысах-самцах линии «Wistar», массой 200–250 гр. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Все процедуры с животными производились в утреннее время и согласно правилам гуманного обращения с животными, используемыми для экспериментов и иных научных целей [3]. Животные были разделены на три группы: интактная – без воздействия; контрольная – крысы, которым моделировался аллоксановый диабет и внутрибрюшинно вводилась культуральная среда DMEM; опытная – крысы, которым моделировался аллоксановый диабет и внутрибрюшинно вводилась суспензия клеток костного мозга в количестве 10^6 клеток.

Моделирование сахарного диабета у крыс проводилось с помощью однократного введения моногидрата аллоксана (Sigma, США) из расчета 17 мг на 100 г животного внутрибрюшинно.

Выделение костного мозга проводили путем вымывания из бедренной кости, далее его охлаждали с добавлением 5 мл культуральной среды RPMI-1640 в стерильной пробирке. Полученный материал ресуспендировали и центрифугировали в течение 10 мин при 500 g. Культивирование проводили в атмосфере 5 % углекислого газа в течение 7 дней при $t=37^\circ\text{C}$ и 100 % влажности. Контроль роста клеток осуществляли с помощью микроскопа Optika XDS – 2SFL (Италия). В результате была получена культура клеток костного мозга с уровнем жизнеспособности более 85 %.

Измерение уровня глюкозы в крови крыс производили с помощью глюкометра Акку-Чек Перформа Нано (Roche Diagnostics, Германия) и тест-полосок к данному набору. Забор материала для исследования производилось путем разреза десны крыс, кровь переносилась на тест-полоску, находившуюся в глюкометре.

После завершения эксперимента все животные выводились одномоментным декапированием под CO_2 наркозом. Для получения сыворотки кровь собирали в чистую сухую пробирку.

Содержание инсулина в сыворотке крови определялось с помощью твердофазного иммуноферментного «сэндвич» метода (ELISA). Процедура выполнения иммуноферментного анализа проводилась по инструкциям, предлагаемым производителями тест-систем («ALPCO», Соединенные Штаты).

Результаты. В результате проведенного эксперимента было показано, что уровень глюкозы в крови крыс интактной группы во все сроки эксперимента (с 1-х по 14-е сут) составлял 5,6 ммоль/л. У контрольной группы было отмечено статистически значимое повышение уровня глюкозы по сравнению с интактной группой во все сроки эксперимента (табл. 1).

Таблица 1

Уровень глюкозы в крови у крыс ($\bar{X} \pm m$)

Группы животных	Уровень глюкозы, ммоль/л				
	До введения	1-е сут	3-е сут	7-е сут	14-е сут
Интактная	5,6 $\pm$ 0,326	5,6 $\pm$ 0,326	5,57 $\pm$ 0,416	5,76 $\pm$ 0,433	5,4 $\pm$ 0,469
Контрольная	5,34 $\pm$ 0,315	10,59 $\pm$ 9,416 $p < 0,05$	20,22 $\pm$ 7,754 $p < 0,05$	22,13 $\pm$ 11,524 $p < 0,05$	13,3 $\pm$ 8,889 $p < 0,05$
Опытная	5,97 $\pm$ 0,483	10,044 $\pm$ 7,502 $p < 0,05$	11,69 $\pm$ 8,649 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	8,78 $\pm$ 6,479 $p_1 < 0,05$	6,88 $\pm$ 2,929 $p_1 < 0,05$

Примечание: Полученные результаты представлены в виде средней ($\bar{X} \pm m$), p – уровень статистической значимости по отношению к интактной группе; p_1 – уровень статистической значимости по отношению к контрольной группе

При коррекции аллоксанового диабета путем введения клеток костного мозга у крыс опытной группы было отмечено статистически значимое увеличение уровня глюкозы на 1–3-е сут по отношению к интактным крысам. При этом по отношению к контрольной группе изучаемый показатель был ниже. С 7-го по 14-й дни уровень глюкозы был в пределах нормы (табл. 1).

Уровень инсулина в сыворотке крови интактных животных составил 0,83 нг/мл. У контрольных животных выявлено статистически значимое понижение исследуемого гормона до 0,482 нг/мл ($p < 0,05$), по сравнению с интактной группой. Однако у опытной группы уровень инсулина превышал соответствующий показатель контрольной группы более чем в 2 раза (1,0 нг/мл) ($p < 0,05$). По сравнению с интактной группой был повышен, но статистически не значимо.

При коррекции аллоксан-индуцированного сахарного диабета с помощью введения клеток костного мозга наблюдается нормализация концентрации глюкозы и инсулина в биологических жидкостях экспериментальных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Можейко Л.А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета часть I. Аллоксановый диабет. Журнал Гродненского медицинского университета. 2013; 3: 26–29.
2. Медведева М.А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. М.: Аквариум Принт, 2013. 416.
3. ГОСТ Р-53434-2009 Принципы надлежащей лабораторной практики. М.: Стандартинформ, 2010. 16.

АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНОГО АМИНОГУАНИДИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ВИСЦЕРАЛЬНОЙ БОЛИ

В.С. Мотов, А.В. Быкова, В.В. Быков

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск, Россия

Аннотация

Боль, как симптом ряда заболеваний, значительно ухудшает качество жизни. В связи с этим поиск веществ с неопиоидной анальгетической активностью является актуальной задачей. В тесте «уксусные корчи» новое производное аминогуанидина при внутримышечном введении в дозе 12,5 мг/кг уменьшало количество судорожных подергиваний мышц на 83,9 % у 70 % животных и отодвигало наступление первой болевой реакции. Референтное средство диклофенак натрия уменьшало количество «уксусных корчей» на 64,5 % и увеличивало время до наступления первых корчей, но не влияло на количество животных с болевой реакцией.

Ключевые слова: анальгетическая активность, уксусные корчи, производное аминогуанидина.

ANALGESIC ACTIVITY OF AMINOGUANIDINE DERIVATIVE IN THE EXPERIMENTAL MODEL OF VISCERAL PAIN

V.S. Motov, A.V. Bykova, V.V. Bykov

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Siberian State Medical University», Tomsk, Russia

Abstract

Pain, as a symptom of a number of diseases, significantly worsens the quality of life. In connection with this, the search for substances with non-opioid analgesic activity is an urgent task. In the «acetic cortex» test, the new aminoguanidine derivative, when administered intramuscularly at a dose of 12.5 mg/kg, reduced the amount of convulsive muscle twitching by 83.9 % in 70 % of the animals and delayed the onset of the first pain reaction. The reference diclofenac sodium agent reduced the amount of «vinegar cramps» by 64.5 % and increased the time until the onset of the first cramps, but did not affect the number of animals with pain reaction.

Keywords: analgesic activity, acetic cortex, aminoguanidine derivative.

Актуальность. Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) оказывают противовоспалительное, анальгетическое и жаропонижающее действие. Общий механизм этих эффектов – ингибирование циклооксигеназы-2 и уменьшение синтеза простагландинов. Представляет интерес изучить влияние НПВС на другие механизмы ноцицептивной чувствительности. Известно, что в очаге воспаления под влиянием цитокинов активируется индуцируемая синтаза оксида азота и возрастает продукция оксида азота, участвующего в передаче болевых потенциалов [1]. Для создания эффективных анальгетиков перспективно исследовать вещества, тормозящие нитрергическую передачу в периферической и центральной нервной системе.

Противовоспалительное и анальгетическое действие оказывает производное аминоксидина – ингибитор индуцируемой синтазы оксида азота. Это соединение селективно ингибирует индуцируемую синтазу оксида азота и не влияет на активность конституциональных изоферментов и циклооксигеназы. В данной работе исследована анальгетическая активность производного аминоксидина при экспериментальной модели висцеральной боли, получившей название «уксусные корчи».

Материал и методы. Эксперименты проводили на 50 белых мышах- самцах линии CD-1 массой 23–25 г. Животных содержали при свободном доступе к корму и воде, температуре 20–22 °С и световом регулируемом режиме день:ночь по 12 ч. Для моделирования «уксусных корчей» (попеременное сокращение и расслабление мышц передней брюшной стенки, вытягивание задних лап, выгибание спины) животным внутрибрюшинно вводили 1 мл 1 % водного раствора уксусной кислоты через 30 мин после внутримышечной инъекции производного аминоксидина. В аналогичном эксперименте мышам вводили средства негативного (растворитель производного аминоксидина) и позитивного (диклофенак натрия в эффективной дозе) контроля. В течение последующих 15 мин после инъекции исследуемых веществ у каждого животного подсчитывали число корчей. Анальгетический эффект оценивали по уменьшению количества корчей, числа животных с корчами и увеличению времени до наступления первой болевой реакции,

Результаты. После однократного внутримышечного введения производного аминоксидина в дозах 12,5; 25 и 50 мг/кг количество «уксусных корчей» статистически достоверно уменьшалось соответственно на 83,9; 61,9; 52,9 % по сравнению с их числом у животных, получавших растворитель производного аминоксидина; количество животных с болевыми реакциями в виде «уксусных корчей» составляло 70, 60 и 70 % от их числа в контроле. Производное аминоксидина в дозе 12,5 мг/кг отодвигало наступление первой болевой реакции. Диклофенак натрия достоверно уменьшал количество корчей на 64,5 % и увеличивал время до наступления первой корчи, но не влиял на количество животных с корчами.

Производное аминоксидина оказывает наиболее выраженный анальгетический эффект в наименьшей из исследованных доз – 12,5 мг/кг и препятствует развитию висцеральной боли более эффективно, чем референтное средство диклофенак натрия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дюйзен И.В. Значение оксида азота в механизмах развития боли [дис. докт. мед. наук]. [Владивосток]; 2004. 250.

К ВОПРОСУ О ПРОФИЛАКТИКЕ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ ПРИ НАРУШЕНИИ КРОВΟΣНАБЖЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

П.Ю. Низин, Е.В. Блинова, М.М. Гераськина, Е.В. Семелева, И.В. Громова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», г. Саранск, Россия

Аннотация

Проведено исследование антиишемической активности 2-аминоэтансульфоната магния при однократном профилактическом введении в условиях острой ишемии головного мозга, вызванной правосторонней интравентрикулярной окклюзией средней мозговой артерии крыс. Проводилась оценка выживаемости, неврологического дефицита и изменения поведенческого статуса прооперированных животных. Введение исследуемого соединения приводило к снижению уровня летальности животных с острым нарушением мозгового кровообращения, увеличению продолжительности жизни, снижению неврологического дефицита и улучшению адаптационных возможностей животных. Результаты исследования позволяют актуализировать возможность использования 2-аминоэтансульфоната магния для превентивной терапии острых ишемических атак.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровообращения, ишемия, ишемическая атака, 2-аминоэтансульфонат магния, неврологический дефицит, инсульт.

TO THE MATTER OF THE PREVENTION OF NEUROLOGICAL EFFECTS IN THE BRAIN STROKE IN THE EXPERIMENT

P.Y. Nizin, E.V. Blinova, M.M. Geraskina, E.V. Semeleva, I.V. Gromova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «National Research Ogarev Mordovia State University», Saransk, Russia

Abstract

The aim of the research is to evaluate the preventive anti-ischemic action of magnesium 2-aminoethanesulfonate on the model of brain injury caused by right intraluminal occlusion of the middle cerebral arteries in rats. The compound injected before the simulated ischemic attack. We have assessed survival, neurological deficit dynamic and behavioral status changes of the animals. Introduction of the compound resulted in a decrease in the level of mortality of animals with acute stroke, increase the animals' life expectancy, reducing neurological deficit and improving the adaptive capacities of animals. Results of research allow us to actualize the possibility of using of magnesium 2-aminoethanesulfonate for preventive treatment of brain acute ischemic attacks.

Keywords: acute violation of cerebral circulation, ischemia, ischemic attack, magnesium 2-aminoethanesulfonate, neurological deficits, stroke.

Актуальность. За последние полвека отмечаются значительная смертность от инсульта или тяжелая инвалидизация пациентов.

МЗ РФ в 2015 году оценило заболеваемость ОНМК: 208,8 случаев на 100 тысяч населения. В 2016 году – уже 213,8 случаев на 100 тысяч населения. Инсульт остается важной медицинской и социальной проблемой.

Материал и методы. Для исследования выбраны белые нелинейные крысы-самцы массой 260–300 г. Создано 4 группы животных по 10 крыс в каждой: группа контроля, группа ложнооперированных, группа получавших мексидол и получавших ЛБК-527. Экспериментальная модель интравентрикулярной окклюзии мозговых сосудов крысы представляет собой введение силиконизированной нейлоновой нити во внутреннюю сонную артерию до средней мозговой артерии. Через 80 мин производят реперфузию.

Исследуемое соединение ЛБК-527 и препарат сравнения мексидол вводили в бедренную вену за 5 мин до окклюзии средней мозговой артерии в дозах, составляющих 5 % от показателя LD50, определенного для мышей при внутрибрюшинном введении с учетом правил межвидового переноса дозы. В группе контроля вводили внутривенно в эквивалентном объеме физиологический раствор.

Оценку неврологического дефицита осуществляли на основании таблиц Combs, D'Alecy и Garcia через 1, 3, 6, 12, 24 ч, после реперфузии. Поведенческие реакции изучали в тесте «Открытое поле» с системой видеорегистрации и программного анализа результатов.

Гистологическое изучение морфологических изменений головного мозга проводили через 48 ч. После декапитации головной мозг помещали на суточную экспозицию в 10 % раствор формалина. После промывания приступали к его обезвоживанию. С этой целью использовали растворы этилового спирта с возрастающей концентрацией. После обезвоживания материал пропитывали смесью эпоксидных смол с окисью пропилена, взятых в отношении 1:1. Далее осуществляли заливку парафином и с помощью микротомы производили срезы

толщиной 10 мкм. Окрашивание гематоксилином и эозином [1, 2].

Полученные таким образом гистологические препараты головного мозга изучали при помощи светового микроскопа СМ-125. Статистическую обработку полученных результатов проводили методами вариационной статистики.

Результаты. После окклюзии в контрольной группе появились признаки тяжелого неврологического дефицита (4,3 балла по таблице Combs и D'Alecy и 9,6 балла по таблице Garcia). Профилактическое введение мексидола сопровождалось снижением остроты клинической симптоматики (по таблице Combs и D'Alecy – 6,5 балла, по таблице Garcia – 7 баллов). Профилактическое введение ЛБК-527 характеризовалось сохранением двигательных и чувствительных функций в динамике (по таблице Combs и D'Alecy – 7 баллов, по таблице Garcia – 13 баллов).

Гистологически в контрольной группе определяется периваскулярный и перицеллюлярный отек с выраженной гиперемией сосудов и явлениями стаза в капиллярах на фоне нейрональной деструкции. Нарушена архитектура коры головного мозга по сравнению с препаратами ложнооперированных животных. Интенсивное окрашивание перинуклеарной цитоплазмы нейронов говорит о нарушении процессов жизнедеятельности клеток.

В группе ЛБК-527 меньше выражен периваскулярный и перицеллюлярный отек с явлениями стаза в сосудах микроциркуляторного русла. К тому же в данной группе животных было отмечено наличие участков нервной ткани без признаков деструкции.

Выводы. Имеет место профилактическая церебропротекторная активность соединения 2-аминоэтансульфоната магния. Такой эффект скорее всего связан с действием на центральное звено патогенеза острой ишемии головного мозга – глутамат-кальциевый каскад, что снижает интенсивность гибели нейронов от эксайтотоксичности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Макаренко А.Н., Бибикова В.Н., Терещенко Н.Н., Савосько С.И. Изучение нейронами глиоглиальных преобразований в клеточных системах головного мозга в норме и при моделировании цереброваскулярной патологии. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії. 2014; 1(45): 102–107.

2. Макаренко А.Н., Ковтун А.Н., Петров Ф.И. Изменения в глиальной системе III и V слоя цереброкортекса белых крыс при экспериментальном воспроизведении острой цереброваскулярной патологии. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії. 2016; 3(55): 169–173

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАДИОФАРМПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АПТАМЕРОВ

**А.В. Озерская, Е.А. Бадрин, К.В. Белугин, Н.Г. Чанчикова, Н.А. Токарев,
А.С. Кичкайло, Е.В. Семичев, Т.А. Баранкина, Б.В. Баранкин, О.Н. Якименко**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный Сибирский научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», г. Северск, Россия

Аннотация

На сегодняшний день не существует универсальной технологии синтеза РФП на основе аптамеров, поэтому в ходе работы необходимо подобрать качественный и количественный состав реагентов для получения стабильного целевого продукта с высокой радиохимической чистотой. Для создания радиофармпрепарата на первом этапе были выбраны ДНК-аптамеры, высокоаффинные к асцитным клеткам карциномы Эрлиха.

Ключевые слова: аптамер, радиофармпрепарат, ПЭТ/КТ.

PERSPECTIVES OF USING APTAMER – LABELED RADIOPHARMACEUTICALS

**A.V. Ozerskaya, E.A. Badrin, K.V. Belugin, N.G. Chanchikov, N.A. Tokarev,
A.S. Kichkailo, E.V. Semichev, T.A. Barankina, B.V. Barankin, O.N. Yakimenko**

The Federal Siberian Research Clinical Centre under the Federal Medical Biological Agency, Seversk, Russia

Abstract

To date, there is no universal technology for the synthesis of aptamers – labeled radiopharmaceutical, therefore, the challenge for our research is to investigate and select the qualitative and quantitative composition of the agents to obtain a stable target product with high radiochemical purity. At the first stage to comply with the goal and develop radiopharmaceuticals, DNA aptamers highly affinity to Ehrlich's ascites tumor cells were chosen.

Keywords: aptamer, radiopharmaceutical, PET/CT.

Актуальность. Центр ядерной медицины ФГБУ ФСНКЦ ФМБА России функционирует с декабря 2014 г., здесь осуществляют исследования методом ПЭТ/КТ с помощью радиофармпрепаратов, таких как ^{18}F -фтордезоксиглюкоза (ФДГ) для диагностики онкологических заболеваний, ^{11}C -метионин (для исследований опухолей головного мозга), ^{18}F -фторхолин (для исследований рака предстательной железы), ^{18}F -натрия фторид (для исследований костной ткани) и ^{13}N -аммония хлорид (для исследования перфузии миокарда). Также ^{18}F -дигидроксифенилаланин (^{18}F -ДОФА), который применяется в качестве диагностического средства для ПЭТ исследований нейроэндокринных и гломусных опухолей, феохромоцитомы, медуллярного рака щитовидной железы и болезни Паркинсона. Параллельно в центре отрабатываются методики синтеза ^{68}Ga -PSMA (диагностика рака предстательной железы) и ^{68}Ga – DOTA-TATE (диагностика нейроэндокринных опухолей) для внедрения их в клиническую практику. За время работы центра было проведено порядка 8500 исследований методом ПЭТ/КТ.

В настоящее время в Центре ядерной медицины ФСНКЦ ФМБА России ведется научно-исследовательская работа по теме «Синтез диагностических радиофармпрепаратов». **Целью данной работы** является разработка новых радиофармпрепаратов на основе аптамеров, специфически связывающихся только с опухолевыми клетками, что позволит выявить не только первичную опухоль, но и метастазы. В последнее время стала актуальной разработка способов специфической противоопухолевой терапии и диагностики на основе аптамеров [15].

Материал и методы. Аптамеры – одноцепочечные ДНК- или РНК- олигонуклеотиды, которые благодаря своей уникальной пространственной конформации имеют высокую специфичность и сродство к заданным мишеням [6]. В качестве радиоактивной метки был выбран ультракороткоживущий радионуклид с позитронным типом распада – ^{11}C ($T_{1/2} = 20,38$ мин). Изготовление радиофармпрепаратов осуществляется в радиохимической лаборатории Циклотронно-радиохимического комплекса, наработка ультракороткоживущих позитрон-излучающих радионуклидов (УКЖР), предназначенных для синтеза радиофармпрепаратов, проводится на циклотроне «Cyclone 18/9 ST» IBA. Синтез препарата осуществляется на модуле синтеза Synthra MeI-Plus-CO₂ («Synthra», Германия), который позволяет получать метилйодид ^{11}C -CH₃I из диоксида углерода ^{11}C -CO₂, произведенного в циклотроне и доставляемого в модуль синтеза в потоке мишенного газа. Синтез включает в себя стадию введения метки ^{11}C в молекулу – ДНК-олигонуклеотида (ООО «АптаМир», г. Красноярск).

Результаты. На основании выполняемых исследований были получены экспериментальные образцы радиофармпрепаратов на основе аптамера в количестве, достаточном для выполнения последующих исследований. Дальнейшим этапом будет разработка методов очистки готового препарата и технологической схемы приготовления лекарственной формы, подбор аналитических методик для проведения контроля его качества, проведение испытаний функциональной пригодности препарата на асцитных клетках и экспериментальных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Корсунский В.Н., Кодина Г.Е., Брускин А.Б. Ядерная медицина. Современное состояние и перспективы развития (Аналитический обзор и предложения). Атомная стратегия: журнал. СПб., 2007; 5(31): 4–6.
2. Zimmermann R. Nuclear Medicine: Radioactivity for Diagnosis and Therapy. Лез-Юлис: EDP Sciences, 2007. 173.
3. Shi H., He X., Wang K., Wu X., Ye X., Guo Q., Tan W., Qing Z., Yang X., Zhou B. Activatable aptamer probe for contrast-enhanced in vivo cancer imaging based on cell membrane protein-triggered conformation alteration. Proc Natl AcadSci USA. 2011; 108: 3900–3905.
4. Jacobson O., Yan X., Niu G., Weiss I.D., Ma Y., Szajek L.P., Shen B., Kiesewetter D.O., Chen X. PET imaging of tenascin-C with a radiolabeled single-stranded DNA Aptamer. J Nucl Med. 2015; 56: 616–621.
5. Hoshika S., Minakawa N., Matsuda A. Synthesis and physical and physiological properties of 4'-thioRNA: application to post-modification of RNA aptamer toward NF- κ B. Nucleic Acids Res. 2004; 32: 3815–25.
6. Радько С.П. Аптамеры как перспективные аффинные реагенты для клинической протеомики / С.П. Радько, С.Ю. Бадоев, Н.В. Рахметова, А.И. Арчаков. Биомедицинская химия. 2007; 53: 5–24.

ГЕМОСТИМУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ИНГИБИТОРА C-JUN N-TERMINAL KINASE (JNK) ПРИ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ МИЕЛОСУПРЕССИИ И МЕХАНИЗМЫ ИХ РАЗВИТИЯ

Г.А. Просекин

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Изучено влияние ингибитора JNK на регенераторно-компетентные клетки системы крови и восстановление кроветворения при миелосупрессии, вызванной введением 5-фторурацила. Показано, что введение ингибитора JNK в условиях цитостатической гемодепрессии ускоряет восстановление гемопоэза за счет повышения содержания и функциональной активности эритроидных и грануломоноцитарных кроветворных предшественников в костном мозге.

Ключевые слова: ингибитор JNK; регенерация гемопоэза.

TITLE –HEMOSTIMULATING EFFECTS OF C-JUN N-TERMINAL KINASE INHIBITOR (JNK) IN CYTOSTATIC MYELOSUPPRESSION AND MECHANISMS OF THEIR DEVELOPMENT

G.A. Prosekin

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The effect of the JNK inhibitor on the regenerative-competent cells of the blood system and the restoration of hematopoiesis in myelosuppression caused by the injection of 5-fluorouracil was studied. It has been shown that the injection of the JNK inhibitor in conditions of cytostatic hemodepression accelerates the restoration of hemopoiesis by increasing the content and functional activity of erythroid and granulomonocytic hemopoietic progenitors in the bone marrow.

Keywords: JNK inhibitor, regeneration of hematopoiesis.

Актуальность. Проведение химиотерапии всегда сопряжено с развитием целого ряда осложнений, среди которых наиболее клинически значима миелосупрессия (нейтропения, тромбоцитопения, анемия) [1, 2]. При этом используемые в настоящее время для её лечения гемостимулирующие препараты на основе гемопоэтинов не в полной мере соответствуют современным требованиям фармакологии, в том числе по селективности воздействия и оптимальным критериям лекарственной безопасности. В связи с этим представляется актуальным поиск принципиально новых подходов таргетного воздействия при миелоингибирующих состояниях. Перспективной выглядит разработка гемостимуляторов в рамках «Стратегии фармакологической регуляции внутриклеточной сигнальной трансдукции в регенераторно-компетентных клетках» [3], предполагающей использование в качестве мишеней воздействия отдельных звеньев внутриклеточной сигнальной трансдукции, вовлеченных в процесс реализации ростового потенциала прогениторных клеток и элементов микроокружения. При этом, согласно современным представлениям, важным путем регуляции клеточного цикла считают JNK-опосредованный MAP-киназный сигналинг [4–6]. Однако данных о роли JNK в регуляции функций клеток системы крови, в том числе при миелосупрессивных состояниях, практически нет.

В связи с вышеизложенным **целью** настоящего исследования явилось изучение влияния ингибитора JNK на регенераторно-компетентные клетки системы крови и восстановление

кроветворения при миелосупрессии, вызванной введением 5-фторурацила.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на 60 мышах-самцах линии C57Bl/6JY в возрасте 2 мес, массой 20–22 г. Животным вводили внутривенно однократно 5-фторурацил (5-ФУ) в максимально переносимой дозе (228 мг/кг). Мыши опытной группы получали ингибитор JNK внутривенно в дозе 30 мг/кг ежедневно в течение 7 дней. В качестве ингибитора JNK использовали IQ-1S [7]. Контрольным животным в аналогичных условиях вводили эквивалентный объем физиологического раствора. На 4, 8, 12 и 14-е сут после введения 5-фторурацила у опытных и контрольных животных определяли стандартные гематологические показатели, колониобразующую способность и пролиферативно-дифференцировочный потенциал костного мозга [4, 5]. Статистическую обработку полученных данных проводили методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты. Показано, что введение ингибитора JNK в условиях цитостатической гемодепрессии оказывает стимулирующее влияние на восстановление гемопоэза. Активация регенераторных процессов кроветворения под действием ингибитора сопровождалась развитием гиперплазии костного мозга за счет увеличения содержания незрелых нейтрофильных гранулоцитов на 400 % на 8-е и на 238 % на 12-е сут опыта, и эритроидных клеток на 12-е сут в 1,6 раза. Следствием этого явилось развитие нейтрофильного лейкоцитоза и ретикулоцитоза в периферической крови на 12-е и 14-е сут эксперимента.

Указанные изменения сопровождалось увеличением содержания в костном мозге гранулоцитарных и эритроидных прекурсоров на 8-е и 14-е сут эксперимента, что обусловлено более высокими темпами пролиферации гемопоэтических предшественников.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о выраженных гемопоэзстимулирующих эффектах ингибитора JNK, связанных, очевидно, с блокадой данной протеинкиназы непосредственно в кроветворных клетках-предшественниках, и указывают на перспективу разработки на его основе принципиально нового таргетного гемостимулятора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В. Роль гемопоэзиндуцирующего микроокружения в регуляции кроветворения при цитостатических миелосупрессиях. Томск: STT, 1999. 114.
2. Дыгай А.М., Жданов В.В., Мирошниченко Л.А., Зюзков Г.Н., Удут Е.В., Симанина Е.В., Агафонов В.И. Сравнительная оценка специфической активности стимуляторов гранулоцитопоэза после введения различных по механизму действия цитостатиков. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013; 155(5): 580–585.
3. Зюзков Г.Н., Жданов В.В., Данилец М.Г., Мирошниченко Л.А., Удут Е.В., Дыгай А.М. Патент на изобретение № 2599289 «Средства, стимулирующие регенерацию тканей». Оpubл. 14.09.2016 г. по заявке № 2013156908 с приоритетом от 20.12.2013 г.
4. Зюзков Г.Н., Удут Е.В., Мирошниченко Л.А., Данилец М.Г., Симанина Е.В., Трофимова Е.С., Минакова М.Ю. Роль JNK и участие p53 в реализации ростового потенциала мезенхимных клеток-предшественников в условиях in vitro. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015; 159(2): 205–208.
5. Зюзков Г.Н., Удут Е.В., Мирошниченко Л.А., Данилец М.Г., Симанина Е.В., Трофимова Е.С., Минакова М.Ю. Роль JNK и участие p53 в реализации ростового потенциала мезенхимных клеток-предшественников под влиянием фактора роста фибробластов. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015; 159(4): 472–475.
6. Bubici C., Papa S. JNK signalling in cancer: in need of new, smarter therapeutic targets. British Journal of Pharmacology. 2014; 171: 24–37.
7. Schepetkin I.A., Kirpotina L.N., Khlebnikov A.I., Hanks T.S., Kochetkova I., Pascual D.W., Jutila M.A., Quinn M.T. Identification and characterization of a novel class of c-Jun N-terminal kinase inhibitors. Mol Pharmacol. 2012 Jun; 81(6): 832–45. doi: 10.1124/mol.111.077446.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДОКСОРУБИЦИНА ЗА СЧЁТ ЭЛЕКТРОПОРАЦИИ МЕМБРАН ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ИМПУЛЬСНО-ПЕРИОДИЧЕСКИМ МИКРОВОЛНОВЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

Е.А. Просекина

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия

Аннотация

Выявлено усиление цитостатического действия доксорубина в сочетании с импульсно-периодическим микроволновым излучением.

Ключевые слова: опухолевые клетки, доксорубин, наносекундные импульсы, микроволны, усиление эффекта.

INCREASED EFFICIENCY OF DOXORUBICIN DUE TO ELECTROPORATION OF THE TUMOR CELLS MEMBRANES BY NANOSECOND PULSE-PERIODIC MICROWAVE RADIATION

E.A. Prosekina

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

Abstract

It was found that doxorubicin in a combined action with pulsed-periodic microwave radiation promotes amplification of cytostatic effect.

Keywords: tumor cells, doxorubicin, nanosecond pulses, microwaves, amplification of effect.

Актуальность. В последние годы активно изучается феномен «ускользания» опухолевой клетки из-под действия химиопрепарата, так называемая множественная лекарственная устойчивость [1]. Приобретенная устойчивость опухолевых клеток к химиотерапевтическим агентам является препятствием, снижающим эффективность проводимой химиотерапии. В ряде работ показано, что воздействие высокоамплитудными электрическими импульсами способно значительно увеличивать проницаемость мембран клеток за счёт образования в них пор (электропорация) [2]. Увеличение проницаемости клеточных мембран позволяет увеличивать количество доставляемых химиопрепаратов в клетку. Помимо этого известно, что воздействие микроволновых излучений в импульсном режиме (ИПМИ), когда частоты повторения импульсов не превышают 30 Гц, вызывает биологические эффекты, значительно отличающиеся от неимпульсных [3].

Цель: оценить способность импульсно-периодического микроволнового излучения усиливать действие доксорубина на опухолевые клетки.

Материалы и методы. В качестве модельного объекта использовалась клеточная линия HeLa. Клетки культивировались в пластиковых чашках Петри по стандартной технологии, процедуру облучения осуществляли в эппендорфах. Доксорубин использовался в различных концентрациях: 0,5, 1,0 и 2,5 мкМ. Облучение проводили на источнике импульсно-периодического микроволнового излучения – лабораторный генератор на основе магнетрона «МИ-505», разработанный и изготовленный в Институте сильноточной электроники СО РАН (г. Томск). Клетки подвергались воздействию ИПМИ с несущей частотой 10 ГГц, длительностью импульсов 70 нс, частотой повторения импульсов 10, 13, 16 Гц и пиковой плотностью потока мощности (пППМ) 1500 Вт/см². Время облучения ограничивалось количеством импульсов (4000 импульсов за сеанс).

Контрольные клетки подвергались всем тем же процедурам, что и экспериментальные, за исключением фактора облучения.

Оценку пролиферативной активности клеток на первые сутки проводили с помощью МТТ-теста. Оптическую плотность клеточной суспензии измеряли на планшетном спектрофотометре Thermo Scientific (США) на длине волны 620 нм. Для оценки пролиферативной активности клеток через 7 дней использовался метод колоний.

Все показатели анализировались в зависимости от параметров излучения (частоты повторения импульсов, количества воздействующих импульсов и напряженности электрического поля). Статистическая значимость различия между показателями облученных и контрольных клеток оценивалась с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты. После воздействия излучением с частотой повторения импульсов 13 Гц наблюдается снижение пролиферативной активности на 30 % по сравнению с контролем. При этом эффект усиливается при сочетанном воздействии с доксорубином с концентрациями 1 и 2,5 мкМ.

После облучения с частотой повторения импульсов 16 Гц был найден наиболее выраженный эффект ингибирования клеточной пролиферации – около 40 %. Увеличение концентрации ДР в культуре клеток приводит к еще более выраженному торможению клеточного роста. При этом эффект отмечается даже при использовании самой маленькой концентрации ДР – 0,5 мкМ, чего не наблюдалось при использовании других частот. Проведенный подсчет с помощью метода колоний показал, что через 7 суток после облучения эффект усиления,

отмечавшийся в первые сутки при сочетанное воздействие излучения и доксорубицин, исчезает. Это может свидетельствовать о возможном запуске репарации клеточных мембран, восстановлении клеточных структур, активному выведению ДР из клетки и ингибировании процессов апоптоза.

Выводы. Было установлено, что через 24 часа после воздействия ИПМИ с частотами повторения 13 и 16 Гц на опухолевые клетки, находящиеся в среде с доксорубицином, ингибирование клеточной пролиферации увеличивается на 30 и 40 % соответственно. На седьмые сутки эффект усиления исчезает.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блохин Д.Ю. Механизмы формирования лекарственной устойчивости опухолевых клеток. Клиническая онкогематология. 2009; 2(1): 167-175.
2. Pakhomov A.G., Shevin R., White J.A., Kolb J.F., Pakhomova O.N., Joshi R.P., Schoenbach K.H. Membrane permeabilization and cell damage by ultrashort electric field shocks. Arch Biochem Biophys. 2007 Sep 1; 465(1): 109-118. doi: 10.1016/j.abb.2007.05.003.
3. Литвяков Н.В., Булдаков М.А., Чердынцева Н.В., Ростов В.В., Климов А.И., Большаков М.А. Влияние импульсно-периодического СВЧ-излучения на синтез нуклеиновых кислот в опухолевых клетках. Радиационная биология. Радиоэкология. 2005; 5(4): 491-494.

ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ ГЕТЕРОДИМЕРНОГО РЕЦЕПТОРА К ЭРИТРОПОЭТИНУ АГОНИСТОМ СДЕРО НА БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКУЮ ФУНКЦИЮ МИТОХОНДРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА В РЕПЕРФУЗИОННОМ ПЕРИОДЕ У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6

П.В. Пчелин¹, М.М. Глявина^{1,2}, Н.А. Щелчкова², И.В. Мухина¹

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия¹

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Нижний Новгород, Россия²

Аннотация

Исследование направлено на выяснение влияния негематопоетического деривата эритропоэтина (CdEPO) на величину дыхания митохондрий головного мозга на 4, 10 и 20-е сут после моделирования острой локальной ишемии/реперфузии у мышей.

Ключевые слова: эритропоэтин, митохондрии, дыхание, головной мозг, ишемия/реперфузия, мыши.

ACTIVATION OF HETERODIMERIC RECEPTOR TO ERYTHROPOIETIN WITH ITS AGONIST CDEPO REGULATES BRAIN MITOCHONDRIAL BIOENERGETICS IN THE REPERFUSION PERIOD IN C57BL/6 MICE

P.V. Pchelin¹, M.M. Gliwina^{1,2}, N.A. Shelchkova², I.V. Mukhina¹

Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Institute of Biology and Biomedicine, Nizhny Novgorod, Russia¹

«Privolzhsky Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Nizhny Novgorod, Russia²

Abstract

The purpose of current research is to elucidate the effect of non-hematopoietic derivate of erythropoietin (CdEPO) on brain mitochondria respiration rate on 4, 10 and 20 day after local acute ischemia/reperfusion in mice.

Keywords: erythropoietin, CdEPO, mitochondria, respiration, brain, ischemia/reperfusion, mice, oroboros.

Актуальность. Ишемическое поражение головного мозга – одна из наиболее социально значимых проблем фундаментальной и клинической медицины – на протяжении многих лет продолжает быть одним из основных факторов инвалидизации и смертности населения по всему миру. Одним из основных механизмов развития повреждения головного мозга после воздействия ишемии является дисфункция митохондрий и нарушение клеточного дыхания. Оценка величины митохондриального дыхания рассматривается как один из важнейших показателей функционального состояния данной органеллы. Среди представителей эндогенной антигипоксической системы выделяют гормон эритропоэтин (ЕРО). За последние 15 лет интенсивных исследований биологических эффектов ЕРО и его дериватов были идентифицированы их плейотропные негематопоэтические эффекты. Выяснено, что ЕРО является триггером внутриклеточной молекулярной сигнализации, осуществляемой через различные изоформы рецепторов эритропоэтина. Идентификация гетеродимерной изоформы рецепторов ЕРО в головном мозге, ответственной за тканепротективное действие эритропоэтина, послужила предпосылкой для разработки негематопоэтических дериватов ЕРО, в частности CdЕРО [1]. Тем не менее механизмы антигипоксического действия дериватов ЕРО в мозге остаются неизученными [2].

Материал и методы. В качестве объекта исследования использовалась ткань головного мозга самцов мышей линии C57BL/6. Моделирование ишемии осуществлялось посредством транзиторной окклюзии средней мозговой артерии, время окклюзии составило 1 ч. После моделирования ишемии производилось внутривенное пятикратное введение агониста гетеродимерного рецептора к ЕРО (CdЕРО, ООО «ФАРМАПАРК», Россия) через 1 ч после реперфузии в дозе 50 мкг/кг. Контрольной группе животных вводился внутривенно физраствор в аналогичном режиме. Выделение митохондрий головного мозга производилось методом стандартного дифференциального центрифугирования. Величина потребления кислорода митохондриями регистрировалась при помощи респирометра высокого разрешения Oroboros Oxygraph-2k (Oroboros Instruments, Австрия) через 4, 10 и 20 сут после операции. Производилось измерение таких параметров дыхания, как базальное потребление кислорода (в присутствии субстратов дыхания глутамата и малата), потребление кислорода в процессе окислительного фосфорилирования (в присутствии экзогенного АДФ) и ассоциированное с комплексом II после ингибирования комплекса I ротеноном и добавления в камеру сукцината. Полученные данные были пересчитаны на 1 мг белка, содержание которого определялось биуретовым методом.

Результаты. При введении CdЕРО через 1 ч после реперфузии наблюдается достоверное подавление базального митохондриального дыхания уже на 4-е сут после операции – на 36 % ($p=0,002$) по сравнению с интактной группой, на 10-е сут отмечено усиление эффекта: подавление дыхания до 44 % ($p=0,002$) в сравнении с интактной группой и до 40% ($p=0,034$) по сравнению с контролем, на 20-е сут скорость дыхания ниже интактной на 28 % (рис. 1 А). Величина потребления кислорода в процессе окислительного фосфорилирования снижается на 4-е сут на 72 % ($p=0,036$) по сравнению с интактной группой, на 10-е сут – на 73 % ($p=0,036$) в сравнении с интактной группой, на 20-е сут скорость дыхания ниже интактной на 26 % (рис. 1 Б). В отношении величины дыхания, ассоциированной с комплексом II, достоверных отличий между группами не обнаружено.

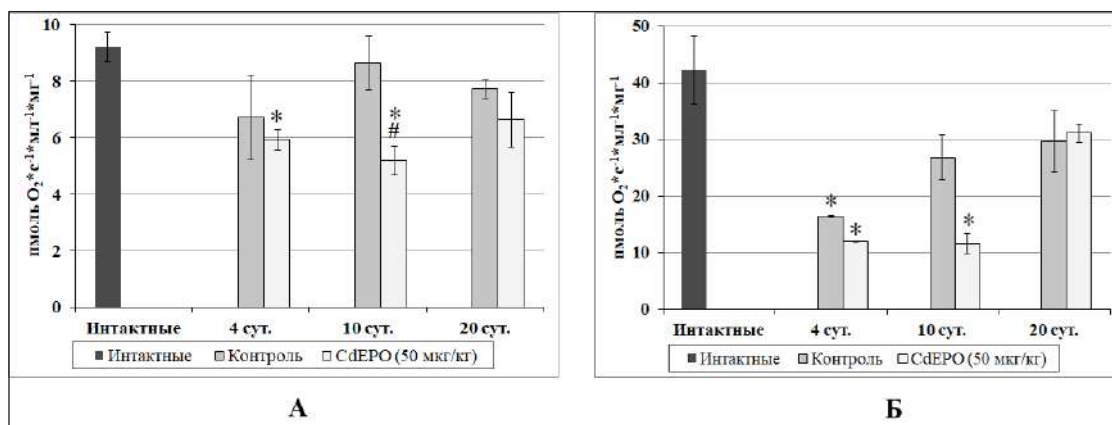


Рис. 1. Активация гетеродимерного рецептора к эритропоэтину агонистом CdЕРО приводит к подавлению величины дыхания (пмоль $O_2 \cdot e^{-1} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$) митохондрий головного мозга мыши как в процессе базального потребления кислорода (А), так и в процессе окислительного фосфорилирования (Б) на протяжении 20 сут после реперфузии:

* – различия достоверны относительно интактной группы ($p<0,05$);

– различия достоверны относительно контроля ($p<0,05$)

Выводы. Агонист гетеродимерного рецептора к эритропоэтину (CdEPO) при внутривенном введении мышам в первые часы после реперфузии оказывает подавляющее влияние на дыхание митохондрий головного мозга, ассоциированное с комплексом I, не влияя на вклад комплекса II в общую интенсивность потребления кислорода. Эффект умеренного подавления дыхания митохондрий головного мозга после введения препарата CdEPO, возможно, является одним из защитных механизмов посредством снижения генерации кислородных радикалов, следовательно, перекисного окисления липидов и белков мембран и сохранения целостности энергосинтезирующей системы митохондрий.

Таким образом, влияние CdEPO на величину потребления кислорода митохондриями головного мозга может являться отражением нейропротекторных свойств препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Brines M., Nimesh S., Villa P., Brines C., Mennini T., De Paola M., Erbayraktar Z., Erbayraktar S., Sepodes B., Thiernemann C., Ghezzi P., Yamin M., Hand C.C., Xie Q., Coleman T., Cerami A. Nonerythropoietic, tissue-protective peptides derived from the tertiary structure of erythropoietin. PNAS. 2008 Aug; 105 (31): 10925–30. doi: 10.1016/bs.vh.2017.01.002.

2. Mallet R.T., Ryou M.G. Erythropoietin: Endogenous Protection of Ischemic Brain. Vitam Horm. 2017 Mar; 105: 197–232. doi: 10.1016/bs.vh.2017.01.002.

КОРРЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ПОЛИСАХАРИДОВ *TUSSILAGO FARFARA* L. В УСЛОВИЯХ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ

Е.А. Сафонова, Е.А. Киселева, В.А. Машанова

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

С помощью метода ДНК-комет установлено, что применение полисахаридов *Tussilago farfara* L. у мышей линии C57BL/6 приводит к уменьшению уровня апоптоза и ДНК-повреждений, вызванных полихимиотерапией в клетках костного мозга и эпителия тонкого кишечника, что свидетельствует о геннопротекторных и защитных свойствах полисахаридов.

Ключевые слова: полихимиотерапия, полисахариды, ДНК, костный мозг, тонкий кишечник.

CORRECTOR PROPERTIES *TUSSILAGO FARFARA* L. POLYSACCHARIDES UNDER CONDITIONS OF POLYCHEMOTHERAPY

E.A. Safonova, E.A. Kiseleva, V.A. Mashanova

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Using the method of Comet Assay, it has been established that the use of *Tussilago farfara* L. polysaccharides in C57BL/6 mice leads to decrease apoptosis level and damage in DNA caused by polychemotherapy in bone marrow and small intestine epithelium cells. This indicates of the genoprotective polysaccharides properties.

Keywords: polychemotherapy, polysaccharides, DNA, bone marrow, small intestine.

Актуальность. В настоящее время препараты платины входят в состав стандартов лечения онкологических больных с различной локализацией опухолей. Одним из представителей этой группы является цисплатин, на основе которого разрабатываются и внедряются в клиническую практику новые схемы цитостатического лечения [1]. Агрессивное воздействие полихимиотерапии приводит к повреждению не только опухоли, но и здоровых органов и

тканей, в частности костного мозга, печени и тонкого кишечника. Перспективными агентами для коррекции нарушений, вызванных противоопухолевыми препаратами, являются полисахариды. В предыдущих исследованиях показано, что совместное применение этих веществ и цитостатиков в монорежиме снижает гематологическую токсичность, способствует повышению устойчивости печени и слизистой оболочки тонкого кишечника к действию противоопухолевых препаратов [2]. Однако в условиях полихимиотерапии корректорные свойства этих веществ не исследованы.

Цель исследования – изучить возможность снижения гематологической токсичности, а также степени повреждения ДНК в костном мозге и тонком кишечнике мышей с помощью полисахаридов мать-и-мачехи обыкновенной при цисплатинсодержащей комбинированной терапии.

Материал и методы. Эксперименты проведены на мышах-самках линии C57BL/6 с раком легкого-67 и карциномой легких Льюис. Комбинации цитостатиков: цисплатин (2,5 мг/кг) + этопозид (5 мг/кг); цисплатин (2,5 мг/кг) + паклитаксел (12 мг/кг); цисплатин (2,5 мг/кг) + иринотекан (10 мг/кг) вводили мышам внутривентрально, трехкратно. Нейпоген в дозе 125 мкг/кг и рекормон в дозе 10 Ед/мышь вводили подкожно в течение 5 сут. Мыши получали полисахариды внутривентрально в дозе 20 мг/кг в течение 23 сут. Показатели периферической крови определяли на гематологическом анализаторе «Muchic 18 vet» (Cormay, Франция), подсчет миелограмм, определение ретикулоцитов в периферической крови и основных показателей роста опухоли и метастазов проводили по стандартным методикам. Степень повреждения ДНК в костном мозге и тонком кишечнике оценивали с помощью метода «ДНК-комет» [3]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью критерия Вилкоксона – Манна – Уитни, критерия Стьюдента и углового преобразования Фишера.

Результаты. В костном мозге мышей с перевиваемыми опухолями, получавших полисахариды на фоне полихимиотерапии, общее количество миелокариоцитов, эритрокариоцитов, зрелых и незрелых нейтрофильных гранулоцитов было значимо выше относительно этих показателей у животных, леченных только цитостатиками. В периферической крови мышей отмечено увеличение общего количества лейкоцитов за счет повышения числа палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. Количество ретикулоцитов, содержание зрелых эритроцитов, показатели гемоглобина и гематокрита были достоверно выше таковых у животных, получавших только полихимиотерапию. Гематокорригирующее действие полисахаридов оказалось сравнимо с таковым у известных гемостимуляторов нейпогена и рекормона.

При оценке влияния полисахаридов на индуцируемую цисплатином и иринотеканом генотоксичность в тонком кишечнике установлено, что картина клеток, образующих ДНК-кометы, практически не отличалась от таковой в группе интактных животных. Оценка степени повреждения ДНК клеток показала, что % ДНК в хвосте кометы и % апоптотических ДНК-комет были значимо ниже по сравнению с этими значениями у мышей, получавших только полихимиотерапию. На препаратах костного мозга животных, которым вводили цитостатики по схеме «цисплатин + паклитаксел» совместно с полисахаридами *Tussilago farfara* L., регистрировались неповрежденные клетки, апоптотических ДНК-комет практически не наблюдалось. % ДНК-повреждений и % апоптотических ДНК-комет в этой группе исследования были достоверно ниже относительно этих показателей у животных, леченных только цитостатиками.

При добавлении полисахаридов в схемы полихимиотерапии отмечено, что масса опухоли, частота метастазирования, количество и площадь метастазов были значимо ниже таковых у мышей, получавших цитостатики изолированно.

Выводы. Добавление полисахаридов *Tussilago farfara* L. в схемы полихимиотерапии приводит к снижению миелосупрессии в отношении эритроидного и гранулоцитарного ростков кроветворения, уменьшению ДНК-повреждений в костном мозге и тонком кишечнике и повышению противоопухолевого и антиметастатического действия цитостатиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамов М.Е., Мащелуева А.Ю. Цисплатин-эбеве. Актуальность вопросов применения. Эффективная фармакотерапия. 2011; 22: 42–45.
2. Сафонова Е.А., Разина Т.Г., Зуева Е.П., Лопатина К.А., Ефимова Л.А., Гурьев А.М., Рыбалкина О.Ю., Хотимченко Ю.С. Перспективы использования полисахаридов растений в комплексной терапии злокачественных опухолей. Экспер. и клин. фармакол. 2012; 75(9): 42–47.
3. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005. 832.

ГЕМАТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПАКЛИТАКСЕЛА В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ЕГО ВВЕДЕНИЯ МЫШАМ ЛИНИИ СВА

Е.П. Федорова, О.В. Неупокоева, Л.А. Ермолаева, М.В. Филонова,
А.А. Чуринов

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины
имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Введение мышам линии СВА паклитаксела в дозе 40 мг/кг в отдаленные сроки вызывает развитие гипоплазии костного мозга и уменьшение числа лейкоцитов в периферической крови. При подсчете цитогрaмм в тимусе и селезенке под влиянием паклитаксела изменений не обнаружено.

Ключевые слова: паклитаксел, гематотоксичность, мыши.

HEMATOTOXIC EFFECT OF PACLITAXEL IN THE LONG TERM AFTER ITS ADMINISTRATION TO CBA MICE

E.P. Fedorova, O.V. Neupokoeva, L.A. Ermolaeva, M.V. Filonova, A.A. Churin

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research
Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Introduction of paclitaxel in the dose of 40 mg/kg to mice in the long-term period causes development of bone marrow hypoplasia and a decrease in the number of leukocytes in the peripheral blood. When calculating cytograms in the thymus and spleen under the influence of paclitaxel, no changes were found.

Keywords: Paclitaxel, hematotoxicity, mouse.

Актуальность. При применении химиотерапии возрастает риск развития поздних эффектов [1]. Одним из основных побочных эффектов химиотерапии являются дозозависимые нарушения в кроветворной ткани [2]. Повреждение костного мозга в течение длительного времени, сопровождающееся нарушениями в пуле клеток-предшественников и стромальных клеток, является одним из распространенных токсических эффектов противоопухолевого лечения [1]. Паклитаксел является одним из наиболее активных препаратов 2-й линии химиотерапии и, как большинство противоопухолевых препаратов, воздействует на активно обновляющиеся клетки организма [3]. В научной литературе достаточно широко охарактеризованы экспериментальные данные, описывающие последствия влияния паклитаксела на систему крови на ранних сроках после введения препарата [4]. В связи с этим перспективным является изучение воздействия паклитаксела на систему крови в отдаленные сроки.

Цель работы – оценить токсические эффекты паклитаксела на систему крови в отдаленные сроки.

Материал и методы. Исследования проведены на 70 мышах (самцах и самках) линии СВА. Паклитаксел мышам вводили однократно внутривенно в максимально переносимой дозе (МПД) 40,0 мг/кг. У экспериментальных животных проводили исследование периферической крови, костного мозга, цитогрaмм тимуса и селезенки стандартными гематологическими методами через 3 мес после введения препарата. Показатели форменных элементов в периферической крови определяли на гематологическом анализаторе Mythic 18 vet (Франция).

Результаты. Ранее в экспериментах, проведенных в лаборатории лекарственной токсикологии НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, было показано, что введение паклитаксела в МПД с 1-х по 14-е сут вызывает развитие гипоплазии костного мозга, выражающееся в снижении

общего количества миелокариоцитов. Наибольшее снижение числа миелокариоцитов отмечалось через 48 ч, за счет снижения числа эритроидных клеток, миелобластов, зрелых и незрелых нейтрофильных лейкоцитов, лимфоцитов. На 5-е сут исследования отмечалось выраженное снижение количества зрелых гранулоцитов, при этом на цитограммах костного мозга отмечались единичные нейтрофилы. Гипоплазия костного мозга сопровождалась панцитопенией в периферической крови. Было отмечено снижение количества эритроцитов, лейкоцитов за счет снижения числа нейтрофильных лейкоцитов, лимфоцитов и моноцитов. В тимусе и селезенке отмечалось снижение числа лимфоцитов. На 5-е сут исследования так же, как и в костном мозге, выявлялось значительное снижение количества зрелых гранулоцитов. В селезенке снижалось содержание эритроидных клеток, а на 5-е сут – число зрелых гранулоцитов. Через три месяца после введения паклитаксела отмечалось повторное развитие гипоплазии костного мозга (за счет снижения числа эритроидных клеток, зрелых и незрелых нейтрофильных лейкоцитов, лимфоцитов) и снижение количества лейкоцитов в периферической крови, за счет понижения числа сегментоядерных гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов. При подсчете цитогрaмм тимуса и селезенки изменений под влиянием паклитаксела не обнаружено. Полученные результаты свидетельствуют о долговременном повреждении костного мозга. На отдаленные сроки наблюдения после введения противоопухолевого препарата развивается стадия декомпенсации состояния костного мозга, что сопровождается снижением клеточности костного мозга и периферической крови. Хотя при этом общее количество клеток селезенки и тимуса восстанавливается до уровня контрольных значений, но это не приводит к пополнению пула костномозговых лимфоцитов.

Выводы. Введение паклитаксела на ранних сроках исследования вызывало развитие гипоплазии костного мозга, панцитопении периферической крови, снижение количества лимфоцитов в лимфоидных органах.

Через три месяца после введения паклитаксела в костном мозге наблюдалось угнетение миелоидного, эритроидного и лимфоидного ростков кроветворения, в периферической крови наблюдается снижение количества лейкоцитов как у самцов, так и у самок.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shao L., Wang Y., Chang J., Luo Y., Meng A., Zhou D. Hematopoietic stem cell senescence and cancer therapy-induced long-term bone marrow injury. *Transl Cancer Res.* 2013 October; 2(5): 397–411. doi:10.3978/j.issn.2218-676X.2013.07.03.
2. Wang Y., Probin V., Zhou D. Cancer therapy-induced residual bone marrow injury-mechanisms of induction and implication for therapy. *Curr Cancer Ther Rev.* 2006 August 1; 2(3): 271–279.
3. Neupokoeva O.V., Voronova O.L., Fedorova E.P., Filonova M.V., Ermolaeva L.A., Fomina T.I., Churina A.A. Pharmacologic Correction of Paclitaxel Induced Gene- and Myelotoxicity with an Extract of the Hairy Root Culture from *Scutellaria baicalensis*. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 2017; 7(2): 191–194.
4. Чуринов А.А., Гольдберг В.Е., Карпова Г.В., Воронова О.Л., Федорова Е.П., Колотова О.В., Скурихин Е.Г., Перишина О.В. Реакции костномозгового кроветворения на токсическое воздействие паклитаксела. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2008; 2: 173177.

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК (МСК) И ИМИ ПРОДУЦИРУЕМЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ (MV) НА СОДЕРЖАНИЕ Т-КЛЕТОК ПАМЯТИ И Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК В МОДЕЛИ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ МЫШЕЙ (ОПН)

Т.С. Хабалова, Э.А. Кашенко

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунопатологии» (НИИФКИ), г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Проведено исследование содержания Т-клеток памяти, регуляторных клеток в селезенке мышей с острой почечной недостаточностью (ОПН) на 4 и 11-е сут эксперимента, подвергшихся воздействию МСК и полученным из них MV. В качестве контроля были использованы клетки фибробластоподобной линии L929 и полученные из нее микровезикулы (L929-MV). Зарегистрирована тенденция к спонтанному снижению содержания CD4+CD44+CD62L+, CD8+CD44+CD62L+ Т-клеток памяти и регуляторных CD4+CD25+FoxP3+ клеток к 11-м сут постановки эксперимента. Эффекты применения клеток и микровезикул из них отличались по степени выраженности воздействия на клетки иммунной

системы. Более выраженным действием обладали микровезикулы, причем при введении MV из L929 регистрировалось снижение содержания клеток памяти более выражено на 11-е сут эксперимента. В процессе постановки эксперимента обнаружена тенденция прироста регуляторных CD4+CD25+FoxP3+ Т-клеток при использовании как МСК и L929, так и полученных из них микровезикул. Природа используемых клеток и полученных из них микровезикул не оказывала существенного влияния на конечный результат экспериментов.

Ключевые слова: острая почечная недостаточность, мезенхимальные стромальные клетки (МСК), микровезикулы (МВ).

EFFECT OF TRANSPLANTATION OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS (MSC) AND PRODUCED MICROVESICLES (MV), ON THE MAINTENANCE OF MEMORY T CELLS AND T-REGULATORY CELLS IN THE MODEL OF ACUTE RENAL FAILURE IN MICE

T.S. Khabalova, E.A. Kaschenko

Federal State Budget Scientific Institution «Scientific Research Institute of fundamental and clinical immunology» (SRIFCI), Novosibirsk, Russia

Abstract

The content of memory T cells, regulatory cells in the spleen of mice with acute renal failure (ARF) was studied on the 4th and 11th days of the experiment, which were exposed to MSC and derived from them MV. As a control, the cells of the fibroblast-like L929 line and the microvesicles obtained from it (L929-MV) were used. The tendency to spontaneous decrease in CD4 + CD44 + CD62L +, CD8 + CD44 + CD62L + – memory T cells and regulatory CD4 + CD25 + FoxP3 + cells 11 days of setting the experiment. Effects of the use of cells and microvesicles from them differed in the degree of expression of the effect on cells of the immune system. The microvesicles possessed a more pronounced effect, and, when MV was introduced from L929, a decrease in the content of memory cells was recorded more pronounced on day 11 of the experiment. In the process of setting up the experiment, the growth trend of regulatory CD4 + CD25 + FoxP3 + T cells was revealed when both MSC and L929 were used, as well as the microvesicles obtained from them. The nature of the cells used and the microvesicles obtained from them did not have a significant effect on the final result of the experiments.

Keywords: acute renal failure in mice, mesenchymal stem cells (MSC), microvesicles (MV's).

Актуальность. В ряде экспериментальных исследований было показано, что применение микровезикулярных частиц (MV) мышам с ОПН во многом повторяет терапевтический эффект МСК в различных экспериментальных моделях тканевого повреждения [1, 2], в том числе при остром повреждении тубулярного эпителия почечных канальцев, индуцированном внутримышечным введением глицерола [3] или острой ишемией-реперфузией [4]. При остром повреждении почки, независимо от генеза, наблюдается локальная повышенная активность многих компонентов иммунной системы [5, 6]. Эксперименты с адоптивным переносом активированных макрофагов, Т- и В-лимфоцитов [5] показали их отрицательную роль в патогенезе ОПН. В то же время МСК обладают иммунорегуляторными свойствами [6], которыми могут обладать и продуцируемые МСК MV, но данный вопрос остается неизученным. Таким образом, **целью нашей работы** было исследование воздействия МСК и MV, ими продуцируемыми, на параметры клеточного иммунитета у мышей с индуцированной ОПН.

Материал и методы

Модель острой почечной недостаточности

Эксперимент проведен на линейных мышах линии C57BL/6 возрастом 3–4 мес. Острую почечную недостаточность индуцировали однократным внутримышечным введением 50 % глицерола в дозе 8,6 мг/кг.

Получение мезенхимальных стромальных клеток костного мозга и фибробластов линии L929

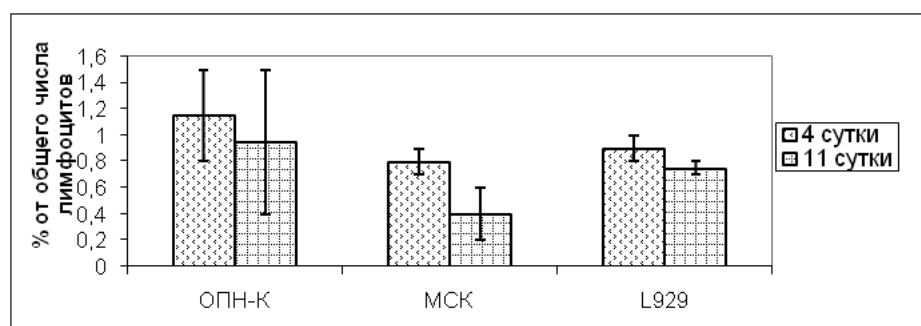
Мезенхимальные стромальные клетки получали из костного мозга сингенных мышей C57BL/6 методом адгезии к культуральному пластику. В качестве неспецифического контроля использовали клеточную линию фибробластов L929 (кариотип H-2b), которую культивировали

в стандартных условиях. При введении количество клеток фибробластов, а также полученных MV сопоставляли с таковыми от МСК.

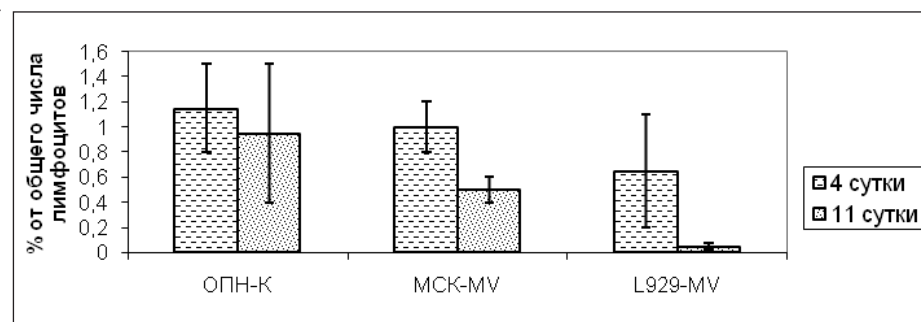
Получение микровезикулярных частиц

После достижения монослоя часть МСК или клеток линии L929 подвергали апоптозу путем культивирования в условиях депривации кислорода и в бессывороточной среде в течение 1 сут. Через 24 ч супернатант центрифугировали при 2000 g в течение 15 мин для удаления клеточного дебриса. Надосадок дополнительно центрифугировали при 100 000 g в течение 60 мин при 4 °С. Полученный в итоге осадок ресуспендировали в 100 мкл физиологического раствора. Для стандартизации суспензии МВ определяли содержание белка по методу Брэдфорда.

Результаты. Проведено исследование содержания Т-клеток памяти, регуляторных клеток в плазме крови мышей с ОПН на 4 и 11-е сут эксперимента, подвергшихся воздействию МСК и полученным из них MV. В качестве адекватного контроля были использованы клетки фибробластной линии L929 и полученные из нее микровезикулы (L929-MV) (Рис. 1–3). Использование клеток линии L929 в качестве контроля было оправдано не только тем, что это фибробластоподобная прилипающая к пластику культура, но и тем, что клетки линии L929 были того же генотипа, что и МСК, полученные от мышей C57BL/6 (H-2b). Зарегистрирована тенденция к спонтанному снижению содержания CD4+CD44+CD62L+, CD8+CD44+CD62L+ Т-клеток памяти и регуляторных CD4+CD25+FoxP3+ клеток. Эффекты применения клеток и микровезикул несущественно отличались по воздействию на клетки иммунной системы. Более выраженным действием обладали микровезикулы, причем MV из L929 снижали содержание клеток памяти более выражено на 11-е сут эксперимента (рис. 1, 2).

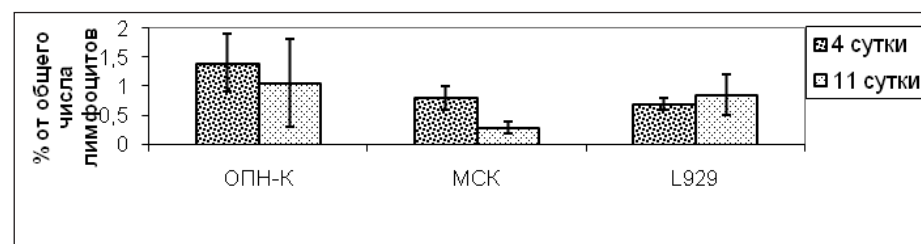


А.



В.

Рис. 1. Содержание CD4+CD44+CD62L+ в клетках селезенки мышей (n=7) с ОПН на 4 и 11-е сут после трансплантации им МСК, фибробластов L929 (А), или микровезикул (В), полученных из МСК (МСК-MV) или L929 (L929-MV). ОПН-К- контроль без воздействия



А.

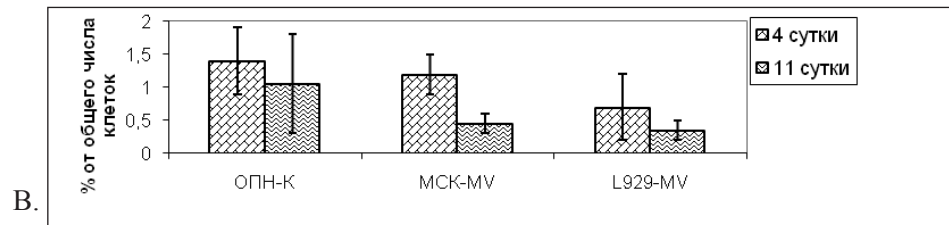


Рис. 2. Содержание CD8+CD44+CD62L+ в клетках селезенки мышей (n= 7) с ОПН на 4 и 11-е сут после трансплантации им МСК, фибробластов L929 (А.) или микровезикул (В), полученных из МСК (МСК–MV) или L929 (L929–MV). ОПН-К- контроль без воздействия

В процессе постановки эксперимента обнаружена тенденция прироста регуляторных CD4+CD25+FoxP3+ Т-клеток как при использовании МСК и L929, так и полученных из них микровезикул. Природа используемых клеток и полученных из них микровезикул не оказывала существенного влияния на конечный результат экспериментов (рис. 3).

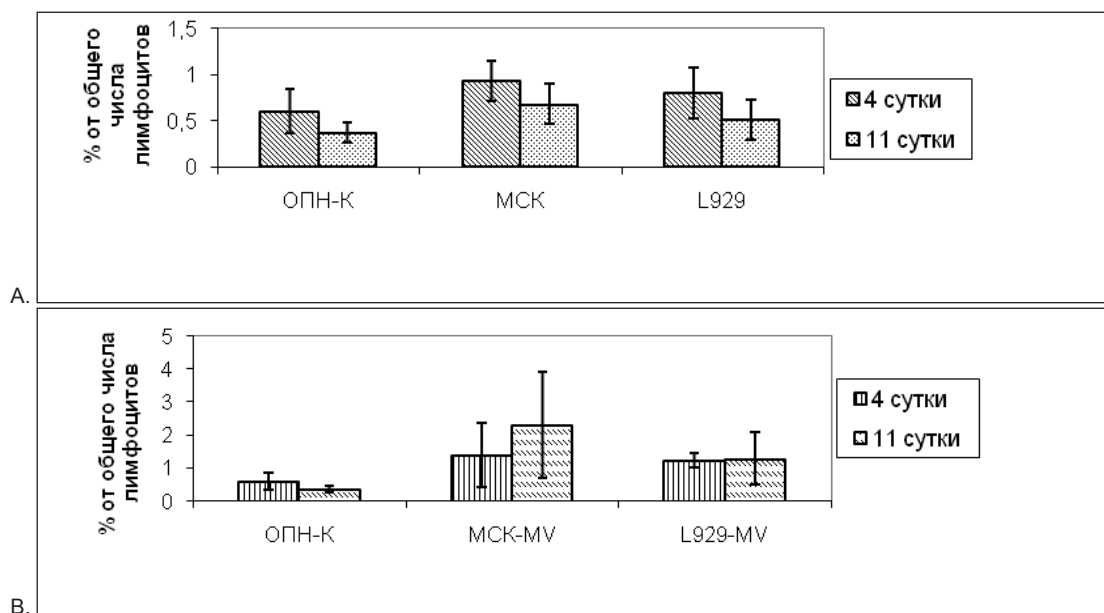


Рис. 3. Содержание CD4+CD25+FoxP3+ в клетках селезенки мышей (n= 7) с ОПН на 4 и 11-е сут после трансплантации им МСК , фибробластов L929 (А.) или микровезикул (В), полученных из МСК (МСК–MV) или L929 (L929–MV). ОПН-К- контроль без воздействия

Выводы. Прорегенераторное действие МСК в значительной степени, если не полностью, обусловлено продуцируемыми ими микровезикулярными частицами. Указанное действие клеток и продуцируемых ими MV не является специфичным. Клетки фибробластной линии L929 и продуцируемые ими MV обладали такими же воздействиями, как и МСК. MV из L929 были также более активны в рамках воздействия на Т-клетки памяти и регуляторные клетки. Показана тенденция прироста Т-рег клеток к 11-м сут эксперимента.

Таким образом, в процесс уменьшения воспаления после развития ОПН активно вовлечены регуляторные клетки. Эффекты применения клеток и микровезикул несущественно отличались по воздействию на клетки иммунной системы. Более выраженным действием обладали микровезикулы, причем MV из L929 снижали содержание клеток памяти более выражено на 11-е сут эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rabb H. Immune modulation of acute kidney injury. J. Am. Soc. Nephrol. 2006; 17: 604–6.
2. Zager R.A., Jonson A.C., Lund S., Hanson S. Acute renal failure: determinants and characteristics of injury-induced hyperinflammatory response. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2006; 291: 546–556.
3. Bonventre J.V., Zuk A. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? Kidney international. 2004; 66(2): 480–485.
4. de Vries B., Köhl J., Leclercq W.K., Wolfs T.G., van Bijnen A.A., Heeringa P., Buurman, W.A. Complement factor C5a mediates renal ischemia-reperfusion injury independent from neutrophils. The Journal of Immunology. 2003; 170(7): 3883–3889.
5. Burne M.J., Daniels F., El Ghandour A., Mauityedi S., Colvin R.B., O'Donnell M.P., Rabb H. Identification of the CD4(p) T

cell as a major pathogenic factor in ischemic acute renal failure. *J Clin Invest.* 2001 Nov; 108(9): 1283–90.

6. *Togel F, Hu Z, Weis K, Isaac J, Lange C, Westenfelder C.* Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005 Jul; 289(1): F31–42.

ВЛИЯНИЕ КУРСОВОГО ВВЕДЕНИЯ ПЕНТОКСИФИЛЛИНА НА ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ, МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ И МИКРОВАСКУЛЯРИЗАЦИЮ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА У СПОНТАННО ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС В ПЕРИОД РАЗВИТИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

А.Ю. Шаманаев

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины
имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Данная работа была направлена на изучение влияния курсового введения пентоксифиллина (ПФ) на артериальное давление, реологические параметры крови, микроциркуляцию и микроваскуляризацию коры головного мозга у крыс SHR в период развития артериальной гипертензии. Животным опытной группы внутрижелудочно вводили ПФ в дозе 100 мг/кг в течение 6 нед. Результаты работы продемонстрировали эффективность ПФ как средства, ограничивающего рост артериального давления и снижающего тяжесть синдрома гипервязкости крови у гипертензивных животных. Кроме того, было выявлено, что ПФ частично препятствовал развитию микроциркуляторных нарушений в коре головного мозга крыс SHR в период развития артериальной гипертензии, оказывая положительное влияние на микрососудистое русло.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, вязкость крови, микроциркуляция, микроваскуляризация, спонтанно гипертензивные крысы.

EFFECTS OF PENTOXIFYLLINE ON HEMORHEOLOGICAL, BRAIN CORTEX MICROCIRCULATORY AND MICROVASCULARIZATION PARAMETERS IN SHRS DURING ARTERIAL HYPERTENSION DEVELOPMENT

A.Y. Shamanaev

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research
Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The present study was aimed to investigate the effect of pentoxifylline (PTX) administration on arterial pressure, rheological parameters of blood, microcirculation and microvascularization of brain cortex in SHR during the development of arterial hypertension. SHRs were treated intragastrically with PTX at a dose of 100 mg/kg for 6 weeks. It was shown that administration of PTX limited the blood pressure increase and attenuated the severity of hyperviscosity syndrome in hypertensive animals. In addition, it was found that PTX partially prevented the development of microcirculatory disorders in the cerebral cortex of SHRs during the development of arterial hypertension, because of positive effects on the microvascular bed.

Keywords: arterial hypertension, blood viscosity, microcirculation, microvascularization, cortex, pentoxifylline, SHR.

Актуальность. В последние годы все большее внимание уделяется изучению микро-

циркуляторных нарушений при артериальной гипертензии (АГ) [1]. При этом особую опасность представляют нарушения микроциркуляции и микроваскуляризации коры головного мозга, так как поражение головного мозга является наиболее опасным и часто фатальным осложнением АГ [2]. Согласно современным представлениям, важную роль в появлении и прогрессировании микроциркуляторных нарушений при АГ играет изменение реологических параметров крови и, прежде всего, поведение ее форменных элементов – эритроцитов [3]. При этом основные группы антигипертензивных средств не способны восстанавливать реологические свойства крови и, как следствие этого, ослаблять нарушения микроциркуляции [4]. С другой стороны, существуют вещества с хорошо доказанной гемореологической активностью. Одним из таких веществ является пентоксифиллин (ПФ), эффективность которого была показана в многочисленных экспериментах *in vitro* и *in vivo* [3]. В связи с этим **целью работы** явилось исследование влияния гемореологического средства ПФ на вязкость крови и определяющие ее показатели, а также микроциркуляцию и микроваскуляризацию коры головного мозга у крыс SHR в период развития АГ.

Материал и методы. Эксперименты проведены на 20 крысах SHR и 10 нормотензивных крысах WKY. Систолическое артериальное давление (САД) регистрировали на аппарате с помощью системы неинвазивного измерения давления NIBP200A. Измерение гемореологических параметров подробно описано ранее [5]. Вязкость крови и плазмы определяли на вискозиметре Брукфилда DV-II+PRO. Гематокрит определяли методом центрифугирования в стеклянных капиллярах. Агрегацию и деформируемость эритроцитов исследовали на анализаторе RheoScan-AnD300. Локальный кровоток в области зрительной коры головного мозга крыс определяли методом лазер-доплеровской флоуметрии. Микроциркуляторное русло коры головного мозга исследовали методом микроскопии и определяли плотность капиллярного русла (среднее число капилляров в расчете на 1 мм²), средний диаметр капилляров, а также структуру капиллярной сети. Для количественной оценки капилляры распределяли на четыре интервальные группы: до 3, от 3 до 5, от 5 до 7 и от 7 до 9 мкм.

Крысы опытной группы получали внутрижелудочно ПФ в дозе 100 мг/кг в 1 % крахмальной слизи ежедневно в течение 6 нед, животные контрольной и нормотензивной групп – эквивалентное количество крахмальной слизи. Для оценки достоверности межгрупповых различий использовали непараметрический критерий Mann – Whitney U test.

Результаты. В исследуемый период у крыс SHR наблюдался прогрессивный рост артериального давления. Значения систолического давления у крыс SHR на 11-й нед жизни были достоверно выше на 68 % по сравнению со значениями у нормотензивных крыс линии WKY (таблица). При этом в группе животных, получавших ПФ, СД к концу эксперимента было достоверно ниже на 19 % по сравнению с контролем.

Комплекс гемореологических нарушений, наблюдаемых у крыс SHR контрольной группы к концу периода возрастания АД, свидетельствует о развитии у них состояния гипервязкости крови с достоверным повышением гематокрита, вязкости плазмы и вязкости крови на всех скоростях сдвига, а также ухудшением деформируемости эритроцитов (таблица, рис. 1).

Таблица

Влияние курсового внутрижелудочного введения пентоксифиллина (ПФ) на систолическое давление (СД), гематокрит (Ht), вязкость плазмы (ВП), полупериод агрегации эритроцитов (T_{1/2}), индекс элонгации при напряжении сдвига 7 Па (ИЭ7 Па), локальный мозговой кровоток (ЛМК), средний диаметр капилляров и среднюю плотность капиллярного русла у крыс SHR в период развития АГ.

Показатели	WKY (n=10)	SHR (n=10)	SHR + ПФ (n=10)
СД, мм рт.ст.	124±4	208±11*	168±6**
Ht, %	44±1	48±1*	49±1*
ВП, мПа·с	1.07±0.01	1.13 ± 0.02*	1.15 ± 0.01*
T _{1/2} , с	12.50±2.25	10.93 ± 0.90	11.23 ± 1.41
ИЭ _{7 Па} , усл. ед.	0.472±0.002	0.459±0.002*	0.466±0.002+
ЛМК, ВРУ	2629±358	1865 ± 229*	2644 ± 306+
Средний диаметр капилляров, мкм	4.8±0.1	3.7 ± 0.1*	4.1 ± 0.1**
Средняя плотность капиллярного русла, капилляров на мм ²	156±10	111 ± 6*	152±6+

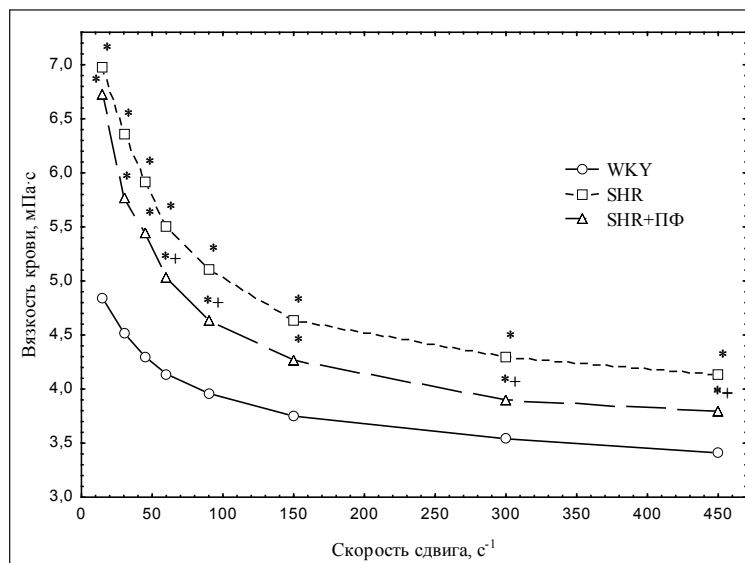


Рис. 1. Влияние курсового внутривенного введения пентоксифиллина (ПФ) на вязкость цельной крови у крыс SHR в период развития АГ. * – достоверные различия по сравнению со значениями у крыс WKY ($p < 0,05$); + – достоверные различия по сравнению со значениями у крыс SHR ($p < 0,05$)

У крыс, получавших ПФ, вязкость крови в диапазоне скоростей сдвига 60–450 с⁻¹ была достоверно ниже (на 4–6 %) по сравнению с контролем (рис. 1). Курсовое введение ПФ не влияло на уровень гематокрита, вязкость плазмы и показатель агрегации эритроцитов $T_{1/2}$. При исследовании деформируемости эритроцитов в этой группе было выявлено ее достоверное повышение на 1,5 % относительно контроля.

Значение ЛМК у крыс SHR в возрасте 11 нед было достоверно ниже (на 29 %), чем в соответствующий период у крыс линии WKY (таблица). У животных, получавших ПФ, значение ЛМК было достоверно больше (на 42 %) по сравнению с контролем.

К концу эксперимента в контрольной группе наблюдались значительно более низкие значения среднего диаметра капилляров (на 23 %), средней плотности капиллярного слоя (на 29 %) и количество капилляров диаметром 3–5 мкм (на 37 %) и 5–7 мкм (на 45 %) по сравнению с крысами WKY того же возраста (таблица).

В группе животных, получавших ПФ, наблюдался достоверно больший средний диаметр капилляров (на 11 %), увеличивались плотность капиллярной сети (на 37 %) и процент капилляров диаметром 3–5 мкм (на 43 %) и 5–7 мкм (на 37 %).

Выводы. Результаты работы продемонстрировали эффективность введения ПФ как средства, ограничивающего рост артериального давления и снижающего тяжесть синдрома гипервязкости крови у крыс SHR в период развития гипертензии. Кроме того, было выявлено, что ПФ частично препятствовал развитию микроциркуляторных нарушений в коре головного мозга гипертензивных крыс, оказывая положительное влияние на микрососудистое русло.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jung F, Pindur G., Ohlmann P., Spitzer G., Sternitzky R., Franke R.P., Leithäuser B., Wolf S., Park J.W. Microcirculation in hypertensive patients. *Biorheology*. 2013; 50(56): 241–255. doi: 10.3233/BIR-130645.
2. Hadaegh F., Mohebi R., Khalili D., Hasheminia M., Sheikholeslami F., Azizi F. High normal blood pressure is an independent risk factor for cardiovascular disease among middle-aged but not in elderly populations: 9-year results of a population-based study. *J. Hum. Hypertens*. 2013; 27(1): 18–23. doi: 10.1038/jhh.2011.112.
3. Sloop G., Holsworth R.E.J., Weidman J.J., St Cyr J.A. The role of chronic hyperviscosity in vascular disease. *Ther Adv Cardiovasc Dis* 2015; 9(1): 19–25. doi: 10.1177/1753944714553226.
4. Meiselman H.J., Baskurt O.K. Hemorheology and hemodynamics: Dove and/or? *Clin Hemorheol Microcirc* 2006; 35(1–2): 37–43.
5. Алиев О.И., Анищенко А.М., Сидехменова А.В., Шаманов А.Ю., Чернышева Г.А., Плотников М.Б. Гемореологические показатели у крыс SHR в периоды возрастания и стабильно высокого артериального давления. *Патофизиологическая физиология и экспериментальная медицина*. 2017; 61(1): 51–57.

ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ ГЕТЕРОДИМЕРНОГО РЕЦЕПТОРА К ЭРИТРОПОЭТИНУ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА В УСЛОВИЯХ ТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Н.А. Щелчкова^{1,2}, И.И. Белоусова^{1,2}, Р.Д. Лапшин¹, И.В. Мухина^{1,2}

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Нижний Новгород, Россия¹

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия²

Аннотация

Исследование направлено на выяснение влияния негематопоезического агониста гетеродимерного рецептора к эритропоэтину на выживаемость и изменение функционального состояния головного мозга у крыс разного возраста в условиях тотальной ишемии.

Ключевые слова: эритропоэтин, головной мозг, тотальная ишемия, выживаемость, неврологический дефицит.

EFFECT OF HETERODIMERIC ERYTHROPOIETIN RECEPTOR ACTIVATION ON SURVIVAL AND FUNCTIONAL BRAIN STATE OF RATS OF DIFFERENT AGES AFTER TOTAL ISCHEMIA

N.A. Shelchkova^{1,2}, I.I. Belousova^{1,2}, R.D. Lapshin¹, I.V. Mukhina^{1,2}

Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia¹

Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Institute of Biology and Biomedicine, Nizhny Novgorod, Russia²

Abstract

The study was aimed at elucidating the effect of the non-hematopoietic heterodimeric erythropoietin receptor agonist on survival and functional brain state of rats of different ages after total brain ischemia.

Keywords: erythropoietin, brain, total brain ischemia, survival, neurological severity score.

Актуальность. Цереброваскулярные поражения являются на сегодняшний день сложной медико-социальной проблемой в связи с высокими показателями заболеваемости, смертности и инвалидизации [1]. Лидирующая позиция в структуре сосудистых заболеваний головного мозга принадлежит ишемическим инсультам [2].

Материал и методы. Тотальная ишемия моделировалась путем двусторонней окклюзии сонных артерий у аутобредных крыс-самцов Wistar (n=60) двух возрастных групп: 3 и 8 мес. Препарат «Карбамилированный дарбэпоэтин (CdEPO)» раствор для внутривенных инъекций 50 мг/кг (ООО «Фармапарк», Россия) и препарат сравнения «Цераксон®», раствор для внутривенных инъекций» (Ferrer Internacional S.A., Испания) в дозе 86 мг/кг вводили за 15 мин перед проведением операции. Оценивали смертность животных после воздействия, массу тела, а также функциональное состояние нервной системы по изменению выраженности неврологического дефицита (Neurological Severity Scores – NSS). Статистический анализ проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0.

Результаты. Для выявления нейропротекторного действия гетеродимерного рецептора к эритропоэтину в модели тотальной ишемии мозга оценивали выживаемость животных на 4, 10 и 28-е сут после перевязки обеих сонных артерий у животных разного возраста.

Первую серию опытов составили животные молодого возраста (3 мес). В контрольной группе выживаемость животных к 4-м сут составила 60 %, а на 10 и 28-е сут гибель животных снизила выживаемость до 40 %. В группе с применением известного нейропротектора

Цераксон выживаемость на 4-е сут составила 60 %, снизилась к 10-м сут до 50 % и к 28-м сут составила только 30 %. Применение изучаемого препарата CdEPO не изменило показатели смертности на 4-е сут после ишемии, однако повысило выживаемость на 10-е сут до 60 % и до 50 % на 28-е сут, что превышало уровень в контрольной группе на 10 %, а в группе «Цераксон» – на 20 %.

Исследование массы тела как одного из интегральных показателей, отражающего общее физическое состояние животных показало, что на 14-е сут после моделирования ишемии в контрольной группе не наблюдалось прироста массы тела животных ($193,8 \pm 19,8$ г) по сравнению с фоновыми значениями ($186,0 \pm 2,9$ г) ($p > 0,05$, критерий Уилкоксона). Применение известного нейропротектора Цераксон приводило к увеличению массы тела молодых животных ($239,8 \pm 39,5$ г) на 26 % относительно фоновых значений ($189,0 \pm 4,1$ г), но не отличались от контрольных показателей. В группе с применением CdEPO наблюдался прирост массы тела животных ($283,0 \pm 7,3$ г) относительно фоновых показателей ($194,5 \pm 3,2$ г) и достоверная разница по сравнению с контролем ($p < 0,05$, критерий Манна – Уитни).

Исследование неврологического статуса у выживших после моделирования тотальной ишемии молодых животных на 4-е сут не показало межгрупповых различий. Однако на 10-е сут применение изучаемого препарата CdEPO достоверно снижало неврологический дефицит животных по сравнению с контролем. Таким образом, превентивное введение препарата «Карбамилированный дарбэпоэтин (CdEPO)» (ООО «ФАРМАПАРК», Россия) в дозе 50 мкг/кг в/в за 15 мин до глобальной ишемии мозга оказывало нейропротекторный эффект, увеличивая на 20 % выживаемость животных 3-месячного возраста после тотальной ишемии по сравнению с препаратом сравнения (Цераксон®), снижая неврологический дефицит на 10-е сут после воздействия и положительно влияя на динамику массы тела животных по сравнению с контролем.

Моделирование тотальной ишемии у 8-месячных животных привело к 100 % смертности животных в течение первых трех суток после операции. Применение известного нейропротектора Цераксон увеличивало выживаемость до 60 % на 4-е сут, до 40 % на 10-е сут, однако на 28-е сут смертность составила, как и в контрольной группе, 100 %. Применение изучаемого препарата CdEPO к 4-м сут увеличило выживаемость до 100 %, на 10-е сут до 80 %, на 28-е сут до 60 % по сравнению с контрольной группой. Таким образом, молодые крысы демонстрировали более высокую резистентность к глобальной ишемии, чем крысы зрелого возраста, поэтому 100 % смертности после 3 сут при моделировании глобальной ишемии мозга у молодых крыс не наблюдалось.

Показатели массы тела животных зрелого возраста в группах Цераксон ($345,2 \pm 19,2$ г) и CdEPO ($329,6 \pm 21,7$ г) достоверно не отличались между собой (критерий Манна – Уитни). При исследовании неврологического дефицита 100 % смертность в контрольной группе животных зрелого возраста не позволила оценить показатели в данной группе, поэтому он был принят за 10 баллов (максимальное количество невыполненных заданий).

Применение препарата Цераксон на 4-е сут снизило неврологический дефицит до $4,0 \pm 2,4$ баллов, а на 10-е сут до $6,6 \pm 2,1$ баллов. Оценка неврологического статуса в группе с применением CdEPO на 4-е сут показало снижение показателей до значения $0,6 \pm 0,2$ балла. В последующем к 10-м сут неврологический дефицит нарастал до $3,4 \pm 1,7$ балла, но был ниже, чем в группе Цераксон.

Выводы. Препарат «Карбамилированный дарбэпоэтин (CdEPO)» (ООО «ФАРМАПАРК», Россия) обладает нейропротективным потенциалом в модели глобальной ишемии мозга по параметрам выживаемости, неврологического дефицита, массы тела. Полученный эффект превышает эффективность действия известного нейропротектора «Цераксон®, раствор для внутривенных инъекций» (Ferrer Internacional S.A., Испания). Нейропротекторный эффект препарата наиболее выражен у животных зрелого возраста, чем молодого.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев И.А., Ступак В.В., Черных В.А., Зайдман А.М., Половников Е.В., Черных Е.Р., Шевела Е.Я., Дергилев А.П. Экспериментальные модели сосудистых поражений головного мозга. Успехи современного естествознания. 2015; 1(3): 366–369.
2. Исмагилов М.Ф. Ишемический мозговой инсульт: терминология, эпидемиология, принципы диагностики, патогенетические подтипы, терапия острого периода заболевания. Неврологический вестник. 2005; 37(1/2): 67–76.

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ КОНЪЮГАТА ПРОСПИДИНА С ФОСФАТОМ ДЕКСТРАНА

Д.В. Юнина¹, А.В. Заборовский¹, Н.А. Пятаев², Л.А. Тарарина¹,
С.А. Щукин², Е.В. Громова², К.Г. Гуревич¹, А.В. Кокорев², А.А. Кладиев³,
П.П. Бычковский⁴, М.Ю. Ревтович⁴

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия¹

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва» г. Саранск, Россия²

Общество с ограниченной ответственностью «Биотехнологическая компания ТНК», г. Москва, Россия³

«Научно-исследовательский институт физико-химических проблем» Белорусского государственного университета, г. Минск, Белорусия⁴

Аннотация

Перспективным направлением химиотерапии в онкологии является направленный транспорт лекарственных средств. В статье представлены результаты исследования острой токсичности конъюгата проспидина с фосфатом декстрана на модели асцитной гепатомы Зайдела у крыс. Приводятся наиболее вероятные механизмы снижения токсичности цитостатика при его конъюгации с фосфатом декстрана.

Ключевые слова: химиотерапия, гидрогель, острая токсичность.

ACUTE TOXICITY OF PROSPIDIN CONJUGATE WITH DEXTRAN PHOSPHATE

D.V. Yunina¹, A.V. Zaborovsky¹, N.A. Pyataev², L.A. Tararina¹,
S.A. Shchukin², E.V. Gromova², K.G. Gurevich¹, A.V. Kokorev²,
A.A. Kladiev³, P.P. Bychkovsky⁴, M.Yu. Reutovich⁴

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Moscow State Medical-Stomatological University named after A.I. Evdokimov» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia¹

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «National Research Mordovian State University named after N. Ogaryov», Saransk, Russia²

Limited Liability Company «Biotechnology Company TNK», Moscow, Russia³

«Research Institute of Physico-Chemical Problems» of the Belarusian State University, Minsk, Belarus⁴

Abstract

A promising approach for cancer chemotherapy is the targeted drug delivery. The results obtained from the acute toxicity study of prospidin conjugate with dextran phosphate on the model of ascites Zaidel hepatoma in rats are presented. The most likely mechanisms for reducing the toxicity of the cytostatic during its conjugation with dextran phosphate are given.

Keywords: chemotherapy, hydrogel, acute toxicity.

Актуальность. Одной из наиболее важных проблем в современной онкологии является поиск и создание новых химиотерапевтических лекарственных препаратов. Большинство лекарственных средств, изученных и использующихся в настоящее время, обладают невысокой избирательностью цитостатического действия на опухолевые клетки, а также значительной общей токсичностью. В связи с этим актуален как дальнейший поиск новых активных соединений, но и совершенствование их лекарственных форм [1]. С этой целью используют различные средства доставки уже изученных лекарственных средств – антитела, липосомы, мицеллы,

конъюгация с биополимерами [2]. Для лечения опухолей серозных полостей, которые плохо поддаются системной химиотерапии, перспективно использование конъюгатов химиопрепаратов с фосфатом декстрана, который отличается высокой биосовместимостью, низкой токсичностью и отсутствием антигенных свойств. При использовании таких препаратов увеличивается концентрация, пролонгируется время нахождения препарата в полости, снижается вероятность резкого повышения концентрации в плазме крови, т.е. снижение частоты побочных эффектов [3].

Однако на сегодняшний день нет достаточных данных об эффективности и токсичности гидрогелевых форм химиопрепаратов *in vivo*, поэтому имеется потребность в более подробном их изучении. **Цель** – исследовать острую токсичность конъюгата проспицина с фосфатом декстрана (ФД).

Материал и методы. В настоящем исследовании в качестве противобластного компонента был взят проспидин. Использовалась официальная форма препарата Проспидин-гидрогель, разработанная в НИИ физико-химических проблем БГУ (Минск) и ООО «Биотехнологическая компания ТНК» (Москва). Токсичность была изучена на белых лабораторных крысах на модели асцитной гепатомы Зайдела, поскольку применение этих композиций планировалось при опухолях серозных полостей.

В данной серии экспериментов животные были разделены на 2 группы (для официальной формы химиопрепарата и для его конъюгата с ФД). В свою очередь, в каждой из групп было выделено по 6 подгрупп (по 10 животных на 1 дозу препарата).

Проспидин и конъюгат проспидин-ФД вводили внутривентриально в дозах 450, 600, 900, 1200, 1800, и 2700 мг/кг в пересчете на проспидин.

Контролем служили 2 группы по 10 животных. В 1-й контрольной группе крысам вводили 0,9 % раствор NaCl в объеме 3,0 мл, во 2-й – 3,0 мл 10 % раствора ФД. Эта доза соответствовала дозе ФД в подгруппе с максимальными дозами химиопрепарата. Наблюдение за животными продолжалось в течение 30 дней, ежедневно фиксировалась летальность. Определение показателей токсичности проводилось с помощью probit-analysis. Рассчитаны LD_{10} , LD_{50} и LD_{100} исследуемых субстанций, а также их 95 % доверительные интервалы.

Результаты. Как при использовании водорастворимого, так и при использовании гидрогелевого препарата максимальная доза проспицина, ограниченная объемом введения, не приводила к гибели 100 % животных. Показатели острой токсичности различных лекарственных форм проспицина представлены в табл. 1. LD_{100} составила 3310 мг/кг для водорастворимой и 5140 мг/кг для гидрогелевой форм препарата (показатели получены расчетным методом, в эксперименте данная доза не достигалась). LD_{10} составила 920 мг/кг и 1370 мг/кг, LD_{50} – 1570 мг/кг и 2520 мг/кг соответственно.

Таблица 1

Показатели острой токсичности различных лекарственных форм проспицина

Показатель	Проспидин		Конъюгат ФД-проспидин	
	Доза, мг	U_{95} *	Доза, мг	U_{95} *
LD_{10}	920	520–789	1370	750–920
LD_{50}	1570	1380–2420	2520	1850–2690
LD_{100}	3310**	1280–4310	5140**	346–05230

Примечание: U_{95} – 95 % доверительный интервал; ** – показатель получен расчетным методом, в эксперименте данная доза не достигалась.

Выводы. Исследование показало, что конъюгирование с ФД снижало токсичность проспицина. LD_{10} конъюгата в 1,5–2 раза превышала таковую для водорастворимого препарата. Предполагается, что наиболее вероятным механизмом снижения токсичности цитостатика может быть уменьшение скорости поступления в системный кровоток, приводящее к снижению его пиковой концентрации. Все это говорит о перспективности дальнейших исследований и применения химиопрепаратов, конъюгированных с фосфатом декстрана.

ЛИТЕРАТУРА

- Catalani E., Proietti Serafini F., Zecchini S., Picchietti S., Fausto A.M., Marcantoni E., Buonanno F., Ortenzi C., Perrotta C., Cervia D. Natural products from aquatic eukaryotic microorganisms for cancer therapy: Perspectives on anti-tumour properties of ciliate bioactive molecules. *Pharmacological Research*. 2016. 113 (Pt A): 409–420. doi: 10.1016/j.phrs.2016.09.018.
- Трецилин И.Д., Переверзева Э.Р., Бодягин Д.А., Мирчик Е.П., Бухман В.М. Модификация токсичности противоопухолевых препаратов как метод повышения эффективности химиотерапии злокачественных новообразований. *Российский биотерапевтический журнал*. 2005; 4 (3): 87–94.
- Бычковский П.П., Юркович Т.Л., Голуб Н.В., Алиновская В.А., Костерова Н.И., Беляев С.А., Александрова Е.Н., Истомин Ю.П., Шибко Д.В., Кладиев А.А. Создание полимер-лекарственной формы проспицина на основе биодеградирующих гидрогелей. Тезисы Докладов XVI Российского Национального конгресса «Человек и лекарство». М., 2010. 629.

СОДЕРЖАНИЕ

КАРДИОЛОГИЯ

Акентьева Т.Н. Антитромботический шовный материал в сердечно-сосудистой хирургии	6
Будникова О.В. Уровень гликемии и сократительная способность изолированного препарата миокарда пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и ишемической болезни сердца	8
Горлова А.А., Васильцева О.Я., Ворожцова И.Н., Малахова Т.Е. Влияние ожирения и артериальной гипертензии на риск развития артериальных эмболических осложнений	10
Дамбаев Б.Н., Свинцова Л.И., Джаффарова О.Ю., Сморгон А.В., Криволапов С.Н., Лежнёв А.А., Плотникова И.В., Гуляев А.М., Иванова И.В. Исторические аспекты электрокардиостимуляции в детской практике. Осложнения при кардиостимуляции	12
Канев А.Ф., Смышляев К.А., Диль С.В. Морфометрические показатели митрального клапана при гипертрофической кардиомиопатии	13
Керчева М.А., Рябова Т.Р., Гусакова А.М., Суслова Т.Е., Рябов В.В., Карпов Р.С. Роль маркеров sST2 и TNTProBNP в развитии неблагоприятного ремоделирования левого желудочка у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST	16
Киргизова М.А., Штатолкина М.А., Суслова Т.Е., Рябов В.В. Влияние циркулирующих в крови стволовых клеток костного мозга на клиническое течение постинфарктного периода	22
Копьева К.В. Миокардиальные интерлейкиновые рецепторы – члены семейства ST2 как мишень для патогенетической терапии у больных хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса	26
Листвягова Н.А. Экспрессия ММП-2 в кардиомиоцитах крыс в динамике развития антрациклиновой кардиомиопатии	29
Личикаки В.А., Мордовин В.Ф., Пекарский С.Е., Рипп Т.М., Фальковская А.Ю., Баев А.Е. Оценка динамики уровня провоспалительного цитокина ФНО- α у больных с резистентной гипертензией под влиянием ренальной денервации	31
Манвелян Д.В. Первые результаты нового метода эндоскопического выделения большой подкожной вены при аортокоронарном шунтировании	33
Мартынов И.Д. Исследование вариабельности ритма сердца у больных с нейрогенными обмороками	37
Мочула А.В., Завадовский К.В., Андреев С.Л., Крылов А.Л., Лишманов Ю.Б. Диагностическая значимость динамической ОФЭКТ в оценке резерва миокардиального кровотока у пациентов с атеросклерозом коронарных артерий	39
Муслимова Э.Ф., Реброва Т.Ю., Будникова О.В., Кондратьева Д.С., Ахмедов Ш.Д., Афанасьев С.А. Роль полиморфизмов генов ATP2A2 и RYR2 в прогрессировании хронической сердечной недостаточности	40
Мухомедзянов А.В. Новые препараты на основе агонистов опиоидных рецепторов уменьшают реперфузионные повреждения сердца	43
Резова М.А., Никишев П.А., Костюк С.В., Овчаренко Е.А., Кудрявцева Ю.А. Полимерный протез клапана сердца со створчатым аппаратом лепесткового типа. биосовместимость in vivo	45
Рюмшина Н.И. Контрастированная магнитно-резонансная томография в оценке поражения стенки аорты у пациентов с резистентной артериальной гипертензией	47
Ситдиков Д.И. Морфофункциональная характеристика поражений клапанного аппарата сердца человека по данным операционного материала	49
Ситдиков И.И., Власова Т.И., Москалева А.В., Мышкина Н.А. Полиморфизм генов ферментов антиоксидантной системы как фактор риска развития тяжелых форм ИБС	51
Ситкова Е.С., Мордовин В.Ф., Пекарский С.Е., Рипп Т.М., Мочула О.В., Усов В.Ю., Баев А.Е. Кардиопротективный эффект ренальной денервации: проксимальная или дистальная методика аблации?	53
Солдатова А.М., Кузнецов В.А., Малишевский Л.М. Роль параметров электрической и механической диссинхронии миокарда при отборе на сердечную ресинхронизирующую терапию	56
Солдатова А.М., Кузнецов В.А. Проблема ответа на сердечную ресинхронизирующую терапию: кто является нереспондером?	58

Стрюкова Е.В., Рагино Ю.И., Мурашов И.С., Полонская Я.В., Волков А.М., Каштанова Е.В., Кургузов А.В., Черняевский А.М. Изучение факторов свертывания крови у мужчин с выраженным коронарным атеросклерозом	60
Тонкошкурова А.В. Использование метода Биологической Обратной Связи в комплексной реабилитации работников атомной промышленности	62
Тукиш О.В. Прогностические факторы неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в отдаленном постинфарктном периоде у пациентов пожилого и старческого возраста	65
Худякова А.Д., Ковалькова Н.А., Каштанова Е.В., Щербакова Л.В., Рагино Ю.И. Распространенность снижения скорости клубочковой фильтрации в молодой популяции г. Новосибирска и некоторые биомаркеры поражения почек	68
Шалаева О.Е., Репин А.Н., Вершинина Е.О. Применение кратких курсов терапии статинами с целью профилактики контраст-индуцированного повреждения почек при плановом эндоваскулярном лечении больных ИБС	70
Широков Н.Е., Кузнецов В.А., Солдатова А.М., Дьячков С.М., Криночкин Д.В. Динамика механической диссинхронии у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с суперответом на сердечную ресинхронизирующую терапию при длительном периоде наблюдения	72
Шишкова Д.К., Великанова Е.А., Кривкина Е.О., Миронов А.В., Кутихин А.Г. Эндотелиотоксическое действие кальций-фосфатных бионов in vivo	75
Шрамко В.С., Полонская Я.В., Морозов С.В., Черняк Е.И., Черняевский А.М., Рагино Ю.И. Полиненасыщенные жирные кислоты и их ассоциации с параметрами окислительно-антиоксидантного потенциала крови и липопротеин-ассоциированной фосфолипазы A2 при коронарном атеросклерозе	77

МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА И ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА

Баранова Е.Д., Дружинин В.Г. Влияние особенностей состава микрофлоры верхних дыхательных путей на развитие профессиональных заболеваний респираторного тракта в условиях постоянной экспозиции генотоксическими факторами	80
Беляева Е.О., Кашеварова А.А., Скрябин Н.А. Идентификация и патогенетическая значимость CNVs у пациентов с нарушениями умственного развития	82
Вагайцева К.В., Зарубин А.А., Макеева О.А., Степанов В.А. Полноэкзомный анализ связи генетических вариантов у индивидов с высокими и низкими когнитивными способностями	84
Васильева О.Ю., Васильев С.А., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н., Скрябин Н.А. Выявление мутаций в генах COL1A1 и COL1A2 с помощью таргетного массового параллельного секвенирования	86
Жалсанова И.Ж., Брагина Е.Ю., Фрейдин М.Б., Бабушкина Н.П., Гараева А.Ф., Колоколова О.В., Тарасенко Н.В., Гомбоева Д.Е., Пузырев В.П. Функциональные особенности вариантов генов IL10 (rs1800872) и TNF (rs2239704), ассоциированных с развитием бронхиальной астмы и туберкулеза ..	88
Жигалина Д.И., Скрябин Н.А., Канбекова О.Р., Артюхова В.Г., Светлаков А.В., Лебедев И.Н. Комбинированное молекулярное кариотипирование трофэктодермы и внутриполостной жидкости из полости бластоцисты человека для прогноза анеуплоидий в эмбриобласте	90
Зарубин А.А., Марков А.В., Шарыш Д.В., Назаренко М.С., Барбараш О.Л., Пузырёв В.П. Оценка уровня лейкоцитарной инфильтрации в атеросклеротической бляшке на основании данных о метилировании ДНК	93
Иродова К.А. Влияние хронической экспозиции радоном на цитогенетические показатели	95
Исубакова Д.С., Литвяков Н.В., Халюзова М.В., Тахауов Р.М., Усова Т.В., Брониовская Е.В., Цыганов М.М., Тахауова Л.Р., Карпов А.Б. Изменение частоты хромосомных aberrаций лейкоцитов крови лиц, подвергавшихся хроническому радиационному воздействию	96
Каширских Д.А., Попов В.Н. Ген UCP2 как биомаркер резистентности в условиях экспериментальной болезни Паркинсона	99
Киселёва Е.В., Возилова А.В. Влияние хронического облучения на частоту нестабильных хромосомных aberrаций у населения прибрежных сел реки Теча	100
Колесников Н.А., Зарубин А.А., Харьков В.Н., Степанов В.А. Особенности геномного распределения регионов высокой гомозиготности у коренного населения Сибири	102
Королёва Ю.А., Марков А.В., Казанцев А.Н., Барбараш О.Л., Назаренко М.С. Анализ связи уровня метилирования промоторов генов MIR10B и MIR21 с нестабильностью атеросклеротических бляшек сонных артерий	105

Куртанов Х.А., Сыдыкова Л.А., Павлова Н.И., Филиппова Н.П., Апсолихова Г.А., Соловьева Н.А. Додохов В.В., Варламова М.А., Дьяконова А.Т., Неустроева Л.М., Борисова Н.В. Молекулярно-генетический анализ маркера rs738409 гена <i>PNPLA3</i> у больных сахарным диабетом 2 типа в Республике Саха (Якутия)	107
Лопаткина М.Е., Фишман В.С. Дифференциальная активность генов в нейронах, полученных из индуцированных плюрипотентных клеток пациентов с интеллектуальными нарушениями и реципрокными микроструктурными хромосомными микроделециями и микродупликациями	109
Марков А.В., Назаренко М.С., Кучер А.Н., Королева Ю.А., Зарубин А.А., Шарыш Д.В., Барбараш О.Л., Пузырёв В.П. Связь метилирования генов микрорнк со стабильностью атеросклеротической бляшки	111
Миньженкова М.Е., Маркова Ж.Г. Молекулярно-цитогенетическая диагностика семейного случая комплексной хромосомной перестройки	113
Османова Д.З., Бойко А.С. Роль аллельных вариантов генов серотонинергической системы в развитии лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией	115
Пономаренко И.В., Решетников Е.А. Роль эпистаза в формировании менархе	117
Попович А.А., Вагайцева К.В., Бочарова А.В., Степанов В.А. Эволюционно-генетический анализ SNP, связанных с устойчивостью к холоду, в популяциях человека	118
Рашина О.В. Влияние наследственной предрасположенности на локализацию и размеры язвенного дефекта у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки	120
Решетников Е.А. Полиморфные локусы и показатели гемостаза у беременных с плацентарной недостаточностью	121
Рыжкова О.П., Чухрова А.Л., Миронович О.Л., Поляков А.В. Разработка решения для анализа клинического экзозома	123
Савченко Р.Р., Васильев С.А., Фишман В.С., Мурашкина А.А., Дорофеева А.В., Лебедев И.Н. Влияние продуктов генов <i>RBFOX2</i> и <i>THBS1</i> на метилирование гистонов в нокаутных клеточных линиях	124
Салахов Р.Р., Голубенко М.В., Марков А.В., Слепцов А.А., Назаренко М.С. Исследование числа копий мтднк на клетку при атеросклерозе	126
Сердюкова Е.С., Ларионов А.В. Взаимосвязь экспрессии гена <i>WHSC1</i> с уровнем хромосомных обменов при профессиональной лёгочной патологии шахтёров	128
Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А. Роль регуляторных участков гена <i>SYDE1</i> в формировании наследственной предрасположенности к преэклампсии	129
Слепухина А.А., Скрябин Н.А., Лопаткина М.Е., Кашеварова А.А., Зубрицкий А.В., Новикова М.А., Лифшиц Г.И., Лебедев И.Н. CNVs в нозологической структуре врожденных пороков сердца	131
Слепцов А.А., Назаренко М.С., Макеева О.А., Барбараш О.Л., Пузырев В.П. Структурная вариабельность генома при болезнях сердечно-сосудистого континуума	134
Тарлычева А.А., Маркова Ж.Г. Разработка протокола диагностики низкоуровневой мозаичной X-анеуплоидии	136
Шамигова С.Ф., Калюжная Е.Э., Романова Е.Л. SNP-маркеры предрасположенности к костному флюорозу	137
Шаповалова Д.А., Тюрин А.В., Литвинов С.С., Хусаинова Р.И. Поиск ассоциаций полиморфных вариантов сайтов связывания микро-РНК с остеоартрозом у женщин	139
Шнайдер М.А. Влияние модуляторов метилирования днк на продукцию про- и противовоспалительных цитокинов фибробластоподобными синовиальными клетками больных ревматоидным артритом in vitro, их миграцию и инвазию	141
Ядыкина Т.К., Казицкая А.С., Гуляева О.Н., Олещенко А.М., Жукова А.Г. Молекулярно-генетические маркеры предрасположенности к развитию профессионально обусловленной патологии у рабочих алюминиевой промышленности	143
Ялаев Б.И., Хусаинова Р.И. Поиск ассоциаций полиморфизма сайта связывания микроРНК гена <i>VDR</i> с остеопорозом	145

ОНКОЛОГИЯ

Адилъгереева Э.П., Смирнихина С.А., Челышева Е.Ю., Шухов О.А., Кочергин-Никитский К.С., Якушина В.Д., Цаур Г.А., Морданов С.В., Туркина А.Г., Лавров А.В., Куцев С.И. Поиск молекулярных маркеров терапии ИТК у пациентов с впервые выявленным ХМЛ	148

Алентов И.И. Совместное применение серологических маркеров CA125 и HE4 у больных раком яичников на этапах лечения и наблюдения	150
Алымова Е.В., Смирнова О.В., Каспаров Э.В., Титова Н.М. Состояние перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты крови у больных аденомой и раком простаты.....	152
Арефьева А.А., Богуш Т.А. Экспрессия виментина в прогнозе эффективности первой линии стандартной платиносодержащей химиотерапии у больных серозным раком яичников.....	154
Ахтемзянов А.Р., Корытов О.В., Маслюкова Е.А., Корытова Л.И., Понежа Т.Е., Сокуренок В.П., Бондаренко А.В., Брынцалова А.А. Разработка модели экспериментального лучевого цистита у крыс	156
Балтрукова А.Н., Гавриш Ю.Е. Сравнительная оценка возрастных показателей и морфологической характеристики аденокарцином у больных раком эндометрия за последние 50 лет	158
Башарина А.А., Мамичев И.А. Экспрессия эстрогеновых рецепторов альфа и бета в ткани рака яичников как предиктивный маркер эффективности первой линии платиносодержащей химиотерапии	160
Белевич Ю.В., Гольдберг А.В. Эффективность комбинированного лечения больных раком гортани и гортаноглотки с использованием индукционной химиотерапии	162
Белозерова А.В., Колегова Е.С. Ассоциация экспрессии генов белков клеточной подвижности с развитием плоскоклеточного рака головы и шеи	164
Бельская Л.В., Сарф Е.А. Динамика уровня цитокинов слюны при раке легкого	166
Богомолова О.А., Вереникина Е.В. Спектр герминальных мутаций в генах репарации ДНК BRCA1/2 у пациенток юга России с диагностированным раком яичников	169
Болтрушевич М.О. Связь экспрессии генов белков клеточной подвижности с метастазированием плоскоклеточного рака головы и шеи	171
Бондарь Л.Н. Влияние неоадьювантной терапии на количество и фенотип дендритных клеток в структурах плоскоклеточных карцином головы и шеи	173
Боробова Е.А., Антонец Д.В., Старостина Е.В., Орешкова С.Ф., Щербаков Д.Н., Смирнова О.Ю., Бажан С.И., Ильичев А.А., Карпенко Л.И., Даниленко Е.Д., Гамалей С.Г., Усова С.В., Богрянцева М.П. Разработка иммунотерапевтической вакцины против меланомы	175
Брагина М.И., Жукова Г.В. Дозозависимые эффекты наночастиц магнетита при росте карциномы герена	177
Бреус А.А., Франциянц Е.М., Шевченко А.Н., Димитриади С.Н., Швырев Д.А., Погорелова Ю.А., Нескубина И.В., Шалашная Е.В., Филатова Е.В. Особенности экспрессии факторов роста и их рецепторов в тканях почки больных с локальным и генерализованным светлоклеточным раком	178
Бухарова К.А., Красных А.А., Милойчикова И.А., Тургунова Н.Д., Черепенников Ю.М., Хиен Чинь Ван, Стучебров С.Г. Исследование эффективности применения запаянных стерильных катетеров при <i>in vivo</i> термометрии сеансов локальной гипертермии	180
Быкова Е.А., Полуэктова М.В. Тромбоцитозы у больных раком тазовой локализации	183
Васильченко Н.Г., Потемкин Д.С., Франциянц Е.М., Розенко Л.Я., Водолажский Д.И. Усиление эффекта 5-фторурацила при сочетанном использовании с ультразвуком на культуре клеток линии HeLa	185
Вернадский Р.Ю., Зельчан Р.В. Первый опыт клинического использования радиофармпрепарата ^{99m} Tc-1-тио-D-глюкозы в диагностике рака молочной железы	187
Вон Ю.Д., Гончарова О.А. Факторы риска рака молочной железы у пациенток с мастопатией и снижение риска с помощью патогенетической лекарственной терапии	190
Гаркуша В.М., Кондауров А.Г., Шефер Н.А. Периоперационная профилактика респираторных осложнений у онкопульмонологических пациентов	193
Гелбутовская С.М., Минько Б.А., Винокуров В.Л., Чам К.Г. Алгоритм ультразвукового исследования в мультипараметрической ультразвуковой диагностике рака тела матки	195
Гелетина Н.С., Кобелев В.С. Определение экспрессии микрорнк-21, 181a, 214, 301a, 1908, регулирующих экспрессию PTEN, в опухолях эндометрия	196
Гельм Ю.В., Пасова И.А., Абакушина Е.В. Активация лимфоцитов <i>in vitro</i> для иммунотерапии онкологических больных	198
Гималова Г.Ф., Карунас А.С. Исследование гена TP53 у больных с мелкоклеточным раком легкого из республики Башкортостан	200

Гольдберг А.В., Белевич Ю.В. Оценка лимфогенного метастазирования у больных раком гортани и гортаноглотки при использовании радиоизотопных методов исследования	202
Горбунов А.К., Спирина Л.В., Усынин Е.А. Роль транскрипционного фактора Brg-3α в развитии рака предстательной железы	204
Грива Р.А., Храмов С.А. Сексуальная функция у больных ДГПЖ на фоне консервативной терапии	206
Грива Р.А., Храмов С.А. Ультразвуковые критерии эффективности лечения доброкачественной гиперплазии предстательной железы	207
Грива Р.А., Храмов С.А. Длительность консервативной терапии у пациентов с ДГПЖ	209
Григорьева А.А., Красных А.А., Милойчикова И.А., Черепенников Ю.М., Стучебров С.Г. Формирование дозного поля электронного пучка с помощью пластикового компенсатора	210
Гузарь Я.Р. Стратификация данных витального анамнеза пациентов с колоректальным раком	212
Дерюшева И.В., Цыганов М.М., Родионов Е.О., Ибрагимова М.К. Экспрессия МРНК генов химиочувствительности как индикатор эффекта неoadъювантной химиотерапии при немелкоклеточном раке легкого	214
Дмитриев А.А., Новаковский Р.О. Биоинформатический анализ данных ЕСПФ с целью поиска маркеров CIMP+ эпителиальных опухолей	216
Дроздов Е.С. Кистозные образования поджелудочной железы: значение ультразвуковой эластографии в дифференциальной диагностике	218
Дронова Т.А., Паталяк С.В. Анализ взаимосвязи компонентов TGF-β1 сигнального пути и внутриклеточных белков AKT(P473), PTEN с эффективностью терапии тамоксифеном у больных люминальным раком молочной железы	221
Дубровская Н.С., Чернова О.Н., Важенин А.В., Васильев В.С. Первые результаты в определении роли магнитно-резонансной маммографии с динамическим контрастированием до и после липофилинга	222
Елисеева Н.В. Клинические особенности первичной открытоугольной глаукомы	224
Енин Я.С., Кит О.И., Водолажский Д.И. Детекция мутаций в гене KRAS методом DIGITAL DROPLET PCR при аденокарциноме толстой кишки	225
Ермакова А.А., Бородин О.Ю., Санников М.Ю., Усов В.Ю. Дифференциальная диагностика продолженного роста глиом при контрастной МРТ	226
Ефимова И.Ю., Водолажский Д.И. Герминальные мутации в гене APC при классической форме аденоматозного полипоза	228
Зинченко С.В., Иванов А.И. Опыт применения ФДТ у пациента с местнораспространенным синхронным плоскоклеточным раком пищевода и верхнедолевого бронха	230
Зудерман Н.Е., Горошинская И.А., Ушакова Н.Д., Шатохина О.Н. Селективный плазмообмен в лечении множественной миеломы	232
Зуйков С.А. Свободно-радикальное окисление у онкологических больных	234
Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Дерюшева И.В., Казанцева П.В. Значение экспрессии генов сомато-стволового перехода в прогрессировании рака молочной железы	236
Казанцева П.В., Слонимская Е.М., Литвяков Н.В., Ибрагимова М.К., Цыганов М.М. Предсказательная и прогностическая значимость метастатических клонов у больных люминальным В раком молочной железы	238
Каймакчи Д.О., Милакин А.Г. Особенности фармакокинетики 5-фторурацила и препарата платины при экспериментальной внутритканевой химиотерапии	240
Карпов А.А., Ерыгин Д.В. Термохимиолучевая терапия в неoadъювантном лечении местнораспространенного рака прямой кишки	241
Каюкова Е.В., Белокрынская Т.Е., Шолохов Л.Ф., Терешков П.П. Изучение атипического метаболизма клеток рака шейки матки в эксперименте	243
Кишкина А.Ю. Структурные варианты МС у больных раком эндометрия	245
Климентова Е.А., Гилязова И.Р. Исследование профилей экспрессии генов микрорнк у пациентов с метастатическим светлоклеточным раком почки	247
Козюк О.В., Лысенко И.Б., Пушкарёва Т.Ф., Капуза Е.А., Николаева Н.В., Шатохина О.Н., Сычева Е.А., Пак Е.Е., Дмитриева В.В., Новоселова К.А. Кардиотоксичность химиотерапии у пациентов со злокачественными лимфопролиферативными заболеваниями	250
Колегова Е.С., Костромицкий Д.Н. Роль белков клеточной адгезии и подвижности в прогрессировании немелкоклеточного рака легкого	252

Коршунов Д.А., Сиденко Е.А. Активность протеасом и кальпаинов при предопухолевых и опухолевых заболеваниях гортани	254
Крахмаль Н.В., Васильченко Д.В. Изучение экспрессионного профиля факторов транскрипции при раке молочной железы	256
Кудрявцев Д.Д., Аникина Е.Н. Неоадьювантная химиолучевая терапия в лечении местнораспространенного рака желудка: непосредственные результаты II фазы клинического исследования	258
Кузовкова А.А., Сударкина А.В. Использование метода компьютерной томографии для диагностики и оценки динамики экстранодальных изменений в легких при лимфомах	260
Кутилин Д.С., Водолажский Д.И., Могушкова Х.А., Кит О.И. Влияние противоопухолевых антибиотиков антрациклинового ряда на транскрипцию раково-тестикулярных антигенов в модельном эксперименте на клеточной линии HeLa	261
Лабазанова П.Г. Маммографическая плотность и риск рака молочной железы	264
Ларионова И.В. Анализ влияния цисплатина на экспрессионный и секреторный профиль модельных опухоляссоциированных макрофагов	265
Листвягова Н.А. Экспрессия ММП-2 в кардиомиоцитах крыс в динамике развития антрациклиновой кардиомиопатии	267
Лушников Н.А. Возможности предоперационной таргетной терапии в лечении костных метастазов рака почки	270
Льянова А.А., Владимиров Л.Ю. Роль факторов неоангиогенеза в терапии EGFR-блокаторами у больных плоскоклеточным раком языка и слизистой оболочки полости рта	272
Ляпунова Л.С., Алифанов В.В. Характер распределения лимфоцитов в микроокружении инвазивной карциномы молочной железы с учетом ее морфологической гетерогенности	273
Маркович В.А., Тузиков С.А. Комбинированное лечение диссеминированного рака желудка	275
Масри А.А., Сухотько А.С., Дуадзе И.С., Евтягина Н.В. Корректирующий липофилинг у больных раком молочной железы после комбинированного и комплексного лечения. опыт МНИОИ им. П.А. Герцена	276
Мельникова Н.В., Дмитриев А.А. Роль метилирования промотора в инактивации гена aLDH1L1 при раке молочной железы	279
Милакин А.Г., Каймакчи Д.О. Некоторые характеристики первично-множественного рака: колоректальный рак в сочетании со злокачественными опухолями различных локализаций	281
Мушкарин Т.Ю., Кузьмина Е.Г., Константинова Т.В., Павлов В.В., Шахтарина С.В. Величина минимальной остаточной болезни как критерий ответа на лечение, эффективности лечения и прогноза В-клеточного хронического лимфолейкоза /неходжкинской лимфомы	285
Омельчук Е.П., Владимиров Л.Ю. Определение мутационного статуса гена <i>egfr</i> в плазме крови при раке легкого у пациентов юга России	287
Орлов Д.С., Носарева О.Л. Митохондриальный и рецептор-зависимый сигнальные пути активации апоптоза опухолевых клеток линии Р19 при гипоксии	289
Очиров М.О. Повышение эффективности интраоперационной визуализации сторожевых лимфатических узлов при раке эндометрия	290
Панова И.Е., Власова О.С., Гюнтнер Е.И., Ворошина Н.В., Павленко Е.С. Наиболее значимые факторы риска метастазирования у больных увеальной меланомой	293
Патышева М.Р. Предсказательная ценность особенностей моноцитов периферической крови при раке молочной железы	294
Перепечай Я.И. Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов больных раком прямой кишки	296
Прудникова Я.И., Кручинина М.В., Курилович С.А., Шашков М.В., Соколова А.С., Войццкий В.Е., Рягузов М.Е., Хадагаев И.Б. Сопоставление электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов с липидным профилем их мембран и сыворотки крови у пациентов с колоректальным раком	298
Путеев И.П., Авдеев С.В., Добродеев А.Ю. Высокочастотная искусственная вентиляция лёгких с использованием бронхолитика тиотропия бромид при проведении торакальных операций у больных раком лёгкого с хронической обструктивной болезнью легких	299
Пушкин А.А., Кит О.И. Клиническая значимость паттернов экспрессии генов в глиобластомах	301
Родионов Е.О., Цыганов М.М., Ефтеев Л.А., Дерюшева И.В., Миллер С.В., Литвяков Н.В. Отдаленные результаты комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого III стадии с предоперационной химиотерапией и персонализированным назначением адьювантной химиотерапии	303

Романов В.А., Беспалов В.Г. Поиск эффективных противоопухолевых препаратов для лечения канцероматоза брюшной полости на модели диссеминированного рака яичника	305
Русскова Т.В. Анализ корреляционной связи тропосферного содержания диоксида азота с онкопатологией и болезнями органов дыхания населения западной сибери	307
Самойленко Н.С., Бондаренко Е.С., Егоров Г.Ю., Каймакчи Д.О., Полуэктов С.И., Милакин А.Г., Власов С.Г. Особенности локального клеточного иммунитета при раке желудка	310
Санников М.Ю., Ермакова А.А., Бородин О.Ю. Дифференциальная диагностика очаговых образований печени с помощью магнитно-резонансной томографии	312
Сапожников П.А., Афанасьева Н.Г., Важенина Д.А., Зотова А.С., Субботин А.С., М.С. Чиркова А.С., Калантаев Д.Б., Богатенков К.А. ПЭТ/КТ исследование в диагностике периферических образований лёгкого	313
Сергиенко А.Д., Смирнова Т.Ю. Промежуточные результаты коррекции нутритивной недостаточности у больных со злокачественными опухолями пищевода и желудка	314
Сиденко Е.А. Роль транскрипционного фактора brn-3a в развитии злокачественных новообразований	316
Ситников П.К., Табакаев С.А. Реконструкции пострезекционных дефектов на хирургическом этапе лечения больных опухолями костей	317
Смоленов Е.И. Сравнительный анализ видеоассистированных и плоскостных резекций легких при метастазэктомиях	320
Снежкина А.В. Мутации в генах sdhx при каротидных паранглиомах	321
Старикова Д.И. Клиническая характеристика пациентов с первичной открытоугольной глаукомой	323
Стародубцева Д.А. Терморadiотерапия в комбинированном лечении больных раком прямой кишки	325
Сударкина А.В. Оценка значений измеряемого коэффициента диффузии при медиастинальной лимфаденопатии доброкачественного и злокачественного генеза	326
Сухих Е.С., Шейно И.Н. Радиобиологическая оценка для SBRT рака предстательной железы в зависимости от режима фракционирования	328
Табакаев С.А., Ситников П.К. Компьютерная томография в оценке остеорегенерации у больных с опухолевым поражением костей после хирургического лечения	330
Таскаева Ю.С., Бгатова Н.П. Аутофагия в клетках гепатоцеллюлярной карциномы, индуцированная литием	331
Трегубова А.В., Сухотько А.С., Масри А.А. Необходимость выполнения профилактической мастэктомии у больных с генетически обусловленным раком молочной железы	333
Трусов А.А., Костромицкий Д.Н. Функционирование внутриклеточных протеиназ при прогрессировании немелкоклеточного рака легкого	335
Тугутова Е.А., Князькова А.И., Цыденова А.А. Двухфотонная микроскопия экзосом плазмы крови в диагностике и прогнозе колоректального рака	337
Устинова Т.В., Болотина Л.В., Алексеев Б.Я., Харченко Н.В., Ньюшко К.М., Пайчадзе А.А. Адьювантная и неoadьювантная химиогормонотерапия у больных с наличием метастазов в лимфатических узлах и олигометастазов в костях скелета при раке предстательной железы высокого риска прогрессирования. собственный опыт	340
Фальтин В.В., Авдеев С.В., Афанасьев С.Г., Шалыгина К.В., Путеев И.П. Состояние гемостаза при использовании комбинированной анестезии ксенонотом и дексметомидином	342
Федорова М.С., Лукьянова Е., Краснов Г.С., Снежкина А.В., Харитонов С.Л., Пудова Е.А., Черниченко М.А., Сидоров Д.В., Киселева М.В., Каприн А.Д., Кудрявцева А.В. CIMP-фенотип колоректального рака ассоциирован с мутационным статусом генов BRAF, RNF43, ARID1A, MUC6, TP53, APC	343
Хандогин Н.В., Юрин Р.И., Мамонтов О.Ю., Левченко Н.Е., Слугин Е.Н. Оценка эффективности минимально инвазивных операций как этапа комплексного лечения рака пищевода	345
Харин Л.В., Карнаухов Н.С., Золотарева Е.И., Волошин М.В. Белки стволовых клеток Musashi в канцерогенезе и метастазировании солидных опухолей	348
Цыганов М.М., Перминова Е.Е., Дерюшева И.В., Ибрагимова М.К., Казанцева П.В. Экспрессия гена BRCA1 в опухоли молочной железы: связь с эффектом неoadьювантной химиотерапии и прогнозом заболевания	350
Черниченко М.А., Сидоров Д.В. Послеоперационные осложнения после комбинированного и хирургического лечения больных раком нижнеампулярного отдела прямой кишки	352

Четыркина М.Р., Калюжный С.А. Оценка стабильности молекулярного фенотипа клеток эпителиальных опухолей при адаптации к росту <i>in vitro</i>	353
Чумаченко А.И., Виноградова Ю.Н. Лучевая терапия злокачественных опухолей органа зрения ..	355
Шахристова Е.В., Степовая Е.А. Система тиоредоксина в росковитинопосредованном снижении пролиферации опухолевых клеток линии mCF-7	357
Шестаков А.В. Метформин: новые перспективы в химиопрофилактике и терапии рака	358
Шиянова А.А., Кульбакин Д.Е., Чойнзонов Е.Л. Анализ осложнений при реконструктивно-пластических операциях у больных опухолями головы и шеи	360
Шкурупий М.С., Гавриков Б.М., Исмаилова А.А., Красных А.А., Милойчикова И.А., Черепенников Ю.М., Стучебров С.Г. Калибровка дозиметрической пленки gafchromic EBT3 на клинических ускорителях электронов	362
Шогенов А.С., Туркин И.Н. Опыт хирургического лечения бронхопульмональных карциноидов	364
Шубин В.П., Шелыгин Ю.А. ДНК-диагностика наследственных форм рака толстой кишки	366
Шульгина О.Г., Златник Е.Ю. Сравнительная оценка уровня цок при эпителиальных опухолях различных локализаций	368
Юнина Д.В., Заборовский А.В. Острая токсичность конъюгата проспидина с фосфатом декстрана	370
Юсупова Л.Ф., Нургалиева А.Х., Мунасыпов Ф.Р., Хуснутдинов Ш.М., Сакаева Д.Д., Хуснутдинова Э.К. Молекулярно-генетическое исследование рака желудка в республике Башкортостан	372

ПСИХИАТРИЯ И НАРКОЛОГИЯ

Белокрылов И.И. Особенности родительских семей школьников с атарактической мотивировкой употребления психоактивных веществ	375
Варламова А.Г. Особенности нейрогенеза у пациентов с болезнью Альцгеймера	377
Васильченко К.Ф. Социальное функционирование и адаптация пациентов с первым психотическим эпизодом. внутренняя стигма и социально-психологические факторы	379
Высочков В.С. Перспективы исследования влияния социальной депривации на психологические особенности детей, проходящих лечение в противотуберкулёзном стационаре	382
Вялова Н.М. Роль генов киназных сигнальных путей в патогенезе депрессивных расстройств и ответе на антидепрессивную терапию	384
Галкин С.А. Электрофизиологические параметры у лиц с аддитивными расстройствами в условиях ольфакторной стимуляции	387
Гончарова А.А. Поиск факторов риска акатизии у пациентов с шизофренией	388
Давыдов А.А. Когнитивно-стилистические предпосылки суицидального поведения	390
Дмитриева Е.Г. Преморбидные особенности больных шизофренией, понижающие приверженность медикаментозной терапии	392
Дмитриева Е.М., Серегин А.А., Летова А.А., Дубровская В.В. Различия в протеоме сыворотки крови больных шизофренией и здоровых лиц	394
Дубровская В.В. Мониторинг жировой компоненты состава тела у пациентов с шизофренией в процессе антипсихотической терапии	396
Егорова М.В., Черенева Е.А. Влияние материнской привязанности на формирование психического здоровья у детей с психическим недоразвитием	397
Ельчиных Е.Н. Реабилитационный потенциал больных с хронической соматической патологией	399
Еникеева Р.Ф., Казанцева А.В., Романова А.Р., Малых С.Б., Хуснутдинова Э.К. Анализ ассоциаций полиморфного локуса <i>rs1387923</i> гена <i>NTRK2</i> с фенотипическими вариациями математической тревожности	402
Епимахова Е.В., Лосенков И.С., Плотников Е.В. Влияние органических солей лития на цитопротекцию и окислительный стресс мононуклеаров периферической крови больных алкоголизмом	403
Ермаков Е.А. РНК-гидролизующие антитела как новый маркер иммунологических нарушений при шизофрении	405
Кадачегоев А.С. Нарушение углеводного обмена у больных параноидной шизофренией	407
Коптеев И.Н. Репертуар невербального поведения пациентов с деменцией альцгеймерского типа	409

Летова А.А., Серегин А.А., Дмитриева Е.М. Особенности протеома сыворотки крови пациентов с расстройством адаптации	411
Лосенков И.С., Пожидаетов И.В., Османова Д.З. Ассоциация полиморфизмов гена транспортера дофамина <i>SLC6A3</i> с ответом на антидепрессивную терапию и ремиссией у больных депрессивными расстройствами	413
Максимова И.В. Когнитивные расстройства у пациентов, перенесших судорожный припадок, страдающих алкогольной зависимостью	416
Меднова И.А., Ермаков Е.А., Лемешко П.Д., Синянский Л.Е. Изучение каталазной активности поздних антител больных шизофренией	418
Миронова Ю.С., Бойко А.С., Жукова И.А., Латыпова А.В., Ижболдина О.П. Ассоциация полиморфных вариантов генов <i>gRIN2A</i> и <i>SLC1A2</i> с леводопа-индуцированными дискинезиями при болезни паркинсона	420
Обуховская В.Б. Особенности психологической безопасности пациентов с неврологической патологией	422
Паршукова Д.А., Дубровская В.С. ОБМ-гидролизующая активность иммуноглобулинов при шизофрении	424
Пешковская А.Г. Коренная Сибирь и проблема алкоголя: клинические особенности и последствия алкогольной зависимости среди тувинского этноса	426
Пожидаетов И.В., Гирс Л. Исследование гена <i>ABCB1</i> как потенциального маркера гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией	428
Полтавская Е.Г. Изучение ассоциаций полиморфных вариантов генов <i>PIP5K2A</i> и <i>DPP6</i> с типом течения шизофрении	430
Приводнова Е.Ю., Вольф Н.В. Вовлечение исполнительных и селективных процессов у молодых и пожилых испытуемых во время решения вербальной дивергентной задачи	433
Рощина О.В., Розин А.И., Белокрылов И.И. Клинико-патодинамические особенности аффективных расстройств, коморбидных с психическими и поведенческими расстройствами, связанными с употреблением алкоголя	435
Савочкина Д.Н., Полтавская Е.Г. Изучение ассоциации полиморфного варианта RS10121864 гена <i>PRDM12</i> с болевой чувствительностью у лиц с зависимостью от ПАВ	437
Серегин А.А., Дмитриева Е.М., Летова А.А. Поиск потенциальных биомаркеров биполярного аффективного расстройства	440
Сидорова В.В. Психосоматические основы осложнений при хроническом употреблении алкоголя с позиции теорий восточной медицины	441
Тигунцев В.В. Ассоциация полиморфных вариантов генов моноаминоксидазы с клинической картиной шизофрении	443
Юков О.С. Анализ взаимосвязи некоторых особенностей начала употребления новых потенциально опасных психоактивных веществ и развития манифестного приступа шизофрении, спровоцированного их приемом	446

ФАРМАКОЛОГИЯ И РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА

Антосюк О.Н., Горская А.В. Оценка мутагенности цитостатиков на примере <i>Drosophila melanogaster</i>	449
Бондаренко Н.А., Лыков А.П., Повещенко О.В., Кабаков А.В., Суровцева М.А., Ким И.И., Казаков О.В., Повещенко А.Ф. Эффективность применения мезенхимальных стволовых клеток и эритропозтина в модели ишемии нижних конечностей	450
Быкова А.В., Мотов В.С., Быков В.В. Влияние производного пара-ментанового ряда при экспериментальной модели тремора, вызванной ареколином	452
Волкова Е.В., Лазовая О.С., Никитина И.Л. Изучение спектра психотропной активности тиазан-содержащих фенацилтриазолой бромидов	454
Гостюхина А.А., Гутор С.С., Межеричский С.А. Коррекция нарушений при длительном воздействии повышенных уровней общей вибрации и шума с помощью имплантации биоинженерных конструкций (экспериментальное исследование)	455
Жарикова Г.В., Брюханов В.М. Изучение биосинтетической активности нефроцитов при длительном введении пептидного экстракта из тканей свиных почек в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза	458
Жукова М.А., Пан Э.С., Крупин В.А. Блокада D2 дофаминовых рецепторов – новый подход к регуляции эндотелиальных прогениторных клеток и Notch1 сигналинга при эмфиземе легких	460

Камалова С.И., Григорьева В.А. Эффективность антиоксидантов фенольной природы в терапии мужской infertility	462
Кириленко К.М., Федорова Е.П., Рыбалкина О.Ю. Изучение влияния экстракта плодов рябины черноплодной (<i>aronia melanocarpa (michx.) elliot</i>) на развитие доксорубин-индуцированного анемического синдрома	464
Клюшова Л.С. Метод оценки клеточного стресса для скрининга потенциально токсичных соединений	466
Корбут А.И., Климонтов В.В., Бгатова Н.П., Орлов Н.Б., Лыков А.П. Эмпаглитозин и линаглиптин уменьшают структурные изменения клубочков почек в модели сахарного диабета 2 типа	468
Котловская Л.Ю., Соловьев М.А., Удуд А.В., Тимофеев М.С. Состояние гемостатического потенциала у пациентов с артериальной гипертензией 1–2 степени	470
Кудряшова А.И., Ермакова Н.Н. Эффекты и механизм действия пегилированной формы глюкагон-подобного пептида 1 в условиях диабета 1 типа	472
Кульпин П.В. Влияние спиртового экстракта из перикарпия <i>Garcinia mangostana L.</i> на эмоциональную реакцию мышей	474
Лигачёва А.А., Кривощёков С.В., Ровкина К.И. NO-стимулирующее действие биологически активных веществ, выделенных из травы люцерны посевной (<i>Medicago sativa</i>)	476
Малащук А.Д., Щелчкова Н.А., Логинов П.А., Самсонова К.И., Жученко М.А. Антигипоксический эффект агониста негематопозитической формы рецептора EPO (EPO-βCR) при терапии локальной ишемии головного мозга крыс	479
Мойеева А.В., Гостюхина А.А. Коррекция аллоксанового диабета с помощью введения клеток костного мозга (экспериментальное исследование)	481
Мотов В.С., Быкова А.В., Быков В.В. Анальгетическая активность производного аминогуанидина при экспериментальной модели висцеральной боли	483
Низин П.Ю., Блинова Е.В., Гераськина М.М., Семелева Е.В., Громова И.В. К вопросу о профилактике неврологических расстройств при нарушении кровоснабжения головного мозга крыс в эксперименте	484
Озерская А.В., Бадрин Е.А., Белугин К.В., Чанчикова Н.Г., Токарев Н.А., Кичкайло А.С., Семичев Е.В., Баранкина Т.А., Баранкин Б.В., Якименко О.Н. Перспективы использования радиофармпрепаратов на основе аптамеров	486
Просекин Г.А. Гемостимулирующие эффекты ингибитора C-JUN N-TERMINAL KINASE (JNK) при цитостатической миелосупрессии и механизмы их развития	488
Просекина Е.А. Повышение эффективности доксорубина за счёт электропорации мембран опухолевых клеток импульсно-периодическим микроволновым излучением	489
Пчелин П.В., Глявина М.М., Щелчкова Н.А., Мухина И.В. Влияние активации гетеродимерного рецептора к эритропоэтину агонистом CdEPO на биоэнергетическую функцию митохондрий головного мозга в реперфузионном периоде у мышей линии C57BL/6	491
Сафонова Е.А., Киселева Е.А., Машанова В.А. Корректорные свойства полисахаридов <i>Tussilago farfara L.</i> в условиях полихимиотерапии	493
Федорова Е.П., Неупокоева О.В., Ермолаева Л.А., Филонова М.В., Чуринов А.А. Гематотоксическое действие паклитаксела в отдаленные сроки после его введения мышам линии CBA	495
Хабалова Т.С., Кащенко Э.А. Влияние трансплантации мезенхимальных стромальных клеток (МСК) и ими продуцируемых микровезикул (MV) на содержание Т-клеток памяти и Т-регуляторных клеток в модели острой почечной недостаточности мышей (ОПН)	496
Шаманаев А.Ю. Влияние курсового введения пентоксифиллина на гемореологические параметры, микроциркуляцию и микроваскуляризацию коры головного мозга у спонтанно гипертензивных крыс в период развития артериальной гипертензии	500
Щелчкова Н.А., Белоусова И.И., Лапшин Р.Д., Мухина И.В. Влияние активации гетеродимерного рецептора к эритропоэтину на выживаемость и функциональное состояние головного мозга крыс разного возраста в условиях тотальной ишемии	503
Юнина Д.В., Заборовский А.В., Пятаев Н.А., Тарарина Л.А., Щукин С.А., Громова Е.В., Гуревич К.Г., Кокорев А.В., Кладиев А.А., Бычковский П.П., Ревтович М.Ю. Острая токсичность конъюгата проспидина с фосфатом декстрана	505

КОНФОКАЛЬНЫЕ ЛАЗЕРНЫЕ СКАНИРУЮЩИЕ МИКРОСКОПЫ LEICA

Leica
MICROSYSTEMS

- **Микроскоп Leica DMI8.**
Модульная платформа
конфокальных микроскопов Leica.
- **Белый лазер (WLL – White Light Laser).**
Полная спектральная свобода выбора
источника освещения образца и подбора спектра
активации любого флуорохрома.
- **Модуль Lightsheet.**
Реализация технологии Lightsheet от Leica
позволяет комбинировать эту методику
с конфокальным микроскопом.
- **Модуль суперразрешения STED.**
Уникальная технология получения
разрешения за пределами
дифракционных ограничений.
- **LIGHTNING – прорыв в микроскопии
высокого разрешения и деконволюции.**
Комбинация гибридных детекторов,
программного обеспечения
и компьютерной периферии.



Официальный дистрибьютор Leica Microsystems в России — компания «БиоЛайн»



ООО «БиоЛайн»
Россия, 197101,
Санкт-Петербург
Пинский пер., д. 3, Лит. А
тел.: +7 (812) 320 49 49
факс: +7 (812) 320 49 40
e-mail: main@bioline.ru
www.bioline.ru

Москва, тел.: +7 (800) 555 49 40
Новосибирск, тел.: +7 (383) 227 09 63
Екатеринбург, тел.: +7 (343) 287 32 49
Владивосток, тел.: +7 (423) 201 18 08
Нижний Новгород, тел.: +7 (831) 278 61 47
Ростов-на-Дону, тел.: +7 (863) 268 99 32
Казань, тел.: +7 (843) 570 66 88
Самара: +7 (846) 246-06-54

Единый бесплатный
номер сервисной
службы для всех
регионов России:

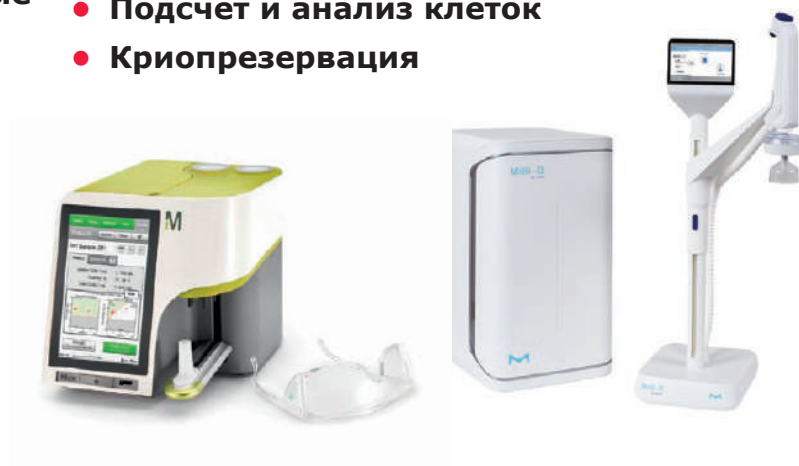
8 800 333 00 49

КОМПЛЕКСНЫЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ КЛЕТОЧНОГО АНАЛИЗА



- Клеточные линии и первичные клетки
- Среда классические и специальные
- Стерилизующая фильтрация

- Биохимические реагенты
- Системы очистки воды
- Подсчет и анализ клеток
- Криопрезервация



Широкий выбор и высочайшее качество клеточных линий нашего партнера – Европейской коллекции клеточных культур (ECACC):

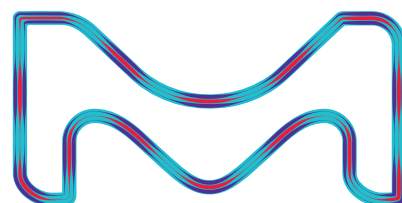
- 4000 клеточных линий животных и человека;
- Клетки 45 видов животных и 50 типов тканей;
- 370 эталонных В-лимфобластных клеточных линий с данными о типе лейкоцитарного антигена человека (HLA);
- 480 гибридомных клеточных линий, секретирующих моноклональные антитела;
- ДНК, РНК, кДНК, экстрагированные из клеточных линий коллекции;

SIGMAaldrich.com/ECACC

ООО «Мерк»

115054, г. Москва, ул. Валовая, д. 35, Тел.: +7 (495) 937-33-04
E-mail: mm.russia@merckgroup.com, ruorder@sial.com

SIGMAaldrich.com/cellculture
MERCKmillipore.com/cellculture



EXPERIENCE WOW CYTOMETRY



Представляем цитометр с акустической фокусировкой Attune NxT для прорывных исследований

Цитометр Attune™ NxT с акустической фокусировкой, 4 лазерами и 14 цветами на выбор, позволяет получить множество данных при компактном размере и разумной цене. Конструкция цитометра Attune NxT дает начинающим пользователям возможность интуитивного управления, обладая при этом достаточной мощностью для передовых исследований. Теперь вы можете получить все одновременно.

Найдите проточный цитометр своей мечты:
lifetechnologies.com/attune

ThermoFisher
SCIENTIFIC



SkyGen

ПРОДУКЦИЯ:

- химические реактивы со склада и на заказ по каталогам;
- лабораторное оборудование;
- аналитические приборы, хроматография;
- биохимия;
- собственное производство органических растворителей различной степени очистки для использования в химическом производстве, в лабораторной практике, растворителей высокой степени очистки для хроматографии;
- химикаты и оборудование для микроэлектроники.

НАШИ ПОСТАВЩИКИ:



Компания «Химмед» успешно работает более 25 лет. Собственная сеть логистики компании позволяет без временных затрат осуществлять регулярные поставки грузов между складом в Германии и складами в Москве и Подмосковье.

Инновации и новейшие технологии в области биохимии и биотехнологии – предмет особого внимания для наших специалистов. Именно поэтому мы сможем обеспечить научные исследования любого уровня материалами, использование которых обеспечит максимально эффективный результат.

Сотрудники компании с готовностью ответят на все интересующие вас вопросы и помогут сориентироваться во всем многообразии биохимической продукции от российских и зарубежных производителей.

Давние и взаимовыгодные отношения, сложившиеся с нашими партнерами, делают возможным формирование конкурентоспособных цен для клиентов компании «Химмед».

Среди наших поставщиков: R&D, Merck, Neogen, Cayman, DUCHEFA BIOCHEMIE, BioWest и многие другие.

Москва, 115230, Каширское шоссе, д. 9, корп. 3.
Тел.: +7 (495) 728 4192, факс: 742 8341, e-mail: mail@chimmed.ru
Новосибирск, 630090, просп. Академика Лаврентьева, 6/1.
Тел./факс: +7 (383) 335 6108, e-mail: sibir@chimmed.ru



ПРОИЗВОДСТВО РЕАГЕНТОВ И НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ И МЕДИЦИНСКОЙ БИОЛОГИИ



ООО "БИОСАН" и ООО "БИОЛАБМИКС"

Резиденты Технопарка Новосибирского Академгородка



Научно-производственные компании Биосан и Биолабмикс - это высокотехнологичные предприятия, более 25 лет поставляющие свою продукцию крупнейшим производителям медицинских диагностических наборов и научно-исследовательским организациям в России и за рубежом с широкой географией: страны СНГ, США, Германия, Италия, Финляндия, Эстония, Чехия, Иран.

Миссия компаний - создание отечественной реагентной базы для проведения фундаментальных и прикладных исследований в области молекулярной и медицинской биологии.

ООО "Биосан" производит по собственным технологиям стандартные и модифицированные рибо- и дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, маркеры молекулярных весов ДНК, праймеры и зонды для ПЦР, олигонуклеотиды, иммунобиохимические препараты.

В 2010 году был запущен стартап и организовано ООО "Биолабмикс", которое занимается разработкой и выпускает оптимизированные универсальные наборы и готовые реакционные смеси для выявления и анализа нуклеиновых кислот методом ПЦР и ОТ-ПЦР, а также реагенты для выделения ДНК и РНК.

Основные направления:

- готовые реакционные смеси и наборы реагентов для исследовательских задач;
- компоненты диагностических ПЦР-систем;
- научно-образовательные приборы.

Организованы собственные высокотехнологичные участки производства

Система "зонирования" этапов производства и тестирования



Внутренний контроль качества



Области применения:

научно-исследовательские задачи

оценка экспрессии генов, генотипирование, синтез генов, секвенирование ДНК, скрининговые исследования, наработка ДНК для клонирования, мультиплексная ПЦР, обратная транскрипция и ОТ-ПЦР;

медицина, ветеринария, агрогенетика

диагностика заболеваний человека, животных и растений, генотипирование.

Более 100 наименований компонентов для диагностических тест-систем и исследовательских наборов



Наборы-конструкторы для ПЦР, ОТ-ПЦР и ПЦР в режиме реального времени



Персональные научно-образовательные приборы



TERMIX

TERMIX - это первый российский портативный прибор для проведения ПЦР в режиме реального времени. Он позволяет проводить ПЦР в режиме реального времени на месте проведения исследования, что позволяет значительно сократить время на получение результатов.



Компании создают и обеспечивают внедрение запатентованных технологий в производство.

ООО "Биолабмикс" проводит трансфер разработок ИХБФМ СО РАН в рамках Программы Министерства образования, науки и инновационной политики Новосибирской области.



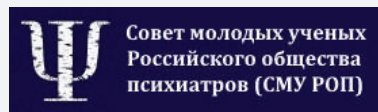
Предприятия "Биосан" и "Биолабмикс" реализуют НИОКР при поддержке Фонда содействия инновациям по программам: Старт, Экспорт и Коммерциализация.



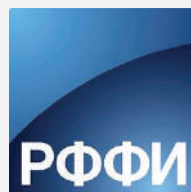
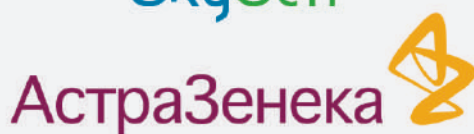
Новосибирск / Novosibirsk

Адрес: 630090, г. Новосибирск, ул. Инженерная, д. 28
Сайты компаний: www.biosan-nsk.ru; www.biolabmix.ru

Партнеры Конгресса:



**Ассоциация онкологических
организаций Сибири**



Проведение Конгресса
поддержано грантом РФФИ
мол_г 18-315-10005

Технический оператор Конгресса:
ООО «Центр организации
делового общения Гринтерра».
634021, г. Томск, пр. Академический, 16
e-mail: greenterra@bk.ru

634009 г. Томск, пер. Кооперативный, 5
тел. канцелярия: 8 (3822) 51-33-06
e-mail: center@tnimc.ru
www.tnimc.ru



ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК