

ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК



АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Сборник материалов Конгресса молодых ученых
19 – 20 ноября 2020 г.



ТОМСКИЙ НИМЦ

ТОМСК

ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Сборник материалов конгресса молодых ученых
19–20 ноября 2020 г.

Издательство Томского университета
2020

ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

УДК: 616
ББК: 5

Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины: сборник материалов конгресса молодых ученых, 19–20 ноября 2020 г. [Электронный ресурс] / под ред. В.А. Степанова, Е.Л. Чойнзонова, С.В. Попова, Н.А. Бохана, В.В. Жданова; Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2020. – 534 с. – URL: http://tnimc.ru/upload/publications/proceedings/2020_young.pdf

ISBN 978-5-7511-2612-4

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. Материалы, вошедшие в сборник, отличаются междисциплинарным характером. В нем представлены научные статьи онкологов, кардиологов, медицинских генетиков, психиатров, фармакологов, радиологов, молекулярных биологов, химиков, физиков и специалистов смежных областей. Для исследователей в области как фундаментальной, так и клинической медицины.

УДК: 616
ББК: 5

Рецензенты:

проф. Н.В. Чердынцева, канд. биол. наук М.А. Булдаков,
д-р мед. наук В.В. Рябов, канд. мед. наук М.А. Киргизова,
проф. Т.П. Ветлугина, проф. Е.Д. Счастный, проф. И.Н. Лебедев,
д-р мед. наук М.С. Назаренко, проф. В.В. Удут, проф. Г.Н. Зюзьков

ISBN 978-5-7511-2612-4

©Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, 2020

©Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 2020

TOMSK NATIONAL RESEARCH MEDICAL CENTER
OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES

PROCEEDINGS
OF THE CONFERENCE OF YOUNG SCIENTISTS

CURRENT ISSUES OF BASIC AND CLINICAL MEDICINE

19–20 NOVEMBER 2020

Publishing house of Tomsk University
2020

TOMSK NATIONAL
RESEARCH MEDICAL CENTER
OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES

UDC: 616
LLC: 5

Current issues in basic and clinical medicine: proceedings of the conference of young scientists, November 19–20, 2020 [Electronic resource] / ed. by V.A. Stepanov, E.L. Choinzonov, S.V. Popov, N.A. Bohan, V.V. Zhdanov; Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences. – Tomsk: Publishing house of Tomsk University, 2020. – 534 p. – URL: http://tnimc.ru/upload/publications/proceedings/2020_young.pdf

ISBN 978-5-7511-2612-4

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.;
M.A. Kirgizova, Ph.D.; prof. T.P. Vetlugina, prof. E.D. Schastnyy,
prof. I.N. Lebedev; M.S. Nazarenko, D.Sc.; prof. V.V. Udut; prof. G.N. Zyuzkov.

ISBN 978-5-7511-2612-4

МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА И ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА

IN SILICO АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА RS1799945 ГЕНА-КАНДИДАТА *HFE*, АССОЦИИРОВАННОГО С РАЗВИТИЕМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

М.Ю. Абрамова, Т.А. Усачева

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Россия

Аннотация

Артериальная гипертензия является самым распространенным заболеванием, а патология сердечно-сосудистой системы уже длительное время возглавляет список причин смертности населения во всем мире. Несмотря на большое количество научных работ, посвященных данной проблеме, этиология эссенциальной артериальной гипертензии неизвестна. Однако в последнее время большую значимость приобрели генетические факторы, а именно вклад отдельных однонуклеотидных полиморфизмов различных генов, кодирующих единые биологические пути, которые вовлечены в развитие АГ. Цель исследования – изучить функциональную роль полиморфизма rs1799945 гена-кандидата *HFE*, ассоциированного с развитием артериальной гипертензии.

Отбор полиморфных локусов был произведен на основе данных каталога полногеномных исследований (GWAS) National Human Genome Research Institute. Оценка функциональной роли проведена с использованием онлайн-программного обеспечения: HaploReg (v4.1), GTEx portal и PolyPhen-2.

В ходе 68 полногеномных исследований, проведенных к настоящему времени, было обнаружено 382 однонуклеотидных полиморфизма, ассоциированных с АГ. Полиморфный локус rs1799945 гена-кандидата *HFE* ассоциирован с развитием АГ в 13 полногеномных исследованиях, из которых в семи рассматривалась его вовлеченность в развитие АГ в европейской популяции. Установлено, что данный SNP находится в области гиперчувствительности к ДНКазе, эволюционно консервативном регионе, в регионе гистонов, маркирующих энхансеры в 8 тканях; является несинонимической заменой (H63D), имеющей предикторный класс «BENIGN». SNP rs1799945 находится в неравновесии по сцеплению с 7 SNPs ($r^2 \geq 0,8$), которые оказывают значимые эпигенетические эффекты (3 SNPs расположены в регионах ДНК, взаимодействующих с 9 регуляторными белками; 3 SNPs находятся – в области гистонов, маркирующих промоторы, и 5 SNPs – в области гистонов, маркирующих энхансеры в различных органах и тканях. Все сцепленные полиморфные локусы расположены в регионах регуляторных мотивов ДНК к факторам транскрипции. Данные SNPs ассоциированы с экспрессией 10 генов в различных органах и тканях, а также 4 SNPs связаны с уровнем альтернативного сплайсинга транскрипта гена *HFE*).

Вывод: полиморфный локус rs1799945 гена *HFE*, являющийся GWAS значимым для АГ, и сцепленные с ним 7 SNPs имеют значимую функциональную роль в организме.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, rs1799945, *HFE*, эпигенетические эффекты, eQTL, sQTL, nsSNP.

IN SILICO ANALYSIS OF THE FUNCTIONAL ROLE OF THE RS1799945 POLYMORPHISM OF THE *HFE* CANDIDATE GENE ASSOCIATED WITH THE DEVELOPMENT OF HYPERTENSION

M.Yu. Abramova, T.A. Usacheva

Federal state Autonomous educational institution of higher education «Belgorod state national research University», Belgorod, Russia

Abstract

Arterial hypertension is the most common disease, and pathology of the cardiovascular system has long been at the top of the list of causes of death in the world. Despite the large number of scientific papers devoted to this problem, the etiology of essential arterial hypertension is unknown. However, recently, genetic factors have become more important, namely the contribution of individual single-nucleotide polymorphisms of different genes encoding common biological pathways that are involved in the development of AH. Objective: to study the functional role of the rs1799945 polymorphism of the *HFE* candidate gene associated with the development of hypertension. The selection of polymorphic loci was made based on data from the national Human Genome Research Institute's (GWAS) catalog of full-genome studies. The functional role was evaluated using online software: HaploReg (v4. 1), GTEx portal, and PolyPhen-2. 382 single-nucleotide polymorphisms associated with AH have been detected in 68 full-genome studies conducted to date. The polymorphic locus, rs1799945 of the *HFE* candidate gene, was associated with the development of AH in 13 full-genomic studies, of which seven examined its involvement in the development of AH in the European population. It was found that this SNP is located in the region of hypersensitivity to DNase, an evolutionarily conservative region, in the region of histones that mark enhancers in 8 tissues; is a missense mutation (H63D) that has the predictor class «BENIGN». SNP rs1799945 is in disequilibrium in coupling with 7 SNPs ($r^2 \geq 0.8$), which have significant epigenetic effects (3 SNPs are located in regions of DNA interacting with 9 regulatory proteins; 3 SNPs are located in the region of histones marking promoters and 5 SNPs in the region of histones marking enhancers in various organs and tissues. All linked polymorphic loci are located in regions of regulatory DNA motifs to transcription factors. These SNPs are associated with the expression of 10 genes in various organs and tissues, and 4 SNPs are associated with the level of alternative splicing of the *HFE* gene transcript). Conclusion: the polymorphic locus rs1799945 of the *HFE* gene, which is GWAS significant for AH, and the associated 7 SNPs have a significant functional role in the body.

Key words: arterial hypertension, rs1799945, *HFE*, epigenetic effects, etl, sql, nsSNP.

Актуальность

Под термином «артериальная гипертензия» (АГ) подразумевают синдром повышения систолического артериального давления (САД) ≥ 140 мм рт. ст. и/или диастолического артериального давления (ДАД) ≥ 90 мм рт. ст. [1]. АГ может являться как самостоятельным заболеванием, так и симптомом других патологических состояний (симптоматические АГ, гипертензивные расстройства при беременности и др.) [2].

АГ является самым распространенным неинфекционным заболеванием во всем мире [3]. Повышение АД опасно своим непосредственным неблагоприятным воздействием на органы-мишени (головной мозг, сердечно-сосудистую систему, почки и др.) [4]. По данным Росстата, на первом месте среди причин смертности в России в 2018 г. были болезни органов кровообращения (ишемическая болезнь сердца – 28,4 % и цереброваскулярные болезни (в том числе инсульт) – 14,4 % всех смертей) [5]. Поэтому вопросы этиологии и патогенеза данного заболевания являются достаточно актуальными. На сегодняшний день большое количество научных работ посвящено изучению молекулярно-генетических механизмов формирования АГ [6]. В особенности оценивается вклад отдельных однонуклеотидных полиморфизмов различных генов, белковые продукты которых участвуют в единых биологических путях [7, 8].

Цель исследования – оценить функциональную значимость полиморфного локуса rs1799945 гена *HFE*, ассоциированного с артериальной гипертензией, по данным полногеномных исследований, в европейской популяции.

Материал и методы

Отбор полиморфного локуса осуществлялся на основе данных каталога полногеномных исследований (GWAS) National Human Genome Research Institute (<http://www.genome.gov/gwastudies/>). Значимым считается уровень $p < 5 \times 10^{-8}$, однако вовлеченность в патогенез данной патологии и уровень значимости SNP могут изменяться в зависимости от популяции. Поэтому одним из основных критериев отбора, кроме ассоциации данного полиморфизма с исследуемым признаком по результатам ранее проведенных полногеномных (GWAS) и / или ассоциативных (в том числе репликативных) исследований, была принадлежность лиц, входящих в исследуемую группу, к европейской популяции. Также были рассмотрены: наличие ассоциации с фенотипами, имеющими с артериальной гипертензией общие биологические пути; регуляторный потенциал (regSNP) и влияние на экспрессию генов (eSNP); связь с несинонимическими заменами (nsSNP), а также функциональные эффекты имеющихся nsSNP; частота встречаемости полиморфных локусов в исследуемой популяции (не менее 5 %); функциональные эффекты (regSNP, eSNP, nsSNP) полиморфизмов, находя-

щихся в неравновесии по сцеплению ($r^2 \geq 0,8$) с отобранными для анализа SNP [9]. Оценка регуляторного потенциала была произведена с использованием онлайн-программного обеспечения HaploReg (v4.1) (<http://archive.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>), GTEx portal (<http://www.gtexportal.org/>), PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping v2) и ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>).

Результаты

Опубликованы результаты 68 научных работ (на момент обращения к GWAS-каталогу. 15.01.2020), посвящённых изучению роли полиморфных локусов при формировании АГ, в каталоге полногеномных исследований (GWAS) National Human Genome Research Institute. В ходе данных исследований было обнаружено 382 однонуклеотидных полиморфизма (SNP), ассоциированных с АГ. В соответствии с целью нашей работы и выдвинутыми выше критериями был отобран полиморфный локус rs1799945 гена *HFE*, ассоциированный с АГ, из каталога GWAS. Данный SNP является значимым для развития АГ в 13 полногеномных исследованиях, из которых в 7 рассматривалась его вовлечённость в развитие АГ в европейской популяции.

Полиморфизм rs1799945 гена *HFE* находится в области гиперчувствительности к ДНКазе, эволюционно консервативном регионе и в области гистоновых модификаций, маркирующих энхансеры в 8 тканях. Также данный полиморфизм является nsSNP, замена цитозина на гуанин в положении 187 приводит к изменению в аминокислотной последовательности гистидина на аспарат в положении 63, результатом которой является модификация пространственной структуры белка *HFE*. Согласно данным PolyPhen-2 эта мутация имеет предикторный класс «BENIGN» (score = 0,142, чувствительность = 0,92; специфичность = 0,86) и определена как патогенная согласно информации из базы данных ClinVar. SNP rs1799945 значимо ассоциирован с экспрессией 9 генов в различных органах и тканях: гена *HFE* в тканях легких ($p=0,00016$), щитовидной железы ($p=1.5e-9$), аорты и артерий ($1.2e-7$), в подкожной жировой клетчатке ($p=3.7e-8$); гена *TRIM38* в тканях щитовидной железы ($p=0,0000014$); гена *BTN2A3P* в тканях подкожной жировой клетчатки ($p=0,00017$); гена *HIST1H3E* в различных отделах головного мозга (гипоталамуса – $p=5.3e-7$, коры лобной доли – $p=0,000056$, хвостатого ядра – $p=0,000036$), в тканях сердца (левого желудочка – $p=2.1e-7$) и матке ($p=0,000033$), а также генов *SLC17A3*, *SLC17A1*, *GUSBP2* в тканях надпочечников. Данный полиморфизм ассоциирован с уровнем альтернативного сплайсинга транскрипта гена *HFE* в культуре клеток фибробластов (ID интрона 6087516:26091314:clu_28359, $p=1.6e-11$).

Установлено 7 SNPs, которые имеют сильное сцепление с rs1799945 ($r^2 \geq 0,8$) и значимый регуляторный потенциал. Выявлено 3 из 7 полиморфизмов, находящихся с ним в неравновесии по сцеплению и расположенных в регионах ДНК, взаимодействующих с 9 регуляторными белками: POL2, OCT2, POU2F2, POL24H8, TAF7, BCL3, BCLAF1, EGR1, HEY1; 3 SNPs и 5 SNPs из 7 сцепленных полиморфизмов находятся в области гистоновых модификаций, маркирующих промоторы и энхансеры в различных органах и тканях соответственно. Все сцепленные полиморфные локусы расположены в регионах регуляторных мотивов ДНК к факторам транскрипции DMRT3, HNF4, Cdx, E2F, AP-2, AIRE, ELF1 и др. Данные SNPs ассоциированы с экспрессией 10 генов в различных органах и тканях, а также 4 SNPs связаны с уровнем альтернативного сплайсинга транскрипта гена *HFE* в культуре клеток фибробластов.

Выводы

Таким образом, полиморфный локус rs1799945 гена *HFE* имеет значимую функциональную роль в организме: находится в области гиперчувствительности к ДНКазе, эволюционно консервативном регионе и в регионе гистоновых меток, маркирующих энхансеры, определяет несинонимическую замену в гене *HFE* (H63D), ассоциирован с экспрессией 9 генов в различных органах и тканях и связан с уровнем альтернативного сплайсинга транскрипта гена *HFE*. Все 7 SNPs, находящихся с ним в неравновесии по сцеплению ($r^2 \geq 0,8$), имеют значимый регуляторный потенциал.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ Российской Федерации (проект НШ-2609.2020.7).

ЛИТЕРАТУРА

1. Чазова И.Е., Жернакова Ю.В. Клинические рекомендации. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Системные гипертензии. 2019; 16 (1): 6–31. doi: 10.26442/2075082X.2019.1.190179.
2. Escande M., Diadema B., Icard M.C., Peyre J.P. Hypertensive emergencies. Ann Cardiol Angeiol (Paris). 2007 Nov; 56(5): 174–82. doi: 10.1016/j.ancard.2007.08.008.

3. Ионов М.В., Звартау Н.Э., Конради А.О. Совместные клинические рекомендации ESH/ESC 2018 по диагностике и ведению пациентов с артериальной гипертензией: первый взгляд. Артериальная гипертензия. 2018; 24(3): 351–358. doi: 10.18705/1607-419X-2018-24-3-351-358.

4. Xhignesse P., Krzesinski F., Krzesinski J.M. Hypertensive crisis. Rev Med Liege. 2018 May; 73(5–6): 326–332.

5. Баранов Э.Ф., Безбородова Т.С., Бобылев С.Н., Бузакова Н.С., Гохберг Л.М., Григорьев Л.М., Егоренко С.Н., Елизаров В.В., Житков В.Б., Иванов Ю.Н., Кевеш А.Л., Косарев А.Е., Лайкам К.Э., Малеев Т.М., Масакова И.Д., Нестеров В.Н., Оксенойт Г.К., Рыбак О.П., Рябушкин Б.Т., Сабельникова М.А., Татаринов А.А., Тузов К.А., Хорошилов А.В. Основные показатели здравоохранения. Российский статистический ежегодник. М., 2018: 212.

6. Polonikov A.V., Ushachev D.V., Ivanov V.P., Churnosov M.I., Freidin M.B., Ataman A.V., Harbuzova V.Y., Bykanova M.A., Bushueva O.Y., Solodilova M.A. Altered erythrocyte membrane protein composition mirrors pleiotropic effects of hypertension susceptibility genes and disease pathogenesis. J. Hypertens. 2015 Nov; 33(11): 2265–77. doi: 10.1097/HJH.0000000000000699.

7. Москаленко М.И., Пономаренко И.В., Полоников А.В., Чурносоев М.И. Полиморфный локус rs652438 гена MMP12 ассоциирован с развитием артериальной гипертензии у женщин. Артериальная гипертензия. 2019; 25(1): 60–65. doi: 10.18705/1607-419X-2019-25-1-60-65.

8. Москаленко М.И., Пономаренко И.В., Полоников А.В., Чурносоев М.И. Полиморфный локус RS11568818 гена MMP7 ассоциирован с развитием артериальной гипертензии у женщин. Российский кардиологический журнал. 2018; (10): 14–17. doi: 10.15829/1560-4071-2018-10-14-17.

9. Пономаренко И.В. Отбор полиморфных локусов для анализа ассоциаций при генетико-эпидемиологических исследованиях. Научный результат. Медицина и фармация. 2018; 4(2): 40–54. doi: 10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-5.

ПОИСК КЛЮЧЕВЫХ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ПРЕЭКЛАМПСИИ С ПОМОЩЬЮ АНАЛИЗА МОДУЛЕЙ КОЭКСПРЕССИИ ПЛАЦЕНТАРНОГО ТРАНСКРИПТОМА

А.А. Бабовская, Е.А. Трифонова, А.А. Зарубин, А.В. Марков, В.А. Степанов

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

Аннотация

До настоящего времени преэклампсия (ПЭ) остается основной причиной материнской и перинатальной заболеваемости и смертности по всему миру. Этиология преэклампсии до конца не установлена, что препятствует проведению профилактики данной патологии среди беременных женщин. Считается, что развитию ПЭ способствует нарушение процессов инвазии трофобласта и реконструкции спиральных артерий при формировании плацентарной ткани, а регуляция экспрессии генов является одним из значимых механизмов развития плацентарной патологии. Анализ дифференциально-экспрессирующихся генов (ДЭГ) широко используется в транскриптомных методах исследования для обнаружения биомаркеров заболеваний, однако такой подход рассматривает гены изолированно, не учитывая их возможные взаимодействия. Генные сети являются актуальным способом представления многих типов биологических данных, включая белок-белковые взаимодействия, с их помощью можно описать гены, вовлеченные в единые биологические пути патологического процесса, а также выделить центральные элементы сетей, имеющие наибольшую функциональную значимость (hub genes) [1].

Ключевые слова: коэкспрессия, транскриптом, плацента, преэклампсия.

THE IDENTIFICATION OF THE PROGNOSTIC GENES OF PREECLAMPSIA USING A COEXPRESSION ANALYSIS OF PLACENTAL TRANSCRIPTOME

A.A. Babovskaya, E.A. Trifonova, A.A. Zarubin, A.V. Markov, V.A. Stepanov

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

Abstract

Preeclampsia (PE) remains the leading cause of maternal and perinatal morbidity and mortality worldwide. The etiology of preeclampsia has not been fully established. Defects in trophoblast invasion and spiral artery remodeling are key factors in PE development. The regulation of gene expression is one of the significant mechanisms to the pathogenesis of placental diseases. Traditional methods of studying gene expression are based on the search of differentially expressed genes in a disease, but this approach considers genes in isolation. Gene networks are an actual way of presenting of biological data, including protein-protein

interactions (PPI), we can describe genes involved in unified biological pathways and identify gene that have the greatest functional significance (hub genes) [1].

Key words: coexpression, transcriptome, placenta, preeclampsia.

Материал и методы

Был проведен полногеномный анализ экспрессии генов плацентарной ткани представителей двух этнических групп (русские (n=24) и якуты (n=23)) на микрочипах Illumina HumanHT-12 v3 Expression BeadChip. Полученные в нашем эксперименте данные по экспрессии были объединены с данными экспериментов, доступных в базе GEO [2] (GSE25906, GSE30186, GSE35574, GSE44711, GSE60438, GSE6573, GSE73374, GSE94643). Всего в эксперимент вошли 53 образца от пациенток с ПЭ и 76 контрольных образцов. Взвешенный сетевой анализ коэкспрессии WGCNA осуществлялся в среде R, функциональную интерпретацию генов проводили в базе DAVID [3], построение сети генных взаимодействий и оценку функциональной значимости генов (score $\geq 0,7$) внутри кластера осуществляли в STRING [4]. Полученная в STRING сеть была импортирована в Cytoscape 3.7.2 с целью обнаружения центральных генов (hub genes) в плагине cytoHubba с использованием алгоритма MCC [5], показавшего наибольшую эффективность при работе с неоднородными биологическими сетями. Коэффициент узла (rank) был получен путем вычисления количества взаимодействий данного гена в сети, расстояния между соседними узлами, а также тенденции белков к образованию кластеров. Центральными для сети принимали гены, имеющие коэффициент узла rank менее 5.

Экспериментальная часть

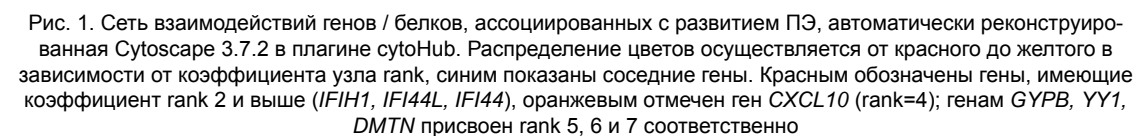
Проанализировав 3 986 генов с помощью WGCNA, был получен 31 кластер коэкспрессирующихся генов среди больных ПЭ, и 34 кластера выделено среди контрольной группы. В последующий анализ вошли 86 генов, образующих 6 кластеров, ассоциированных с заболеванием и не показавших связи с контрольной группой. При построении сети белок-белковых взаимодействий в STRING всех 86 генов только четыре гена не вошли в общую сеть, что говорит о высокой степени связи между рассматриваемыми локусами. После импортирования построенной сети в модуль cytoHubb нами были получены четыре гена (*IFIH1*, *IFI44L*, *IFI44*, *CXCL10*), показавшие высокую степень значимости связей в данной сети (рис. 1). Основным центральным геном сети выступает *IFIH1* (rank=1), обеспечивающий сигнальный путь для создания MDA5-белка, который играет важную роль во врожденном иммунитете, а также неспецифическом ответе организма на РНК-патогены. По данным литературы, для одного из вариантов данного гена отмечается протективный эффект в отношении развития артериальной гипертензии у пациенток с СД I [6]. Кроме того, центральными генами сети явились гены белков семейства интерферона *IFI44L*, *IFI44* (rank=2), которые также участвуют в реакциях врожденного иммунитета, стимулируют пролиферацию и дифференцировку клеток лейкоцитарного ряда в костном мозге и селезенке [7]. Дисбаланс в медиаторах иммунной системы приводит к срыву иммуноtolерантности и может выступать одним из факторов развития ПЭ. Ген хемокинового рецептора *CXCL10* также выступил как наиболее функционально активный в сети (rank=4), который участвует в хемоаттракции и пролиферации лимфоидных клеток, а также в процессе ангиогенеза. Известно, что нарушения в ангиогенезе являются одним из патогенетических компонентов ПЭ. Интересно отметить, что все детектированные центральные гены относились к одному кластеру (C4) и согласно STRING отличались высоким коэффициентом корреляции в сети (score $\geq 0,8$).

Внутрикластерный анализ белок-белковых взаимодействий выделил только три из шести кластеров (C1, C4, C5), которые характеризуются высоким коэффициентом корреляции между генами (score $\geq 0,7$). В первый кластер (C1) вошли 12 генов (*RAD21*, *YY1*, *ZFP30*, *GHR*, *LACC1*, *SEPT11*, *SHFM1*, *TMEM161A*, *TMEM258*, *UBQLN3*, *UBE2H*, *ZNF12*). Среди них, по данным GO, гены транскрипционного фактора YY1 и белка TMEM161A участвуют в процессах клеточного ответа на ультрафиолет (p=0,021), и гены YY1, SHFM1 принимают участие в процессах репарации двойных разрывов (p=0,035). Согласно литературным данным, ген транскрипционного фактора YY1 показал ассоциацию с регуляцией активности матриксной металлопротеиназы MMP2, которая участвует в процессах миграции и инвазии трофобласта [8]. Кластер (C4) включает 17 генов, вовлеченных в GO категории, связанные с иммунным ответом как клеточного (*GSTP1*, *CXCL10*, *B2M*, *RGS1*, *CXCL9* (p=+0,005)), так и гуморального типа (*IFI44L*, *IFI44*, *IFIH1*, *CXCL10*, *CXCL9* (p=0,01)). Отмечается участие белков IFIH1, CXCL10 в RIG IR-подобном сигнальном пути; рецепторов CXCL9, CXCL10

Заключение

Используя взвешенный сетевой анализ коэкспрессии генов, были найдены модули коэкспрессии, включающие 86 генов, ассоциированных только с ПЭ. Согласно функциональной аннотации, данные локусы вовлечены в различные клеточные процессы. С помощью алгоритма cytoHub и сети белок-белковых взаимодействий мы выявили новые потенциальные биомаркеры ПЭ, такие как *IFIH1*, *IFI44L*, *IFI44*, *CXCL10*, связанные с процессами иммунного ответа, опухолеобразования и ангиогенеза, функциональная значимость которых должна быть подтверждена экспериментально в последующих исследованиях.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-44-700007).



ЛИТЕРАТУРА

1. Lin M., Lin W., Chen J. The identification of the key genes and pathways in septic shock using an integrated bioinformatics

1. Lin M., Lin W., Chen J. The identification of the key genes and pathways in septic shock using an integrated bioinformatics analysis. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2019; 12(10): 12102–12112.
2. NCBI. Gene Expression Omnibus [Internet]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/> (cited: 29.01.2020).
3. DAVID Bioinformatics Resources [Internet]. URL: <https://david.ncifcrf.gov/> (cited: 29.01.2020).
4. STRING [Internet]. URL: <https://string-db.org/> (cited: 29.01.2020).
5. Chin C.H., Chen S.H., Wu H.H., Ho C.W., Ko M.T., Lin C.Y. cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome. *BMC Syst Biol.* 2014; 8 Suppl 4(Suppl 4): S11. doi: 10.1186/1752-0509-8-S4-S11.
6. Chatterjee P., Weaver L.E., Chiasson V.L., Young K.J., Mitchell B.M. Do double-stranded RNA receptors play a role in preeclampsia? *Placenta*. 2011 Mar; 32(3): 201–5. doi: 10.1016/j.placenta.2010.12.026.
7. Fagerberg L., Hallström B.M., Oksvold P., Kampf C., Djureinovic D., Odeberg J., Habuka M., Tahmasebpour S., Danielsson A., Edlund K., Asplund A., Sjöstedt E., Lundberg E., Sztybel C.A., Skogs M., Takanen J.O., Berling H., Tegel H., Mulder J., Nilsson P., Schwenk J.M., Lindskog C., Danielsson F., Mardinoglu A., Sivertsson A., von Feilitzen K., Forsberg M., Zwahlen M., Olsson I., Navani S., Huss M., Nielsen J., Pontén F., Uhlen M. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Mol Cell Proteomics*. 2014 Feb; 13(2): 397–406. doi: 10.1074/mcp.M113.035600.
8. Tian F.J., Cheng Y.X., Li X.C., Wang F., Qin C.M., Ma X.L., Yang J., Lin Y. The YY1/MMP2 axis promotes trophoblast invasion at the maternal-fetal interface. *J. Pathol.* 2016 May; 239(1): 36–47. doi: 10.1002/path.4694.
9. Van Sinderen M., Cuman C., Winship A., Menkhurst E., Dimitriadis E. The chondroitin sulfate proteoglycan (CSPG4) regulates human trophoblast function. *Placenta*. 2013 Oct; 34(10): 907–12. doi: 10.1016/j.placenta.2013.07.065.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФАКТОРОВ КОАГУЛЯЦИИ *GPIIIA*, *ITAG2*, *F13A1* И ФОРМИРОВАНИЕ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ С СИНДРОМОМ ЗАДЕРЖКИ РОСТА ПЛОДА

О.В. Головченко, Н.А. Рудых

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Россия

Аннотация

Плацентарная недостаточность – это патофизиологический феномен, состоящий из комплекса нарушений трофической, эндокринной и метаболической функций плаценты, ведущих к неспособности ее поддерживать адекватный и достаточный обмен между организмами матери и плода, что приводит к развитию синдрома задержки роста плода (СЗРП). Плацентарная недостаточность с СЗРП имеет мультифакториальную природу. Значимую роль в формировании плацентарной недостаточности с СЗРП играют наследственные тромбофилии. Целью работы явилось изучение роли полиморфизма генов факторов коагуляции rs5918 *GPIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1* в формировании плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода. В работе представлены результаты проведенного генотипирования полиморфных локусов генов rs5918 *GPIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1* у 511 женщин: из них 195 беременных с плацентарной недостаточностью с синдромом задержки роста плода (СЗРП) и 316 с нормальным течением беременности. Для выявления генетических полиморфизмов rs5918 *GPIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1* использовалась полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (PCRrt) на приборе CFX96 производства Bio-Rad (США). Геномная ДНК лейкоцитов периферической крови выделена методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование осуществляли с использованием готовых наборов реагентов производства ООО «Синтол». Ассоциации аллелей и генотипов изученных полиморфных генов с риском развития плацентарной недостаточности с СЗРП оценивали с помощью анализа таблиц сопряженности 2×2 с расчетом критерия χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность и отношения шансов (OR) с 95 % доверительным интервалом. В результате проведенного сравнительного анализа частот аллелей и генотипов факторов коагуляции rs5918 *GPIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1* у женщин с плацентарной недостаточностью с СЗРП и контрольной группой достоверных отличий выявлено не было. Таким образом, полиморфные локусы генов rs5918 *GPIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1* не ассоциированы с плацентарной недостаточностью с СЗРП.

Ключевые слова: плацентарная недостаточность, СЗРП, генетический полиморфизм, rs5918 *GPIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1*.

POLYMORPHISM OF *GPIIIA*, *ITAG2*, AND *F13A1* COAGULATION FACTOR GENES AND FORMATION OF PLACENTAL INSUFFICIENCY WITH FETAL GROWTH RETARDATION SYNDROME

O.V. Golovchenko, N.A. Rudyh

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod National Research University», Belgorod, Russia

Abstract

Placental insufficiency is a pathophysiological phenomenon consisting of a complex of violations of the trophic, endocrine and metabolic functions of the placenta, leading to its inability to maintain an adequate and sufficient exchange between the mother and fetus, which leads to the development of fetal growth retardation syndrome (SPD). Placental insufficiency with SPD has a multifactorial nature. Hereditary thrombophilia play a significant role in the formation of placental insufficiency with nwrp. The aim of the work was to study the role of polymorphism of the genes of coagulation factors rs5918 *GpIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1* in the formation of placental insufficiency with fetal growth retardation syndrome. The paper presents the results

of genotyping of polymorphic loci of the rs5918 *GpIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, and rs5985 *F13A1* genes in 511 women: 195 of them are pregnant with placental insufficiency with fetal growth retardation syndrome (nwrp) and 316 with normal pregnancy. Real-time polymerase chain reaction (PCRRT) was used on a CFX96 device manufactured by Bio-Rad (USA) to detect genetic polymorphisms of rs5918 *GpIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, and rs5985 *F13A1*. Genomic DNA of peripheral blood leukocytes was isolated by phenol-chloroform extraction. Genotyping was performed using ready-made sets of reagents produced by LLC "Syntol". Associations of alleles and genotypes of the studied polymorphic genes with the risk of developing placental insufficiency with SPD were evaluated using the analysis of 2x2 conjugacy tables with the calculation of the Yates-adjusted Y2 criterion for continuity and odds ratio (RR) with a 95 % confidence interval. As a result of the comparative analysis of allele frequencies and genotypes of coagulation factors rs5918 *GpIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1* in women with placental insufficiency with nwrp and the control group, no significant differences were found. Thus, the polymorphic loci of the rs5918 *GpIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, and rs5985 *F13A1* genes are not associated with placental insufficiency with nwrp.

Key words: placental insufficiency, nwrp, genetic polymorphism, rs5918 *GpIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1*.

Актуальность

Плацентарная недостаточность – это патофизиологический феномен, состоящий из комплекса нарушений трофической, эндокринной и метаболической функций плаценты, ведущих к неспособности ее поддерживать адекватный и достаточный обмен между организмами матери и плода, что приводит к развитию синдрома задержки роста плода (СЗРП) [1]. Плацентарная недостаточность с СЗРП имеет мультифакториальную природу [2, 3]. Число наблюдений данной патологии колеблется, по данным разных авторов [4, 5], от 22 до 45 % от всех беременностей. Большое число исследований указывает на то, что причиной развития акушерской патологии, в том числе плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода, в 40–80 % случаев являются наследственные [1, 4, 6] и приобретенные аномалии гемостаза.

Одним из факторов, приводящих к развитию плацентарной недостаточности с СЗРП, является врожденная тромбофилия. В доступной литературе имеется описание взаимосвязи с данным акушерским осложнением таких генетических вариантов, как *rs6025 FV*, *rs1799963 FII*, *rs6046 FVII*, *rs1800790 FGB* [6–10], *rs1801133 MTHFR*, *rs1801131 MTHFR*, *rs1801394 MTRR*, *rs180587 MTR* [11, 8], *rs1799899 PAI-1*, *rs5918 GpIIIa* [6, 8]. В доступной нам литературе отсутствуют данные о роли полиморфных локусов генов rs5918 *GpIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1* в формировании плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода. Ген *rs1126643 ITGA2* отвечает за кодирование аминокислотной последовательности α2-субъединицы специализированных тромбоцитарных рецепторов (интегринов), благодаря которым тромбоцит взаимодействует с белками тканей во время повреждения сосудистой стенки. Благодаря своим рецепторам тромбоциты могут образовывать в области повреждения монослой, что является важным условием в активации следующих компонентов в цепной реакции свертывания крови, из-за которой организм предохраняется от обильных кровопотерь. Частота встречаемости данного полиморфизма составляет от 5 до 7 %. Ген *rs5918 GpIIIa* кодирует гликопротеин IIIa – один из компонентов свертывающей системы крови (тромботическое звено гемостаза). Данный белок вместе с гликопротеином IIIb составляют рецепторный комплекс, который отвечает за взаимодействие тромбоцитов, на поверхности которых он расположен, с фибриногеном плазмы крови, что приводит к агрегации тромбоцитов и формированию тромба. Частота встречаемости данного полиморфизма составляет от 8 до 15 %. Ген *rs5985 F13A1* представляет собой фермент, отвечающий за последнюю стадию в процессе коагуляции крови. Этот фактор является плазменным гликопротеином, который циркулирует в крови. Кроме основной функции во время свертывания крови, данный фактор еще и стабилизирует клеточную поверхность мембран. Частота встречаемости данного полиморфизма составляет около 20 %.

Цель исследования – изучение роли полиморфизма генов факторов коагуляции rs5918 *GpIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1* в формировании плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода.

Материал и методы

В исследуемую группу были включены 511 женщин: из них 195 беременных с плацентарной недостаточностью и синдромом задержки роста плода (СЗРП) и 316 с нормальным течением беременности. Для выявления генетических полиморфизмов rs5918 *GpIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1* использовалась полимеразная цепная реакция в режиме ре-

ального времени (PCRRt) на приборе CFX96 производства Bio-Rad (США). Геномная ДНК лейкоцитов периферической крови выделена методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование осуществляли с использованием готовых наборов реагентов производства ООО «Синтол». Для соответствия наблюдаемых частот генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди–Вайнберга (HWE) и для сравнения распределения частот генотипов и аллелей в двух исследуемых группах использовали критерий χ^2 . Об ассоциации аллелей и генотипов с предрасположенностью к плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода судили по показателям таблиц сопряженности 2×2 с расчетом критерия χ^2 и отношения шансов (OR) и его 95 % доверительного интервала (95 % CI).

Результаты

Нами проведен анализ частот генотипов и аллелей полиморфных локусов трех генов rs5918 *GPIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1*. Результаты представлены в таблице.

Исследование распределения генотипов полиморфных маркеров изучаемых генов у беременных с плацентарной недостаточностью с СЗРП и беременных контрольной группы показало, что эмпирическое распределение генотипов соответствовало теоретически ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга (HWE) ($p > 0,05$). При сравнительном анализе частот аллелей и генотипов достоверных отличий не выявлено.

Выводы

Генетические полиморфизмы rs5918 *GPIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985 *F13A1* не ассоциированы с развитием плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ Российской Федерации (проект НШ-2609.2020.7).

Анализ распределения генетических вариантов факторов коагуляции среди беременных с плацентарной недостаточностью с синдромом задержки роста плода и в контрольной группе

Полиморфный локус	Генотип / Показатель	Больные (n=195)	Группа контроля (n=316)	OR (95 % CI) χ^2 , p
<i>ITAG2</i> rs1126643	CC	70 (35,90 %)	102 (32,28 %)	1,17 (0,79–1,74) $\chi^2 = 0,55$, p=0,46
	CT	90 (46,15 %)	160 (50,63 %)	0,83 (0,57–1,21) $\chi^2 = 0,79$, p=0,37
	TT	35 (17,95 %)	54 (17,09 %)	1,06 (0,65–1,73) $\chi^2 = 0,02$, p=0,89
	Аллель Т (минорный)	160 (41,03 %)	228 (35,63 %)	1,23 (0,94–1,61) $\chi^2 = 0,31$, p=0,13
	H _o /H _e	0,46 / 0,48	0,55 / 0,45	
<i>GPIIIa</i> rs5918	TT	148 (77,08 %)	231 (73,57 %)	1,21 (0,78–1,88) $\chi^2 = 0,61$, p=0,44
	TC	42 (21,88 %)	79 (25,16 %)	0,83 (0,53–1,30) $\chi^2 = 0,54$, p=0,46
	CC	2 (1,04 %)	4 (1,27 %)	0,82 (0,10–5,21) $\chi^2 = 0,01$, p=1,01
	Аллель С (минорный)	46 (11,98 %)	87 (13,85 %)	0,85 (0,57–1,19) $\chi^2 = 0,58$, p=0,45
	H _o /H _e	0,22 / 0,21	0,25 / 0,24	
<i>F13A1</i> rs5985	GG	100 (51,55 %)	152 (48,87 %)	1,11 (0,76–1,61) $\chi^2 = 0,24$, p=0,62
	GT	72 (37,11 %)	124 (39,87 %)	0,89 (0,61–1,31) $\chi^2 = 0,27$, p=0,59
	TT	22 (11,34 %)	35 (11,25 %)	1,01 (0,55–1,83) $\chi^2 = 0,01$, p=1,00
	Аллель Т (минорный)	120 (30,9 %)	205 (30,10 %)	0,91 (0,69–1,21) $\chi^2 = 0,36$, p=0,55
	H _o /H _e (p)	0,36 / 0,43	0,37 / 0,42	

Примечание. H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Audette M.C., Kingdom J.C. Screening for fetal growth restriction and placental insufficiency. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2018 Apr; 23(2): 119–125. doi: 10.1016/j.siny.2017.11.004.
2. Серов В.Н. Профилактика материнской смертности. *Акушерство и гинекология.* 2011; 7–1: 4–10.
3. Zotz R.B., Sucker C., Gerhardt A. Thrombophilia in pregnancy: venous thromboembolism, fetal loss, preeclampsia, intrauterine growth restriction. *Hamostaseologie.* 2008 Dec; 28(5): 455–64.
4. Дворянский С.А., Нутинский Э.М. Фетоплацентарная недостаточность. Клиника, диагностика, лечение, исход. Киров: Кировская ГМА, 2009. 107 с.
5. Roos S., Powell T.L., Jansson T. Placental mTOR links maternal nutrient availability to fetal growth. *Biochem Soc Trans.* 2009 Feb; 37(Pt 1): 295–8. doi: 10.1042/BST0370295.
6. Чурносоев М.И., Кокорина О.С. Генетические исследования хронической плацентарной недостаточности и синдрома задержки роста плода. *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2014; 14(1): 27–32.
7. Чурносоев М.И., Зарудская О.М. Роль наследственной тромбофилии в развитии хронической фетоплацентарной недостаточности и синдрома внутриутробной задержки роста плода. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация.* 2012; 10(129): 132–136.
8. Чурносоев М.И., Зарудская О.М. Роль наследственной тромбофилии в генезе осложненного течения беременности. *Акушерство и гинекология.* 2013; 7: 4–7.
9. Reshetnikov E., Zarudskaya O., Polonikov A., Bushueva O., Orlova V., Krikun E., Dvornyk V., Churnosov M. Genetic markers for inherited thrombophilia are associated with fetal growth retardation in the population of Central Russia. *J. Obstet Gynaecol Res.* 2017 Jul; 43(7): 1139–1144. doi: 10.1111/jog.13329.
10. Reshetnikov E.A., Orlova V.S., Batlutskaia I.V., Rudyh N.A., Churnosov M.I. The Level of Fibrinogen and Gene Polymorphism in Pregnant Women with Placental Insufficiency. *Helix.* 2018; 8(4): 3491–3494.
11. Reshetnikov E.A., Kulikovskii V.F., Batlutskaia I.V., Iakunchenko T.I., Polonikov A.V., Churnosov M.I. Candidate Genes and Clinical-Laboratory Indices in Pregnant Women Depending on the Development of Preeclampsia. *Helix.* 2018; 8(1): 3012–3015.

ВОВЛЕЧЁННОСТЬ ГЕНОВ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В РАЗВИТИЕ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ У ПСИХИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ИНДИВИДОВ

Ю.Д. Давыдова¹, Р.Ф. Еникеева¹, З.Р. Тахирова², А.В. Казанцева¹

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа, Россия¹,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, Россия²

Аннотация

Целью настоящего исследования являлась оценка основных эффектов полиморфных локусов генов *DRD4* (*rs1800955*) и *MAOB* (*rs6651806*), а также ген-средовых взаимодействий в фенотипических вариациях уровня агрессивности у 655 психически здоровых индивидов с учётом половой и этнической принадлежности. В результате стратификационного анализа был выявлен значимый модулирующий эффект таких средовых факторов, как «уровень отцовской опеки» и «уровень материнской опеки» и «место воспитания» (городская и сельская местность) в случае ассоциации полиморфных локусов *rs1800955* и *rs6651806* с уровнем агрессивности в общей выборке.

Ключевые слова: агрессия, дофамин, ген-средовые взаимодействия.

THE INVOLVEMENT OF DOPAMINERGIC SYSTEM GENES IN THE DEVELOPMENT OF AGGRESSIVE BEHAVIOR IN MENTALLY HEALTHY INDIVIDUALS

Yu.D. Davydova¹, R.F. Enikeeva¹, Z.R. Takhirova², A.V. Kazantseva¹

Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia¹,
Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia²

Abstract

The present study aimed to assess the main effects of *DRD4* (*rs1800955*) and *MAOB* (*rs6651806*) gene polymorphisms together with G×E effects on individual differences in aggression in 655 mentally healthy

individuals controlling for gender and ethnicity. As a result of stratification analysis we observed that «place of residence», «paternal overprotection» and «maternal overprotection» significantly affected association of *rs1800955* и *rs6651806* and aggression in the total sample.

Key words: aggression, dopamine, G4E interaction.

Актуальность

За последние годы агрессивное поведение (АП) становится всё более распространённым явлением в человеческом обществе. Согласно данным Генеральной прокуратуры РФ, за 2019 г. в стране было совершено около 2 млн преступлений, из которых на долю причинения тяжкого и особо тяжкого вреда здоровью приходится около 360 и 98 тыс. случаев соответственно, и подобная картина экстраполируется на большинство стран мира [1]. Однако наряду с существованием клинических и уголовно зарегистрированных форм АП опасность представляет и излишняя агрессивность, варьирующая в пределах нормы реакции, которая может выражаться в приступах агрессии в повседневной жизни. Любые формы подобного АП (буллинг в учебном или рабочем коллективе, домашнее насилие и др.) представляют собой сложный многоаспектный феномен, предрасположенность к которому определяется действием широкого спектра психологических, социальных, нейробиохимических и наследственных факторов и их взаимодействием между собой. Известно, что дофамин – гормон и нейромедиатор – участвует в регуляции ряда психологических функций, а нарушение его метаболизма способствует развитию таких патологических состояний, как ангедония, депрессия, деменция, фиксация аддикций, а также патологическая агрессивность [2]. По этой причине гены, кодирующие белки, которые участвуют в метаболизме дофамина, в том числе его рецепции (*DRD4*, 11p15.5) и деградации (*MAOB*, Xp11.3), являются кандидатами для изучения генетических основ АП. Кроме того, не вызывает сомнения, что ряд средовых факторов (место проживания, характер детско-родительских взаимоотношений, наличие хронических заболеваний, зависимостей, а также этническая и половая принадлежность индивида) может оказывать влияние на механизмы эпигенетической регуляции, детерминирующей индивидуальный уровень агрессивности [3]. Исходя из этого, в рамках психогенетических исследований особо актуальным представляется учёт модулирующего эффекта средового компонента в анализе ассоциаций полиморфных локусов генов с исследуемым признаком.

Цель исследования – оценка основного эффекта полиморфных локусов генов *DRD4* (*rs1800955*) и *MAOB* (*rs6651806*), а также ген-средовых (G×E, gene×environment interaction) взаимодействий в развитии АП у здоровых индивидов с учётом социо-демографических параметров.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 655 здоровых индивидов (81,22 % женщин) – студентов вузов Республики Башкортостан и Удмуртской Республики (средний возраст 19,69±1,79 года), из них: русских – 231, удмуртов – 231, татар – 150, индивидов смешанной этнической принадлежности – 43. Все индивиды, включённые в исследование, не состояли на учёте у психиатра и нарколога и отрицали у себя отягощённую наследственность по психическим заболеваниям. Для оценки уровня агрессивности была использована русскоязычная версия опросника уровня агрессивности Басса–Пеппи (Buss–Perry Aggression Questionnaire, BPAQ-29), состоящего из 29 вопросов. В качестве материала для молекулярно-генетического исследования послужили образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфных локусов генов *DRD4* (*rs1800955*) и *MAOB* (*rs6651806*) проводили методом ПЦР с флуоресцентной детекцией (FLASH/RTAS, ФГУП «ГосНИИгенетика», Москва) на амплификаторе «CFX96» (Bio-Rad, США) с возможностью проведения анализа флуоресценции по конечной точке. Оценка основного эффекта полиморфных локусов в вариациях уровня агрессивности проводилась с помощью линейного регрессионного анализа в программе PLINK v.1.9. Для коррекции на множественность сравнений была осуществлена процедура FDR (False Discovery Rate).

Результаты и обсуждение

Результаты оценки распределения частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов *DRD4* и *MAOB* соответствовали распределению Харди–Вайнберга ($p=0,09$ для *rs1800955*, $p=1,00$ для *rs6651806*).

В результате линейного регрессионного анализа не было выявлено ассоциации полиморфных локусов генов *DRD4* (*rs1800955*) и *MAOB* (*rs6651806*) с вариациями уровня агрессивности ($p > 0,05$). Последующий стратификационный анализ, проведенный среди мужчин, женщин, индивидов русской, удмуртской и татарской этнической принадлежности, также не продемонстрировал ассоциаций с АП. Однако дальнейший анализ ген-средовых взаимодействий позволил обнаружить модели, ассоциированные с фенотипическими вариациями АП. Было установлено, что «уровень отцовской опеки» ($\beta = -4,33$, $r^2 = 0,03$, $p = 0,01$, $p_{FDR} = 0,04$) модулирует ассоциацию локуса *rs1800955* в гене *DRD4* с уровнем агрессивности, тогда как «место проживания» ($\beta = -5,10$, $r^2 = 0,03$, $p = 0,004$, $p_{FDR} = 0,009$) и «уровень материнской опеки» ($\beta = -4,99$, $r^2 = 0,03$, $p = 0,02$, $p_{FDR} = 0,04$) – ассоциацию локуса *rs6651806* в гене *MAOB* с исследуемым признаком. Однофакторный дисперсионный анализ позволил выявить, что носители аллеля *rs1800955**C в гене *DRD4*, воспитывавшиеся в условиях пониженной опеки со стороны отца, а также носители аллеля *rs6651806**C в гене *MAOB*, воспитывавшиеся в условиях пониженной опеки со стороны матери, имеют более низкие средние значения агрессивности по сравнению с высокоопекаемыми индивидами ($p = 0,01$ и $p = 0,02$ соответственно). Это обусловлено тем, что родительская гиперопека, наряду с такими деструктивными формами детско-родительских взаимоотношений, как гиперсоциализация или отверженность, приводит к проявлениям агрессии у индивида, а также к попыткам самоутвердиться в коллективе или вымещению негативных эмоций на различных предметах, демонстрируя АП. В то же время пониженный уровень родительской опеки позволяет индивиду самостоятельно принимать решения, рефлексировать, оценивать свои возможности и самореализовываться в обществе без необходимости в агрессивных проявлениях [4]. Кроме того, у носителей аллеля *rs6651806**C в гене *MAOB*, воспитанных в сельской местности, также наблюдались более низкие показатели агрессивности по сравнению с воспитанными в городских условиях респондентами ($p = 0,004$). Подобная ассоциация может быть связана с индивидуальными особенностями индивидов, характерными для неурбанизированных территорий, такими как традиционность, консервативность, связь с естественной природой, принятие норм поведения, основанных на чувствах справедливости и законности, что в определенной степени снижает риск развития агрессивных и девиантных форм поведения [5].

Выводы

Таким образом, в настоящем исследовании был установлен модулирующий эффект таких средовых факторов, как «место жительства», «уровень отцовской опеки» и «уровень материнской опеки», на ассоциацию полиморфных локусов генов *DRD4* (*rs1800955*) и *MAOB* (*rs6651806*) с развитием АП. Предполагается, что данные средовые факторы могут выступать в качестве триггера для развития излишней агрессивности посредством механизмов эпигенетической регуляции.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (№ АААА-А16-116020350032-1) при частичной поддержке грантов РФФИ (№ 17-29-02195 офи_м; 19-013-00756 А). Образцы ДНК взяты из ЦКП «Коллекция биологических материалов человека» ИБГ УФИЦ РАН, поддержанного Программой биоресурсных коллекций ФАНО России (соглашение № 007-030164/2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Портал правовой статистики Генеральной прокуратуры РФ [Интернет]. URL: <http://crimestat.ru/> (дата обращения: 15.01.2020).
2. Кови Е.М., Воробьева Е.В., Ермаков П.Н. Обзор современных исследований психогенетических факторов агрессивного поведения. Российский психологический журнал. 2014; 11(4): 91–103.
3. Мустафин Р.Н., Казанцева А.В., Еникеева Р.Ф., Давыдова Ю.Д., Карунас А.С., Малых С.Б., Хуснутдинова Э.К. Эпигенетика агрессивного поведения. Генетика. 2019; 55(9): 987–997.
4. Полякова А.С., Шалагинова К.С. Особенности проявления агрессивного поведения у детей младшего подросткового возраста. Международный студенческий научный вестник. 2019; 1: 13.
5. Гордеева С.С., Хачатрян Л.А. Влияние социальных и внешнесредовых факторов на здоровье городской и сельской молодежи. Сборник статей VII Уральского демографического форума с международным участием «Динамика и инерционность воспроизводства населения и замещения поколений в России и СНГ». 2016: 228–234.

К ВОПРОСУ ОБ АССОЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА RS1063192 И RS2157719 ГЕНА *CDKN2B-AS1* С РАЗВИТИЕМ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ СРЕДИ ЖЕНСКОГО НАСЕЛЕНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОГО ЧЕРНОЗЕМЬЯ РФ

Н.В. Елисеева

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Россия

Аннотация

Первичная открытоугольная глаукома является главной причиной слабо зрения и слепоты среди лиц трудоспособного возраста. В России свыше 1 млн больных данным заболеванием. В некоторых регионах РФ ПОУГ занимает первое место по инвалидности. Глаукома относится к мультифакториальным заболеваниям, в развитии которых немаловажную роль играют генетические факторы. Цель – провести репликативные исследования ассоциации GWAS-значимых полиморфных локусов rs1063192 и rs2157719 гена *CDKN2B-AS1* с развитием первичной открытоугольной глаукомы среди женского населения Центрального Черноземья РФ.

Объект исследования – выборка из 290 больных с глаукомой и 220 человек контрольной группы. Офтальмологическое обследование проводилось в офтальмологическом отделении ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа». В исследовании использовали венозную кровь, взятую из локтевой вены пациента. Геномную ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции. Анализ полиморфных локусов осуществлялся с помощью полимеразной цепной реакции синтеза ДНК, используя метод дискриминации аллелей. Установлено, что у пациентов с глаукомой женского пола частота генотипа AA полиморфного локуса rs1063192 гена *CDKN2B-AS1* составила 34,15 %, AG – 47,18 %, GG – 16,66 %, минорного аллеля A – 42,25 %. У женщин контрольной группы определены следующие частоты полиморфного локуса rs1063192: AA – 28,30 %, AG – 51,42 %, GG – 20,28 %, минорный аллель A – 45,99 %. Для rs2157719 гена *CDKN2B-AS1* среди больных глаукомой частота генотипа AA была равна 39,01 %, AG – 48,40 %, GG – 18,72 %, минорный аллель G – 42,49 %, а у женщин контрольной группы AA – 32,88 %, AG – 48,40 %, GG – 18,72 %, минорный аллель G – 42,49 %. При сравнительном анализе частот полиморфных вариантов локусов rs1063192 и rs2157719 гена *CDKN2B-AS1* среди женщин, больных глаукомой, и женщин контрольной группы достоверных различий выявлено не было ($p > 0,05$ %). Выводы: полиморфизмы rs1063192 и rs2157719 гена *CDKN2B-AS1* не ассоциированы с первичной открытоугольной глаукомой у женщин Центрального Черноземья РФ.

Ключевые слова: первичная открытоугольная глаукома, полиморфизмы, ген *CDKN2B-AS1*, rs1063192, rs2157719.

TO THE QUESTION OF THE ASSOCIATION OF THE POLYMORPHISM RS1063192 AND RS2157719 OF THE *CDKN2B-AS1* GENE WITH THE DEVELOPMENT OF PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA AMONG THE FEMALE POPULATION OF THE CENTRAL BLACK EARTH REGION OF THE RUSSIAN FEDERATION

N.V. Eliseeva

Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

Abstract

Primary open-angle glaucoma is the main cause of low vision and blindness among people of working age. In Russia, over 1 million patients with this disease. In some regions of the Russian Federation, POAG ranks first in disability. Glaucoma is a multifactorial disease in the development of which genetic factors play an important role. Object: to conduct replicative studies of the association of GWAS-significant polymorphic loci rs1063192 and rs2157719 of the *CDKN2B-AS1* gene with the development of primary open-angle glaucoma

among the female population of the Central Black Earth Region of the Russian Federation. The object of the study was a sample of 290 patients with glaucoma, and 220 people in the control group. An ophthalmologic examination was carried out in the ophthalmology department of OGBUZ Belgorod Regional Clinical Hospital of St. Josepha. The study used venous blood taken from the patient's elbow vein. Genomic DNA was isolated by phenol-chloroform extraction. The analysis of polymorphic loci was carried out using the polymerase chain reaction of DNA synthesis using the method of discrimination of alleles. It was found that in patients with female glaucoma the frequency of the AA genotype of the polymorphic locus rs1063192 of the *GDKN2B-AS1* gene was 34.15 %, AG – 47.18 %, GG – 16.66 %, minor allele A – 42.25 %. In women of the control group, the following frequencies of the rs1063192 polymorphic locus were determined: AA – 28.30 %, AG – 51.42 %, GG – 20.28 %, minor allele A – 45.99 %, respectively. For rs2157719 of the *GDKN2B-AS1* gene among glaucoma patients, the frequency of the AA genotype was 39.01 %, AG – 48.40 %, GG – 18.72 %, the minor G allele was 42.49 %, and in the women in the control group, AA – 32.88 %, AG – 48.40 %, GG – 18.72 %, minor allele G – 42.49 %, respectively. A comparative analysis of the frequencies of polymorphic variants of the rs1063192 and rs2157719 loci of the *CDKN2B-AS1* gene did not reveal any significant differences among women with glaucoma and the control group ($p > 0.05$ %). Conclusions: polymorphisms rs1063192 and rs2157719 of the *GDKN2B-AS1* gene are not associated with primary open-angle glaucoma in women of the Central Black Earth Region of the Russian Federation.

Key words: primary open-angle glaucoma, polymorphisms, *CDKN2B-AS1* gene, rs1063192, rs2157719.

Актуальность

Первичная открытоугольная глаукома является мультифакториальным заболеванием, в развитие которого отводится немаловажная роль наследственным факторам [1]. Актуальность данной темы исследования возникла после многократных исследований в сфере полногеномных исследований ассоциаций первичной открытоугольной глаукомы и открытия значимых генов – кандидатов в развитии глаукомы [2, 3]. Известно более 20 полногеномных исследований ассоциаций первичной открытоугольной глаукомы и определено более 100 ассоциированных генов [4].

Цель работы – провести репликативные исследования ассоциации GWAS-значимых полиморфных локусов rs1063192 и rs2157719 гена *CDKN2B-AS1* с развитием первичной открытоугольной глаукомы среди женского населения Центрального Черноземья РФ.

Материал и методы

Объектом исследования послужила выборка из 290 женщин, больных первичной открытоугольной глаукомой, и 220 женщин контрольной группы. Офтальмологическое обследование проводилось в офтальмологическом отделении ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа». Среди индивидуумов с первичной открытоугольной глаукомой рассмотрено 580 глаз, в группе контроля – 440 глаз. Распределение по полу в группах было одинаковое (ПОУГ: женщин 289 человек (53,61 %), мужчин 250 (46,38 %)); контроль: женщины 250 (62,28 %) и мужчины 219 (54,88 %)). Возраст пациентов с первичной открытоугольной глаукомой составил $68,48 \pm 8,68$ года (изменялся от 43 до 87 лет), в контрольной группе составил $68,41 \pm 8,00$ года (изменялся от 43 до 87 лет) ($p > 0,05$). В исследовании использовали венозную кровь, взятую из локтевой вены пациента. Геномную ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции. Анализ полиморфных локусов осуществлялся с помощью полимеразной цепной реакции синтеза ДНК, используя метод дискриминации аллелей. Для исследования были отобраны GWAS-значимые полиморфные локусы, связанные ПОУГ в гене *GDKN2B-AS1*. Данные представлены в открытом доступе в каталоге полногеномных исследований (GWAS) National Human Genome Research Institute (<http://www.genomedov/gwasstudies>). Для гена *GDKN2B-AS1* были отобраны полиморфные локусы rs1063192 и rs2157719, являющиеся значимыми для первичной открытоугольной глаукомы. Характер ассоциаций аллелей и генотипов с ПОУГ оценивали при помощи показателей отношения шансов (OR) и их 95 % доверительного интервала (95 % CI).

Результаты

Установлено, что у пациентов с глаукомой женского пола частота генотипа AA полиморфного локуса rs1063192 гена *GDKN2B-AS1* составила 34,15 %, AG – 47,18 %, GG – 16,66 %, минорного аллеля A – 42,25 %. У женщин контрольной группы определены следующие частоты полиморфного локуса rs1063192: AA – 28,30 %, AG – 51,42 %, GG – 20,28 %, минорный аллель A – 45,99 %. Для rs2157719 гена *GDKN2B-AS1* среди больных глаукомой частота генотипа AA была равна 39,01 %, AG – 48,40 %, GG – 18,72 %, минорный аллель G – 42,49 %, а у женщин контрольной группы AA – 32,88 %, AG – 48,40 %, GG – 18,72 %, минорный аллель G – 42,49 %. При сравнительном анализе частот полиморфных вариантов

локусов rs1063192 и rs2157719 гена *CDKN2B-AS1* среди женщин, больных глаукомой, и женщин контрольной группы достоверных различий выявлено не было ($p > 0,05$ %).

Выводы

Полиморфизмы rs1063192 и rs2157719 гена *CDKN2B-AS1* не ассоциированы с первичной открытоугольной глаукомой у женщин Центрального Черноземья РФ.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ Российской Федерации (проект НШ-2609.2020.7).

ЛИТЕРАТУРА

1. Tham Y.C., Li X., Wong T.Y., Quigley H.A., Aung T., Cheng C.Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014 Nov; 121(11): 2081–90. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013.
2. Springelkamp H., Iglesias A.I., Mishra A., Höhn R. New insights into the genetics of primary open-angle glaucoma based on meta-analyses of intraocular pressure and optic disc characteristics. *Hum Mol Genet*. 2017 Jan 15; 26(2): 438–453. doi: 10.1093/hmg/ddw399.
3. Li Z., Allingham R.R., Nakano M., Jia L., Chen Y. A common variant near TGFBR3 is associated with primary open angle glaucoma. *Hum Mol Genet*. 2015 Jul 1; 24(13): 3880–92. doi: 10.1093/hmg/ddv128.
4. Shen L., Melle R.B., Metlapally R., Barcellos L., Schaefer C., Risch N., Herrinton L.J., Wildsoet C., Jorgenson E. The Association of Refractive Error with Glaucoma in a Multiethnic Population. *Ophthalmology*. 2016 Jan; 123(1): 92–101. doi: 10.1016/j.ophtha.2015.07.002.

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНОВ СТРЕССОВОГО ОТВЕТА ОРГАНИЗМА С ФЕНОТИПИЧЕСКИМИ ВАРИАЦИЯМИ В УРОВНЕ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ТРЕВОЖНОСТИ

Р.Ф. Еникеева¹, А.В. Казанцева¹, Ю.Д. Давыдова¹, С.В. Леонов²

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, лаборатория молекулярной генетики человека, г. Уфа, Россия¹,
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия²

Аннотация

Трудности в обучении математике могут быть обусловлены наличием математической тревожности (МТ), характеризующей болезненными ощущениями при решении математических задач. Гены, принимающие участие в регуляции стрессового ответа организма, могут лежать в основе формирования индивидуальных различий в уровне математической тревожности. В рамках данной работы был проведен анализ ассоциаций полиморфного локуса rs4680 гена катехол-о-метилтрансферазы (*COMT*) и полиморфных локусов rs6277 и rs2283265 гена дофамина рецептора D2 (*DRD2*) с фенотипическими вариациями МТ. Целью данной работы являлась оценка вовлеченности полиморфных вариантов генов, отвечающих за регуляцию стрессового ответа организма в развитии повышенной МТ. В исследовании приняли участие 523 здоровых индивида из Республики Башкортостан (средний возраст 20,99±3,32 года), прошедших оценку МТ с использованием опросника MARS. Генотипический анализ проводили методом ПЦР-ПДРФ и ПЦР в реальном времени. Статистический анализ был осуществлен с использованием программы Plink v. 1.09. В рамках данной работы было показано, что полиморфные варианты гена рецептора D2 дофамина (*DRD2*), вовлеченного в регуляцию стрессового ответа организма, ассоциированы с фенотипическими вариациями в уровне математической тревожности у мужчин.

Ключевые слова: трудности в обучении математике, гены-кандидаты, система стрессового ответа организма.

ANALYSIS OF THE ASSOCIATIONS OF POLYMORPHIC LOCI OF THE STRESS RESPONSE SYSTEM GENES WITH PHENOTYPIC VARIATIONS IN THE LEVEL OF MATHEMATICAL ANXIETY

R.F. Enikeeva¹, A.V. Kazantseva¹, Yu.D. Davydova¹, S.V. Leonov²

Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia¹,
Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia²

Abstract

Learning difficulty in mathematics can be caused by the presence of mathematical anxiety (MA), which is characterized by painful sensations in solving mathematical task. The genes involved in the regulation of the stress response system may underlie the formation of individual differences in the level of mathematical anxiety. As part of this work, we analyzed the associations of the polymorphic locus *rs4680* of the catechol-o-methyltransferase gene (*COMT*) and the polymorphic loci *rs6277* and *rs2283265* of the dopamine receptor gene D2 (*DRD2*) with phenotypic variations of MA. The aim of this work was to assess the involvement of polymorphic variants of genes responsible for the regulation of the stress response system in the development of high MA. The study involved 523 healthy individuals from the Republic of Bashkortostan (average age 20.99 ± 3.32 years) who underwent an MA assessment using the MARS questionnaire. Genotypic analysis was performed by PCR-RFLP and real-time PCR. Statistical analysis was performed using the Plink v. 1.09. This work it was shown that polymorphic variants of the dopamine D2 receptor gene (*DRD2*), which is involved in the regulation of the stress response system, are associated with phenotypic variations in the level of MA in the group of men.

Key words: mathematics disability, candidate genes, stress response system.

Актуальность

Изучение продуктивности когнитивных функций как составной части психического здоровья приобретает сегодня все большую актуальность в связи с повышенными требованиями к эффективной интеллектуальной деятельности во всех сферах функционирования общества. В последнее время интерес ученых направлен на изучение математической тревожности (МТ), которая представляет собой одну из причин возникновения трудностей в обучении математике. МТ – состояние, при котором индивиды испытывают отрицательные эмоции (избегание, тревожность, стресс) и даже болезненные ощущения при необходимости решения задач, требующих использования математических навыков [1]. Несмотря на то, что МТ является одной из основных причин формирования трудностей в обучении математике, генетические исследования, посвященные данной проблеме, единичны, и большая часть из них посвящена близнецовому анализу. Согласно литературным данным, первые признаки математической тревожности становятся заметны в младшем школьном возрасте, когда ребенок впервые сталкивается с математикой, однако пик ее проявления приходится на 6–7-е классы. Кроме того, высокая МТ встречается у 4 % студентов высшей школы, а около 85 % студентов отмечают у себя умеренные ее проявления [2]. Взрослые с высокой МТ демонстрируют меньшие способности к вычислениям, сравнению чисел и мысленному вращению 3D-объектов [3]. Еще больший процент населения (15–20 %) имеет проблемы с обработкой числовой информации [4]. Формирование процессов обучения и памяти обусловлено функционированием разных нейромедиаторных систем, включая дофаминергическую систему. В рамках данной работы был проведен анализ ассоциаций полиморфного локуса *rs4680* гена катехол-о-метилтрансферазы (*COMT*) и полиморфных локусов *rs6277* и *rs2283265* гена дофаминового рецептора D2 (*DRD2*) с фенотипическими вариациями МТ.

Цель работы – оценка вовлеченности полиморфных вариантов генов, отвечающих за регуляцию стрессового ответа организма в развитии повышенной МТ.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 523 психически здоровых студента вузов Республики Башкортостан (средний возраст 20.99 ± 3.32 года), прошедших психологическое тестирование. У всех обследуемых лиц кровь была получена с их информированного согласия. Исследова-

ние было одобрено биоэтическим комитетом ИБГ УФИЦ РАН. ДНК из периферической крови была выделена методом фенольно-хлороформной экстракции [5]. Анализ полиморфных вариантов изученных генов проводился при помощи метода полимеразной цепной реакции синтеза ДНК с последующим рестрикционным анализом и ПЦР в реальном времени с флуоресцентной детекцией (FLASH/RTAS) (ФГУП «ГосНИИгенетика», г. Москва). Для оценки уровня математической тревожности (МТ) был использован опросник Revised Mathematics Anxiety Rating Scale [6], адаптированный для русскоговорящих студентов сотрудниками лаборатории возрастной психогенетики (Психологический институт РАО, г. Москва). Тест Харди–Вайнберга и оценка частот аллелей и генотипов изученных SNPs были проведены с использованием программы PLINK v.1.09 [7]. Гаплотипические блоки были сконструированы на основе метода доверительных интервалов; оценка неравновесия по сцеплению между маркерами (на основании критерия Левонтина, D') проведена с использованием программы Haploview 4.2. Для оценки основного эффекта полиморфных локусов генов-кандидатов, эффекта гаплотипов, ген-средовых (GxE) и межгенных (GxG) взаимодействий в вариации черт личности был проведен линейный регрессионный анализ в программе PLINK v.1.09. В качестве независимых переменных в GxE анализе выступали генотипы и демографические параметры, а в качестве зависимой переменной – уровень МТ. Поскольку статистическая обработка включала множественные проверки гипотез, то в качестве проверки на множественность сравнений была проведена процедура FDR (false discovery rate).

Результаты

В рамках данной работы был проведен анализ ассоциаций полиморфных локусов гена *DRD2* (*rs6277* и *rs2283265*) с уровнем математической тревожности среди мужчин, женщин, индивидов татарской, русской, башкирской, удмуртской и смешанной этнической принадлежности, в результате линейного регрессионного анализа была показана ассоциация локуса *rs2283265* в гене *DRD2* с МТ у мужчин ($r^2 = 0,04$; $\beta = -2,26$, $p = 0,03$). Анализ неравновесия по сцеплению между локусами *rs6277* и *rs2283265* в гене *DRD2* выявил наличие неравновесия по сцеплению между этими локусами ($D' = 0,56$). Однако последующий гаплотипический анализ не показал ассоциаций изученных гаплотипов с уровнем МТ. Исходя из полученных данных, можно заключить, что полиморфный вариант *rs2283265*Т* гена *DRD2* ассоциирован с развитием повышенной МТ по сравнению с носителями генотипа *rs2283265*G/G*. Примечательно, что эта взаимосвязь имеет гендер-специфичный характер. Зависимость функционирования дофаминергической системы от половой принадлежности подтверждается и литературными данными. Так, в эксперименте с использованием модельных животных было показано, что стрессовые состояния сопровождались снижением дофаминергической активности во фронтальной коре самцов, но не самок [8]. Указанные различия могут быть обусловлены влиянием половых гормонов. В частности, известно существование у эстрогенов нейропротекторных свойств в отношении дофаминергических нейронов [9]. В рамках данной работы не было показано ассоциации полиморфного локуса *rs4680* гена *COMT* с фенотипическими вариациями в уровне МТ. Эти результаты в определенной степени согласуются с рядом данных, продемонстрировавших отсутствие ассоциации локусов гена *COMT* с аффективными расстройствами [10]. В то же время возможно, что ген *COMT* скорее вовлечен в развитие когнитивного дефицита при психопатологиях, включая шизофрению [11], болезнь Паркинсона [12], чем у психически здоровых индивидов.

Выводы

Показано, что полиморфные варианты гена рецептора D2 дофамина (*DRD2*), вовлеченного в регуляцию стрессового ответа организма, ассоциированы с фенотипическими вариациями в уровне математической тревожности у мужчин.

Работа выполнена при поддержке РНФ (проект № 17-78-30028). Образцы ДНК для исследования взяты из ЦКП «Коллекция биологических материалов человека» ИБГ УФИЦ РАН, поддержанного Программой биоресурсных коллекций ФАНО России (соглашение № 007-030164/2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Kucian K., McCaskey U., O’Gorman Tuura R., von Aster M. Neurostructural correlate of math anxiety in the brain of children. *Transl Psychiatry*. 2018 Dec 10; 8(1): 273. doi: 10.1038/s41398-018-0320-6.
2. Chinn S. Mathematics anxiety in secondary students in England. *Dyslexia*. 2009 Feb; 15(1): 61–8. doi: 10.1002/dys.381.
3. Maloney E.A., Beilock S.L. Math anxiety: who has it, why it develops, and how to guard against it. *Trends Cogn Sci*. 2012 Aug; 16(8): 404–6. doi: 10.1016/j.tics.2012.06.008.
4. Gross-Tsur V., Manor O., Shalev R.S. Developmental dyscalculia: prevalence and demographic features. *Dev Med Child Neurol*. 1996 Jan; 38(1): 25–33. doi: 10.1111/j.1469-8749.1996.tb15029.x.

5. Mathew C.G. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA. *Methods Mol Biol.* 1985; 2: 31–4. doi: 10.1385/0-89603-064-4:31.
6. Suinn R.M., Taylor S., Edwards R.W. Mathematics Anxiety Rating Scale for Elementary School Students (MARS-E): Psychometric and Normative Data. *Educational and Psychological Measurement.* 1988; 48(4): 979–986.
7. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M.A., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P.I., Daly M., Sham P.C. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J. Hum Genet.* 2007 Sep; 81(3): 559–75. doi: 10.1086/519795.
8. Арушанян Э.Б. Половые различия в чувствительности к психотропным веществам. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2007; 1: 63–71.
9. Quesada A., Micevych P.E. Estrogen interacts with the IGF-1 system to protect nigrostriatal dopamine and maintain motoric behavior after 6-hydroxydopamine lesions. *Journal of Neuroscience Research.* 2004; 75(1): 107–116.
10. Sampaio A.S., Hounie A.G., Petribú K., Cappi C., Morais I., Vallada H., do Rosário M.C., Stewart S.E., Fargnass J., Mathews C., Arnold P., Hanna G.L., Richter M., Kennedy J., Fontenelle L., de Bragança Pereira C.A., Pauls D.L., Miguel E.C. COMT and MAO-A polymorphisms and obsessive-compulsive disorder: a family-based association study. *PLoS One.* 2015 Mar 20; 10(3): e0119592. doi: 10.1371/journal.pone.0119592.
11. Nkam I., Ramoz N., Breton F., Mallet J., Gorwood P., Dubertret C. Impact of DRD2/ANKK1 and COMT Polymorphisms on Attention and Cognitive Functions in Schizophrenia. *PLoS One.* 2017 Jan 13; 12(1): e0170147. doi: 10.1371/journal.pone.0170147.
12. Fagan E.S., Pihlstrom L. Genetic risk factors for cognitive decline in Parkinson's disease: a review of the literature. *European journal of neurology.* 2017; 24(4): 561e20.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ЛОКУСОВ RS699517 И RS2790 ГЕНА TYMS ФОЛАТНОГО ЦИКЛА В ФОРМИРОВАНИИ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И ЗАДЕРЖКИ РОСТА ПЛОДА

О.А. Ефремова

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород, Россия

Аннотация

В настоящее время плацентарная недостаточность (ПН) и синдром задержки роста плода (СЗРП) являются наиболее частыми осложнениями беременности. Цель исследования – изучить роль генетических локусов с.89A>G (rs2790) и с.19C>T (rs699517) гена *TYMS* фолатного цикла в формировании предрасположенности к ПН с СЗРП. Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенной из цельной венозной крови. Выборку для исследования составили 234 беременных с ПН и СЗРП и 243 беременных с нормальным весом плода. Исследование проводили методом ПЦР с использованием олигонуклеотидных праймеров с последующим анализом полиморфизмов методом детекции Taq-Map зондов (real-time ПЦР). При анализе распределения частот генотипов по изучаемым локусам эмпирическое распределение генотипов соответствовало теоретически ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Сравнительный анализ локусов rs699517 и rs2790 гена *TYMS* фолатного цикла в формировании плацентарной недостаточности и задержки роста плода между беременными с синдромом задержки развития плода и контролем не выявил достоверных различий ($p > 0,05$). По частоте минорных аллелей полиморфных локусов, ассоциации аллелей и ассоциации гаплотипов полиморфных локусов с.89A>G (rs2790) и с.19C>T (rs699517) гена *TYMS* у беременных с ПН и СЗРП также не было выявлено достоверных различий по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$).

Ключевые слова: генотип, полиморфизм, фолатный цикл, плацентарная недостаточность, синдром задержки роста плода.

THE ROLE OF POLYMORPHISM OF THE RS699517 AND RS2790 LOCI OF THE TYMS GENE OF THE FOLATE CYCLE IN THE FORMATION OF PLACENTAL INSUFFICIENCY AND INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION

O.A. Efremova

Belgorod State National Research University, Belgorod, Russian Federation, Belgorod, Russia

Abstract

Now, placental insufficiency (PN) and intrauterine growth restriction (IUGR) are the most common pregnancy complications. The aim of the investigation was to study the role of the genetic loci c.89A> G (rs2790) and c.19C> T (rs699517) of the folate cycle *TYMS* gene in the formation of a predisposition to PN with IUGR. The material for the study was samples of DNA isolated from whole venous blood. The sample for the study was 234 pregnant women with PN with IUGR and 243 pregnant women with normal fetal weight. The study was carried out by PCR using oligonucleotide primers with subsequent analysis of polymorphisms by the detection method of TaqMan probes (real-time PCR). When analyzing the frequency distribution of genotypes for the studied loci, the empirical distribution of genotypes corresponded to the theoretically expected one at Hardy-Weinberg equilibrium ($p>0,05$). Comparative analysis of the rs699517 and rs2790 loci of the folate cycle *TYMS* gene in the formation of placental insufficiency and fetal growth retardation between pregnant women with fetal growth retardation syndrome and control did not reveal significant differences ($p>0,05$). The frequency of minor alleles of polymorphic loci, allele associations, and haplotype associations of polymorphic loci c.89A> G (rs2790) and c.19C> T (rs699517) of the *TYMS* gene in pregnant women with PN and IUGR also did not reveal significant differences compared with the control group ($p>0,05$).

Key words: genotype, polymorphism, folate cycle, placental insufficiency, intrauterine growth restriction.

На сегодняшний день плацентарная недостаточность (ПН) и синдром задержки роста плода (СЗРП) являются наиболее частыми осложнениями беременности [1, 2]. Большинство исследователей относят ПН к отдельному клиническому синдрому или симптомокомплексу, который сопровождает основное заболевание беременной [3, 4]. Актуальность исследования ФПН в сочетании с исследованием основных ключевых факторов, приводящих к патологии беременных, не вызывает сомнения. Синдром задержки роста плода (СЗРП) отражает взаимодействие между индивидуальным генетическим набором женщины и компонентами окружающей среды [2, 3]. В последних работах ученых было показано, что в формирование СЗРП вовлечены гены фолатного цикла [5–10]. Тем не менее до настоящего времени остается актуальным изучение вклада полиморфизма генов фолатного цикла в развитие ПН и СЗРП.

Цель исследования – изучить вклад генетических локусов c.89A>G (rs2790) и c.19C>T (rs699517) гена *TYMS* фолатного цикла в развитие предрасположенности к ПН с СЗРП.

Материалом для исследования послужили цельная венозная кровь и выделенная из нее ДНК. Основную группу обследованных составили 234 беременных с ПН и СЗРП и контрольную – 243 беременных с нормальным весом плода. Использовали метод ПЦР с применением олигонуклеотидных праймеров с дальнейшим анализом полиморфизмов путем детекции TaqMan зондов (real-time ПЦР). Эмпирическое распределение генотипов соответствовало теоретически ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга ($p>0,05$) при анализе распределения частот генотипов по изучаемым локусам.

Результаты исследования

Анализ распределения генотипов полиморфного маркера *TYMS* среди беременных с ПН и СЗРП показал, что частота генотипа c.19 CC составила 51,75 %, c.19 TC – 39,91 % и c.19 TT – 8,33 %. Частоты генотипов в контрольной группе составили: c.19 CC – 48,94 %, c.19 TC – 43,4 % и c.19 TT – 7,66 %. Достоверных различий при этом не выявлено. При изучении распределения локуса c.89 (rs2790) гена *TYMS* среди беременных с СЗРП выявлено, что частота генотипа c.89 AA составила 64,63 %, c.89 AG – 31,44 %, c.89 GG – 3,93 %. В группе контроля частота аллеля c.89 AA *TYMS* составила 69,42 %, частоты генотипов c.89 GG – 2,89 % и c.89 AG – 27,68 %. Частота минорного аллеля c.89A>G *TYMS* (rs2790) у беременных с СЗРП составила 0,196, в группе контроля – 0,167. Частота минорного аллеля c.19C>T *TYMS* (rs699517) у беременных с СЗРП составила 0,283, в группе контроля – 0,293. Сравнительный анализ между показателями обеих групп не показал достоверных отличий.

По частоте минорных аллелей c.89A>G (rs2790) и c.19C>T гена *TYMS* у беременных с ПН и СЗРП также не было выявлено достоверных различий по сравнению с контрольной группой ($p>0,05$).

Рассмотрение ассоциаций аллелей полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием ПН и СЗРП у беременных показало, что аллель A *TYMS* rs2790 не связан с развитием ПН с СЗРП ($OR=1,22$, 95% CI 0,87–1,7, $p=0,246$, $p_{perm}=0,259$). Также не выявлена ассоциация полиморфизма C *TYMS* rs699517 с развитием ПН и СЗРП ($OR=0,95$, 95% CI 0,71–1,26, $p=0,719$, $p_{perm}=0,75$) (табл. 1).

В дальнейшем были рассмотрены ассоциации гаплотипов полиморфных локусов rs699517 и rs2790 гена *TYMS* с развитием ПН и СЗРП (табл. 2).

Рассмотренные ассоциации гаплотипов полиморфных локусов rs699517 и rs2790 гена *TYMS* не показали достоверных различий с развитием ПН и СЗРП.

Таким образом, сравнительный анализ локусов rs699517 и rs2790 гена *TYMS* фолатного цикла в формировании плацентарной недостаточности и задержки роста плода между беременными с синдромом задержки развития плода и контролем не выявил достоверных различий ($p>0,05$). По частоте минорных аллелей полиморфных локусов, ассоциации аллелей и ассоциации гаплотипов полиморфных локусов с.89A>G (rs2790) и с.19C>T (rs699517) гена *TYMS* у беременных с ПН и СЗРП также не было выявлено достоверных различий по сравнению с контрольной группой ($p>0,05$).

Таблица 1

Ассоциации аллелей полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием ПН и СЗРП у беременных

CHR	SNP	Ген	Минорный аллель	Частота минорного аллеля в основной группе	Частота минорного аллеля в контроле	OR	L95	U95	p
18	rs699517	<i>TYMS</i>	T	0,283	0,294	0,95	0,71	1,26	0,719
18	rs2790	<i>TYMS</i>	G	0,196	0,167	1,22	0,87	1,70	0,246

Примечание. OR – отношение шансов, L95 – нижняя граница 95 % доверительного интервала, U95 – верхняя граница 95% доверительного интервала, p – уровень значимости.

Таблица 2

Ассоциации гаплотипов полиморфных локусов rs699517 и rs2790 гена *TYMS* с развитием ПН и СЗРП

SNP	Гаплотип	Частота гаплотипа		OR	p
		Основная группа (n=234)	Контроль (n=243)		
rs699517 rs2790	TG	0,174	0,163	1,08	0,659
rs699517 rs2790	CG	0,022	0,008	2,46	0,092
rs699517 rs2790	TA	0,109	0,132	0,80	0,287
rs699517 rs2790	CA	0,695	0,697	0,99	0,963

Примечание. Результаты получены методом логистической регрессии с учетом коррекции на ковариаты, OR – отношение шансов, p – уровень значимости, выделены статистически значимые результаты с учетом пермутационного теста (выполнено 1 000 пермутаций).

ЛИТЕРАТУРА

1. Brien M.E., Baker B., Duval C., Gaudreault V., Jones R.L., Girard S. Alarmins at the maternal-fetal interface: involvement of inflammation in placental dysfunction and pregnancy complications 1. Can J. Physiol Pharmacol. 2019 Mar; 97(3): 206–212. doi: 10.1139/cjpp-2018-0363.
2. Salavati N., Smies M., Ganzevoort W., Charles A.K., Erwich J.J., Plösch T., Gordijn S.J. The Possible Role of Placental Morphometry in the Detection of Fetal Growth Restriction. Front Physiol. 2019 Jan 8; 9: 1884. doi: 10.3389/fphys.2018.01884.
3. Juul S.E. Avery's Diseases of the Newborn (Tenth Edition). Elsevier, 2018: 40–60.
4. Morales-Roselló J., Buongiorno S., Loscalzo G., Scarinci E., Giménez Roca L., Cañada Martínez A.J., Rosati P., Lanzzone A., Perales Marin A. Birth-weight differences at term are explained by placental dysfunction and not by maternal ethnicity. Study in newborns of first generation immigrants. J. Matern Fetal Neonatal Med. 2020 May; 6: 1–7. doi: 10.1080/14767058.2020.1755651.
5. Kalmbach R.D., Choumenkovitch S.F., Troen A.P., Jacques P.F., D'Agostino R., Selhub J. A 19-base pair deletion polymorphism in dihydrofolate reductase is associated with increased unmetabolized folic acid in plasma and decreased red blood cell folate. J. Nutr. 2008 Dec; 138(12): 2323–7. doi: 10.3945/jn.108.096404.
6. Furness D.L., Fenech M.F., Khong Y.T., Romero R., Dekker G.A. One-carbon metabolism enzyme polymorphisms and utero-placental insufficiency. Am J. Obstet Gynecol. 2008 Sep; 199(3): 276.e1–8. doi: 10.1016/j.ajog.2008.06.020.
7. Fakhira H.N., Aga S.S., Bashir A.G. Folate: Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. Gene. 2014; 533(1): 11–20.
8. Glanville T., Yates Z., Ovadia L., Walker J.J., Luccock M., Simpson N.A. Fetal folate C677T methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and low birth weight. J. Obstet Gynaecol. 2006 Jan; 26(1): 11–4. doi: 10.1080/01443610500363865.
9. Kalhan S.C., Marczewski S.E. Methionine, homocysteine, one carbon metabolism and fetal growth. Rev Endocr Metab Disord. 2012 Jun; 13(2): 109–19. doi: 10.1007/s11154-012-9215-7.
10. Kalhan S.C., Marczewski S.E. Methionine, homocysteine, one carbon metabolism and fetal growth. Rev Endocr Metab Disord. 2012 Jun; 13(2): 109–19. doi: 10.1007/s11154-012-9215-7.

ОЦЕНКА ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ КЛАСТЕРА ГЕНОВ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ В РАЗВИТИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И ТУБЕРКУЛЕЗА

И.Ж. Жалсанова

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

Аннотация

В настоящем исследовании установлены ассоциации полиморфных вариантов кластера генов *TNF* (*TNFA* (rs1800629) и *TNFB* (rs2239704) и рецептора *TNFRSF1B* (rs652625) с развитием бронхиальной астмы и туберкулеза. Выявлены различия в характере транскрипции гена *TNF*, которые могут зависеть от генотипа по варианту rs1800629 и контекста стимула иммунного ответа.

Ключевые слова: астма, туберкулез, *TNF*, полиморфизм, экспрессия гена.

POLYMORPHIC VARIANTS ASSESSMENT OF A TUMOR NECROSIS FACTOR GENES CLUSTER IN BRONCHIAL ASTHMA AND TUBERCULOSIS DEVELOPMENT

I.Zh. Zhalsanova

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

Abstract

In this study, we established polymorphic variants associations of the *TNF* gene cluster (*TNFA* (rs1800629) and *TNFB* (rs2239704) and the *TNFRSF1B* receptor (rs652625) with the bronchial asthma and tuberculosis development. We determined differences in the *TNF* gene transcription pattern, which may depend on the genotype to rs1800629 and the context of the immune response stimulus.

Key words: asthma, tuberculosis, *TNF*, polymorphism, gene expression.

Актуальность

Рост числа хронических заболеваний, включая инфекционные, аллергические и аутоиммунные болезни, является ключевой проблемой современного мирового здравоохранения. Бронхиальная астма (БА) – одно из ведущих хронических заболеваний в структуре всех болезней человека, охватывающее 6,2 млн детей в возрасте до 18 лет и 19 млн взрослых в возрасте 18 лет и старше, в результате обострения которого ежегодно погибают 2,5 млн пациентов [1, 2]. Значительный рост аллергических заболеваний связывают с высоким уровнем жизни и недостаточным микробным разнообразием [3]. В то же время микобактериальная инфекция может подавлять признаки аллергической БА [4]. Имеются эпидемиологические данные, согласно которым астма и туберкулез (ТБ) редко совместно развиваются у одного индивида [5]. В основе данного феномена могут лежать различные механизмы, в том числе регуляция экспрессии общих генов, задействованных в развитии как аллергических, так и инфекционных заболеваний [6]. В связи с этим идентификация полиморфных вариантов общих генов, задействованных в развитии как БА, так и ТБ, и последующая оценка их функциональных особенностей являются актуальной задачей.

Цель исследования – изучить полиморфные варианты генов иммунного ответа *TNFA* (rs1800629), *TNFB* (rs2239704) и рецептора *TNFRSF1B* (rs652625, rs603151) в развитии БА и ТБ.

Материал и методы

В работе изучено 250 пациентов с диагнозом «атопическая бронхиальная астма», среди них 66 мужчин (средний возраст – 40,62 года) и 184 женщины (средний возраст – 40,61 года)

с ТБ, включая первичные и вторичные формы заболевания – 421 пациент, 274 мужчины (средний возраст – 29,89 года) и 147 женщин (средний возраст – 30,09 года). Контрольная группа сформирована относительно здоровыми индивидами (n=560), включая 204 мужчины (средний возраст – 39,98 года) и 357 женщин (средний возраст – 40,12 года). Все обследованные принадлежат к славянам (преимущественно русские), проживают в г. Томске и Томской области. Протокол исследования одобрен этическим комитетом НИИ медицинской генетики (протокол № 4 от 21.11.2016 г.). От всех участников получены информированные согласия.

Генотипирование выполняли с помощью полимеразной цепной реакции ПЦР в режиме реального времени с использованием TaqMan-зондов. Последовательности праймеров и зондов приведены в табл. 1.

Для определения функционального влияния изученных полиморфизмов на транскрипционную активность соответствующих генов оценивали уровень экспрессии в стимулированных индукторами иммунного ответа культурах мононуклеаров крови у относительно здоровых доноров, дифференцированных в зависимости от генотипов (n=49). Инкубацию образцов осуществляли в течение 24 ч при +37 °C в полной питательной среде в присутствии следующих индукторов: липополисахарид (LPS)), 6,6'-Di-O-mycoloyl- α,α -trehalose *Mycobacterium bovis* (TDM) и интерферон гамма (IFN- γ), а также использовали контрольные образцы без добавления каких-либо индукторов. Экстракцию и очистку мРНК проводили сорбентно-колоночным методом. Стандартизацию концентрации мРНК (100 нг/мкл) проводили на этапе получения кДНК. Синтез кДНК на матрице мРНК проводили с использованием набора для обратной транскрипции (iScript™ cDNA Synthesis Kit). Праймеры на гены «мишени» (*TNFA*, *TNFB* и *TNFRSF1B*) и гены «домашнего хозяйства» (*GAPDH*, *ACTINB*) были подобраны с помощью on-line ресурса Primer-BLAST. RT-qPCR для каждого образца ставили в трех повторах.

Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга (PXB). Анализ ассоциации полиморфизма генов с исследуемыми заболеваниями проводился путем сравнения частот аллелей и генотипов между группами больных и здоровых индивидов с использованием двустороннего точного теста Фишера. Для оценки экспрессии генов использовали сравнительный $\Delta\Delta Cq$ метод, при котором уровень экспрессии исследуемого гена 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 в пакете программ Bio-Rad CFX Maestro.

Результаты и выводы

У здоровых индивидов для исследуемых вариантов наблюдаемые частоты генотипов соответствовали ожидаемым при распределении Харди–Вайнберга.

Значительные различия в частоте минорного аллеля А варианта rs652625 гена *TNFRSF1B* наблюдали при сравнении групп пациентов с БА (2,43 %) и ТБ (6,25 %) по сравнению со здоровыми индивидами (10,17 %) (табл. 2). Выявлена ассоциация полиморфизма rs2239704 гена *TNFB* (*LTA*) с развитием БА и ТБ. Частота аллеля С в группах пациентов с БА (50,3 %) и ТБ (51,3 %) была значительно выше, чем в контрольной группе (43,3 %) ($p=0,040$, $p=0,006$ соответственно) (см. табл. 2).

Установлены различия частот генотипов варианта rs1800629 гена *TNF* при сравнении взрослых пациентов с БА и пациентов, заболевших ТБ в детстве. Частота генотипа АА была значительно выше среди пациентов с ТБ (4,21 %) по сравнению с пациентами с БА (1,78 %) ($p=0,047$).

Уровень относительной нормализованной экспрессии гена *TNF* в культурах мононуклеаров крови изменялся в зависимости от вида стимулятора. Выраженное активирующее действие на транскрипцию гена *TNF* вызывал стимулятор иммунного ответа IFN- γ , экспрессия которого увеличивалась в 4,7 раза по сравнению с нестимулированными культурами ($p=0,0006$). Наличие аллеля А (генотипы АА+АГ) по варианту rs1800629 способствовало двукратному снижению относительной экспрессии гена *TNF* при стимуляции LPS и IFN- γ по сравнению с альтернативными гомозиготами (GG). В контрольных образцах (нестимулированных культурах мононуклеарных клеток крови здоровых доноров), наоборот, наблюдали повышение уровня мРНК в 1,8 раза у индивидов, имеющих аллель А (генотипы АА+АГ), по сравнению с носителями генотипа GG. Ген *TNF* кодирует многофункциональный провоспалительный

цитокин, который принадлежит к суперсемейству факторов некроза опухолей. TNF продуцируется различными типами клеток, включая макрофаги, моноциты, нейтрофилы, Т-клетки и NK-клетки. Этот провоспалительный цитокин является одним из ключевых иммунных регуляторов, ответственных за устойчивость к ТБ, а лекарства, блокирующие активность TNF, и мутации в этом гене приводят к увеличению риска развития ТБ [7]. С другой стороны, известно, что повышение уровня TNF приводит к утяжелению симптомов БА, а сам белок рассматривается как мишень для лекарственной терапии этого заболевания [8].

Таким образом, механизмы, реализующиеся через TNF, являются важными для аллергических и инфекционных заболеваний, что было показано с помощью выявленных ассоциаций генов кластера фактора некроза опухоли (TNF (rs1800629); TNFB (rs2239704)) и рецептора TNFRSF1B (rs652625) с развитием БА и ТБ. Полученные ассоциации полиморфизма гена TNF (rs1800629) с развитием заболеваний могут быть следствием функциональной значимости изученного варианта.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ № 15-04-05852 и Комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН (№ 0550-2018-0003).

Таблица 1

Последовательности праймеров и зондов, используемые для генотипирования

Ген (полиморфизм)	Последовательности праймеров и проб (5' - 3')	
TNFRSF1B (rs603151)	F: tctctctctcggtctctctR: ccacctctgctgtctgcatc	FAM: tgggtactgtctgtcgttcacccc HEX: tgggtactgtctgtcgttcacccc
TNFRSF1B (rs652625)	F: gtggaagcaggggacaatagtR: tgggac-ctaagcctggga	FAM: tcaagaccaatgggaccaacagact-gtHEX: tcaagaccaatgggccaacagactgt
TNF (rs1800629)	F: gaaatggaggcaataggtttgag R: ggccactgactgattgtgtgtag	FAM: ccgtctcatgcc ROX: ccgtcccatgcc
TNFB (rs2239704)	F: aaaccaaaccaccaagggc R: tctctgccccatctcctt	FAM: ctaccgccccagctgtcctgc HEX: ctaccgccccagctgtcctgc

Таблица 2

Ассоциации изученных вариантов генов с развитием заболеваний

Ген	SNP	Аллель	БА, n (%)	Контроль, n (%)	ТБ, n (%)	p ₁	p ₂
TNFB	rs2239704	Минорный аллель: C	172 (50,3)	252 (43,3)	312 (51,3)	0,040	0,006
TNFA	rs1800629	Минорный аллель: A	61 (13,2)	113 (10,9)	87 (11,6)	0,257	0,704
TNFRSF1B	rs652625	Минорный аллель: A	7 (2,4)	95 (10,2)	35 (6,3)	7,68E-06	0,010
TNFRSF1B	rs603151	Минорный аллель: C	96 (21,9)	242 (25,7)	170 (22,9)	0,139	0,209

Примечание: p₁ – уровень значимости различий при сравнении групп БА / контроль, p₂ – уровень значимости различий при сравнении групп ТБ / контроль.

ЛИТЕРАТУРА

- Zahrn H.S., Bailey C.M., Damon S.A., Garbe P.L., Breyse P.N. Vital Signs: Asthma in Children United States, 2001–2016. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2018 Feb 9; 67(5): 149–155. doi: 10.15585/mmwr.mm6705e1.
- von Mutius E. The microbial environment and its influence on asthma prevention in early life. J. Allergy Clin Immunol. 2016 Mar; 137(3): 680–9. doi: 10.1016/j.jaci.2015.12.1301.
- Smit J.J., Van Loveren H., Hoekstra M.O., Schijf M.A., Folkerts G., Nijkamp F.P. Mycobacterium vaccae administration during allergen sensitization or challenge suppresses asthmatic features. Clin Exp Allergy. 2003 Aug; 33(8): 1083–9. doi: 10.1046/j.1365-2222.2003.01727.x.
- Fekih L., Boussoffara L., Jemaa M., Fenniche S., Hassene H., Belhabib D., Megdiche M.L. Tuberculosis in patients with asthma. Rev Mal Respir. 2010 Sep; 27(7): 679–84. doi: 10.1016/j.rmr.2010.06.010.
- Жалсанова И.Ж., Брагина Е.Ю., Фрейдин М.Б., Гараева А.Ф., Колоколова О.В., Гомбоева Д.Е., Бабовская А.А., Пузырев В.П. Исследование генетических факторов в развитии дистропных болезней на примере бронхиальной астмы и туберкулеза. Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. 2018: 36–47.
- Anoosheh S., Farnia P., Kargar M. Association between TNF-Alpha (-857) Gene Polymorphism and Susceptibility to Tuberculosis. Iran Red Crescent Med J. 2011 Apr; 13(4): 243–8.
- Taillé C., Poulet C., Marchand-Adam S., Borie R., Dombret M.C., Crestani B., Aubier M. Monoclonal Anti-TNF-α Antibodies for Severe Steroid-Dependent Asthma: A Case Series. Open Respir Med J. 2013; 7: 21–5. doi: 10.2174/1874306401307010021.

ИДЕНТИФИКАЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗНАЧИМОГО ПОЛИМОРФИЗМА В ГЕНАХ МИКРОРНК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНТЕГРИРОВАННЫХ ДАННЫХ МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

А.А. Зарубин¹, К.В. Маннанова², А.В. Марков¹, А.А. Слепцов¹

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

Аннотация

Полиморфизм в структуре зрелых микроРНК сильно влияет как на их функцию, так и на точность оценки их экспрессии. В настоящей работе проведена оценка возможности извлечения генотипов микроРНК из данных miRNA-секвенирования и стабильности определяемого уровня экспрессии микроРНК при внесении изменений в референсную последовательность генома человека, используя генотипы, полученные в ходе экзомного секвенирования тех же образцов. В работе продемонстрирована возможность использования данных секвенирования микроРНК для верификации генотипов, полученных из экзомных данных. Изменения референсной последовательности генома человека отражаются на определении уровня экспрессии как корректируемой микроРНК, так и сходной по гомологии.

Ключевые слова: микроРНК, экспрессия, полиморфизм.

AN APPROACH TO IDENTIFY OF FUNCTIONALLY SIGNIFICANT POLYMORPHISM IN MIRNA GENES USING INTEGRATED MASSIVELY PARALLEL SEQUENCING DATA

A.A. Zarubin¹, K.V. Mannanova², A.V. Markov¹, A.A. Sleptcov¹

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

Abstract

The function of mature miRNAs, as well as the accuracy of their expression assessment, are strongly affected by structural polymorphisms. In this study, we evaluated the ability to extract of miRNAs genotypes from the microRNA sequencing and measured the permanency of their expression level after replacing reference genotypes onto genotypes from their exome sequencing. We indicate that the miRNA sequencing data is suitable to verify the genotypes of exome sequencing data. Replacement of a reference genotype of miRNA influences their expression level as well as other close homology miRNAs.

Key words: miRNA, expression, polymorphism.

МикроРНК – это короткие (16–28 нуклеотидов) одноцепочечные РНК, выполняющие роль регуляторов экспрессии генов через механизм РНК интерференции [1]. Последовательность генов микроРНК консервативна, тем не менее она может содержать ряд полиморфных вариантов, встречающихся с высокой частотой в разных популяциях (согласно базе gnomAD). Однако ввиду малых размеров зрелой микроРНК единственная замена способна кардинально повлиять как на уровень её экспрессии, так и на функциональную характеристику в целом. Кроме того, полиморфные варианты создают сложности при выравнивании микроРНК на референсную последовательность генома. Одним из подходов к разрешению данной задачи является использование альтернативных генотипов в референсной последовательности [2]. Данный подход имеет ряд ограничений. Так, редкие полиморфные варианты не всегда могут быть учтены. Кроме того, выравнивание прочтений или «ридов» только на зрелые

последовательности микроРНК может приводить к ложному выравниванию «ридов» из других последовательностей РНК (рРНК, тРНК, У-РНК и т. д.). Возможным решением этой проблемы является использование фактической последовательности генома объекта исследования вместо референсного. Предполагается, что в этом случае уместно использовать данные секвенирования микроРНК, а также данные иных методов секвенирования.

Цель исследования – оценить возможность использования данных микроРНК секвенирования для идентификации полиморфных вариантов в генах микроРНК с последующей их верификацией по данным экзомного секвенирования. Определить характер изменений уровня экспрессии микроРНК при коррекции референсной последовательности генома.

Материал и методы

С этой целью использовались 7 образцов тканей сонной артерии, полученных в ходе каротидной эндартерэктомии. Образцы ДНК и РНК получены от каждой ткани. Библиотеки для экзомного секвенирования приготовлены с использованием Agilent SureSelect Clinical Research Exome V1 и секвенированы в режиме 2×150 п.н. Результаты экзомного секвенирования обработаны согласно алгоритму GATK Best Practices для анализа однонуклеотидных полиморфизмов и коротких инсерций и делеций. Библиотеки для микроРНК секвенирования были приготовлены с использованием набора NEBNext Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina. Секвенирование библиотек проводилось на приборе HiSeq 1500 в режиме 1×50 п.н. Тримминг адаптеров проводили с использованием программы Trimmomatic, выравнивание прочтений на референсный геном человека (сборка hg38) – с использованием BWA-MEM с пониженными требованиями по длине и количеству требуемых совпадений. Оценка экспрессии микроРНК выполнена с использованием программы miARma-Seq. Статистический анализ проводился в программной среде R.

Результаты и обсуждение

По данным микроРНК секвенирования в совокупности обнаружено 742 полиморфных варианта, по данным экзомного секвенирования – 867 819, из них общими являлись 163 варианта. Сравнение общих генотипов без фильтрации по уровню покрытия показало, что из 1 141 пары сравнений (163 варианта × 7 образцов) 431 генотип совпадал, 88 – не совпадали, а остальные не содержали «ридов» в области анализируемого полиморфизма хотя бы у одного образца из пары сравнения. При фильтрации на уровне 10х 118 генотипов совпадали, а 15 не совпадали. Во всех несовпадающих парах гетерозиготная позиция при экзомном секвенировании определялась как гомозиготная при секвенировании микроРНК. На последовательности зрелых микроРНК (согласно базе miRBase v22.1) приходилось 117 генетических вариантов по данным экзомного секвенирования и ни одного варианта по данным секвенирования микроРНК. Это может быть связано с тем, что прочтения, несущие полиморфный вариант, не могут быть корректно картированы на целевую микроРНК. Для проверки этой гипотезы мы внесли в референсные последовательности генов микроРНК изменения, выявленные в результате экзомного секвенирования, и повторили процесс выравнивания прочтений, полученных в результате секвенирования микроРНК. Коррекция референсных последовательностей позволила обнаружить 3 полиморфных варианта (rs12473206, rs515924, rs2155248) в генах микроРНК (MIR4433A, MIR548AL, MIR1304). Несмотря на то, что аллельные варианты были определены в гомозиготном состоянии, можно сделать вывод, что данные позиции в образцах находятся в гетерозиготном состоянии, так как в случае использования референсной последовательности генома они также находились в гомозиготном состоянии, но содержали альтернативный аллель. Это свидетельствует в пользу предположения о том, что наличие полиморфных вариантов в последовательности микроРНК приводит к неверному выравниванию прочтений. Помимо этого, были отмечены изменения в значениях оцениваемого уровня экспрессии микроРНК. Однако статистически значимые различия уровня экспрессии при коррекции референса были найдены только для двух микроРНК: miR-1304-3p и miR-10527-5p (рис. 1), при этом стоит отметить, что ген зрелой miR-1304-3p содержал изменённый полиморфный вариант, а ген зрелой miR-10527-5p нет.

Выводы

Использование данных секвенирования микроРНК и стандартного набора референсных последовательностей микроРНК из базы данных miRBase для идентификации полиморфных вариантов в генах микроРНК имеет низкую точность ввиду малой длины «ридов». Рекомендуется валидация последовательностей микроРНК путем использования дополнительных сведений о генотипе объектов исследования. Коррекция референсной последовательности генома приводит к изменению уровня экспрессии как корректируемой микроРНК, так и сходной по гомологии.

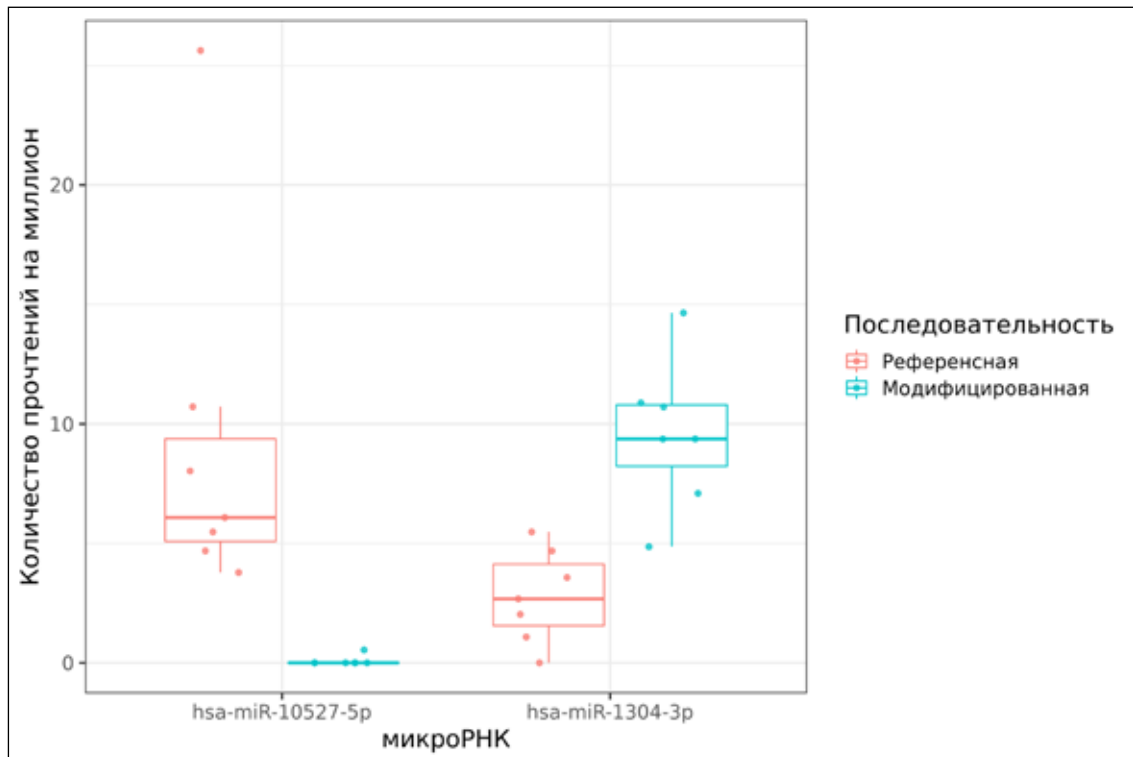


Рис. 1. Уровень экспрессии микроРНК до и после коррекции референсной последовательности генома

ЛИТЕРАТУРА

1. Lindsay M.A. microRNAs and the immune response. Trends Immunol. 2008 Jul; 29(7): 343–51. doi: 10.1016/j.it.2008.04.004.
2. Wang Y., Ru J., Jin T., Sun M., Jia L., Sun G. An Approach to Identify Individual Functional Single Nucleotide Polymorphisms and Isoform MicroRNAs. Biomed Res Int. 2019 Jul 30; 2019: 6193673. doi: 10.1155/2019/6193673.

ИЗУЧЕНИЕ ВОВЛЕЧЕННОСТИ ГЕНОВ ГАМК-ЕРГИЧЕСКОЙ, ОПИОИДНОЙ СИСТЕМ И НЕЙРОПЕПТИДОВ В РАЗВИТИЕ ХРОНИЧЕСКОГО АЛКОГОЛИЗМА В КРОССКУЛЬТУРНОМ КОНТЕКСТЕ

А.В. Казанцева, Г.Г. Фасхутдинова, Р.Ф. Еникеева, Ю.Д. Давыдова

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа, Россия

Аннотация

Несмотря на большое количество исследований, посвященных выявлению генетической компоненты в развитии алкогольной зависимости, результаты их зачастую являются противоречивыми, что может быть обусловлено различиями в используемых выборках, диктующие проведение ассоциативных работ с включением различных взаимодействующих систем генов, а также индивидуальных клинических особенностей. Целью настоящего исследования являлась оценка основного эффекта полиморфных локусов генов ГАМК-ергической (*GABRA2*), опиоидной системы (*OPRM1*) и нейропептидов (*PDYN*, *NPY*) в развитие хронического алкоголизма в кросскультурном контексте с учетом средовых факторов и клинических особенностей развития заболевания. В результате логистического регрессионного анализа был выявлен этноспецифичный характер ассоциации полиморфных вариантов генов *GABRA2* (rs279858) и *OPRM1* (rs1799971) с развитием хронического алкоголизма, что усиливается при наличии

семейной отягощенности психопатологиями и черепно-мозговых травм в анамнезе, а также в случае отягощенности хронического алкоголизма острым алкогольным психозом.

Ключевые слова: хронический алкоголизм, гены-кандидаты, ГАМК, опиоидная система, продинорфин, анализ ассоциаций, логистическая регрессия, ген-средовые взаимодействия.

THE ANALYSIS OF GABAERGIC, OPIOID SYSTEM AND NEUROPEPTIDE GENE VARIANTS IN DEVELOPING ALCOHOL ADDICTION IN CROSS-CULTURAL CONTEXT

A.V. Kazantseva, G.G. Faskhutdinova, R.F. Enikeeva, Yu.D. Davydova

Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

Abstract

Despite multiple studies examining the genetic component in developing alcohol addiction, their results are frequently contradictory, which may be due to samples differences, which points to the necessity of association studies based on various gene-gene interactions together with individual clinical parameters. The present study aimed to estimate the main effect of GABAergic (*GABRA2*), opioid (*OPRM1*) and neuropeptides (*PDYN*, *NPY*) system genes on the development of chronic alcoholism in a cross-cultural context controlling for the environmental factors and clinical characteristics in disease development. As a result of logistic regression analysis, ethnicity-specific association of *GABRA2* (rs279858) and *OPRM1* (rs1799971) gene polymorphisms with chronic alcoholism was revealed, which was enhanced in the case of familial history of psychopathologies, traumatic brain injuries, and the cases with acute alcoholic psychosis.

Key words: alcohol addiction, candidate genes, GABA, opioid system, prodynorphin, association analysis, logistic regression, gene-by-environment interaction.

Актуальность

Согласно мировой статистике алкогольная зависимость входит в первую десятку причин смертности и представляет важную социальную проблему в большинстве стран мира. Обширная информация, полученная в результате семейных, близнецовых исследований, метода приёмных детей, свидетельствует о значительной роли генетических факторов в возникновении зависимости от алкоголя. Несмотря на большое количество генетических исследований алкогольной зависимости, проведенных с использованием полногеномного анализа ассоциаций (GWAS), результаты их зачастую противоречивы [1]. В определенной степени это обусловлено различиями в используемых выборках, включая клиническую гетерогенность, а также вариации этнического и гендерного состава. Кроме того, индивидуальные психологические свойства, особенности детско-родительских отношений, стрессовая устойчивость и ряд других факторов могут оказывать не прямое, а косвенное воздействие на регуляцию эпигенетического паттерна в онтогенезе [2, 3], приводя, таким образом, к развитию алкогольной зависимости. Кроме того, развитие алкоголизма как многофакторной патологии обусловлено как взаимодействием множества генов, вносящих небольшой эффект, так и ген-средовыми взаимодействиями.

В последние годы все большее число работ в этой области сфокусировано на оценке индивидуальных вариаций в генах ГАМК-ергической системы (включая гены ГАМК-рецепторов) вследствие ее участия в механизмах формирования алкогольной зависимости и феномене отмены этанола. В частности, хромосомный регион 4p12 содержит ген *GABRA2*, кодирующий А субъединицу ГАМК-рецептора, полиморфные варианты в котором были ассоциированы с риском развития алкоголизма [4]. Кроме того, интерес при изучении этиопатогенеза алкогольной зависимости приобретают гены опиоидной системы, в частности, ген μ -опиоидного рецептора (*OPRM1*) вследствие его вовлеченности в регуляцию индивидуальной чувствительности к опиатам [5]. К настоящему времени известны работы, указывающие на важную роль нейропептидов (продинорфина, *PDYN* и нейропептида гамма (*NPY*)) в формировании алкоголизма, поскольку продинорфин является эндогенным лигандом к κ -опиоидным рецепторам [6], а нейропептид гамма модулирует нейробиологический ответ на прием алкоголя [7]. Исходя из вышесказанного, гены, кодирующие белки ГАМК-ергической (*GABRA2*),

опиоидной системы (*OPRM1*) и нейропептидов (*PDYN*, *NPY*), представляют интерес при изучении генетического компонента, опосредующего формирование индивидуальной предрасположенности к развитию алкогольной зависимости.

Цель исследования – оценка основного эффекта полиморфных локусов генов ГАМК-ергической (*GABRA2*), опиоидной системы (*OPRM1*) и нейропептидов (*PDYN*, *NPY*) в развитие хронического алкоголизма в кросскультурном контексте с учетом средовых факторов и клинических особенностей развития заболевания.

Материал и методы

Группу больных с алкогольной зависимостью (хронический алкоголизм (ХА) II стадии, МКБ-10) составили 439 индивидов (12 % женщин) русской (N=202), татарской (N=140), башкирской этнической принадлежности (N=97) в возрасте от 28 до 60 лет. Контрольная группа включала 254 здоровых донора (12 % женщин), соответствующих по возрасту (средний возраст $37,10 \pm 18,38$ года), полу и этнической принадлежности (117 русских, 91 татар и 45 башкир) выборкам пациентов, не состоявших на учете у психиатра и отрицавших наличие у себя наследственной отягощенности по психическим заболеваниям. От всех обследованных лиц было получено информированное согласие на участие в исследовании после ознакомления с процедурой эксперимента. Данное исследование было одобрено локальным биоэтическим комитетом ИБГ УФИЦ РАН.

ДНК была выделена из лимфоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфных вариантов генов *GABRA2* (rs279858, rs495818), *PDYN* (rs1997794, rs6045868), *OPRM1* (rs1799971), *NPY* (rs16139) проводили методом ПЦР с флуоресцентной детекцией (FLASH/RTAS, ФГУП «ГосНИИгенетика», Москва) на амплификаторе «CFX96» (Bio-Rad, США) с возможностью проведения анализа флуоресценции по конечной точке.

Статистическая обработка результатов генотипирования включала проверку соответствия распределению Харди–Вайнберга и анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов с риском развития ХА, который проводился с использованием точного критерия Фишера и моделей логистической регрессии (PLINK v.1.09). На втором этапе анализа для оценки эффекта социодемографических и клинических параметров (возраст, половая и этническая принадлежность, семейная отягощенность психическими расстройствами, возраст первой пробы алкоголя, начало злоупотребления алкоголем, появления абстинентного синдрома, наличие черепно-мозговой травмы в преморбиде), модулирующего ассоциацию между генетическим компонентом и развитием ХА, была проведена серия логистических регрессионных анализов, в которые наряду с генетическими вариантами в качестве независимых переменных были включены вышеуказанные факторы (PLINK v.1.09). В качестве коррекции на множественность сравнений была проведена процедура FDR (PLINK v.1.09).

Результаты и обсуждение

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов *GABRA2* (rs279858, rs495818), *PDYN* (rs1997794, rs6045868), *OPRM1* (rs1799971), *NPY* (rs16139) соответствовало распределению Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Поскольку нами не было выявлено статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов изученных локусов между индивидами различной этнической принадлежности ($p > 0,05$), анализ ассоциаций был проведен как в общей выборке, так и с включением этнической и половой принадлежности как ковариат в анализ логистической регрессии.

В результате анализа ассоциаций изученных полиморфных локусов с риском развития ХА в общей выборке были выявлены статистически значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs279858 в гене *GABRA2* между индивидами с ХА и контрольной группой в общей выборке ($\chi^2 = 8,02$; $p = 0,004$; $p_{FDR} = 0,027$), среди пациентов с ХА без острого алкогольного психоза (ОАП) ($\chi^2 = 8,38$; $p = 0,004$; $p_{FDR} = 0,022$), а также среди индивидов татарской этнической принадлежности ($\chi^2 = 4,97$; $p = 0,025$; $p_{FDR} = 0,128$). Однако последняя ассоциация не достигла уровня статистической значимости после введения поправки на множественность сравнений. При учете наличия семейной отягощенности психопатологиями и черепно-мозговых травм в преморбиде сила ассоциации полиморфного варианта rs279858 в гене *GABRA2* с развитием ХА возросла ($\chi^2 = 11,03$; $p = 0,0008$; $p_{FDR} = 0,005$ у лиц с ХА с семейной отягощенностью; $\chi^2 = 7,89$; $p = 0,005$; $p_{FDR} = 0,029$ у индивидов с ХА с ЧМТ). При введении половой и этнической принадлежности как ковариат в аддитивную модель логистической регрессии было показано, что повышенный риск развития ХА характерен для носителей минорного аллеля rs279858*С (OR = 1,49 в общей выборке; OR = 1,77 среди пациентов с ХА без ОАП; OR = 1,79 у лиц с ХА с семейной отягощенностью;

OR = 1,64 у индивидов с ХА с ЧМТ) по сравнению с носителями генотипа rs279858*T/T. Полученные нами данные согласуются с опубликованными ранее, продемонстрировавшими ассоциацию минорного аллеля rs279858*С с риском развития алкоголизма [4]. Причем данный аллель коррелировал со значительно более низким уровнем мРНК *GABRA2* и целого кластера проксимальных генов в нейрональных клеточных культурах, в то время как в кортикальных тканях взрослого мозга (postmortem) таких различий выявлено не было [4]. Это наблюдение указывает на возможный эффект вариантов гена *GABRA2* в регуляцию ГАМК-ергического функционирования во время нейронального развития.

Этноспецифический эффект ассоциации полиморфного варианта rs1799971 (G118A, Asp40Asn) в гене *OPRM1* с развитием алкогольной зависимости был обнаружен в группе индивидов башкирской этнической принадлежности ($\chi^2 = 6,01$; $p = 0,014$; $p_{FDR} = 0,071$), а также у лиц с ХА с ЧМТ ($\chi^2 = 5,52$; $p = 0,018$; $p_{FDR} = 0,049$), свидетельствуя в пользу пониженного риска развития ХА у носителей минорного аллеля rs1799971*G (OR = 0,49 у башкир; OR = 0,54 у лиц с ХА с ЧМТ) по сравнению с носителями генотипа rs1799971*A/A. По результатам систематизации опубликованных данных, вовлекающих данный полиморфный локус в гене *OPRM1*, была показана ассоциация минорного аллеля rs1799971*G (кодирующего Asp40) со снижением количества приема алкоголя в день [8], что в определенной мере согласуется с полученными нами результатами. Стоит отметить, что ассоциированный полиморфный локус является функционально значимым, поскольку было показано дифференциальное ингибирование синаптической трансмиссии в индуцированных нейрональных клетках при наличии белка с Asp40 (соответствует аллелю G) [5].

При проведении анализа эпистатических взаимодействий между изученными полиморфными локусами были детектированы взаимодействия генов *OPRM1* (rs1799971) и *PDYN* (rs6045868) ($p = 0,039$; OR = 1,67), минорные аллели которых ассоциированы с более высоким риском формирования алкогольной зависимости. Несмотря на то, что продинорфин представляет собой эндогенный лиганд для к-опиоидных рецепторов, возможно опосредованное влияние белковых продуктов генов *OPRM1* и *PDYN* на формирование алкогольной зависимости.

Выводы

Исходя из полученных данных, можно заключить, что существует этноспецифичный характер ассоциации полиморфных вариантов генов *GABRA2* (rs279858) и *OPRM1* (rs1799971) с развитием хронического алкоголизма, которая усиливается при наличии семейной отягощенности психопатологиями и черепно-мозговых травм в анамнезе, а также в случае отягощенности хронического алкоголизма острым алкогольным психозом.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (№ АААА-А16-116020350032-1) при частичной поддержке гранта РФФИ-офи-м (№ 17-29-02195). Образцы ДНК взяты из ЦКП «Коллекция биологических материалов человека» ИБГ УФИЦ РАН, поддержанного Программой биоресурсных коллекций ФАНО России (соглашение № 007-030164/2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Hart A.B., Kranzler H.R. Alcohol Dependence Genetics: Lessons Learned From Genome-Wide Association Studies (GWAS) and Post-GWAS Analyses. *Alcohol Clin Exp Res.* 2015 Aug; 39(8): 1312–27. doi: 10.1111/acer.12792.
2. Мустафин Р.Н., Казанцева А.В., Еникеева Р.Ф., Давыдова Ю.Д., Карунас А.С., Малых С.Б., Хуснутдинова Э.К. Эпигенетика агрессивного поведения. *Генетика.* 2019; 55(9): 987–997.
3. Kazantseva A., Gaysina D., Kutlumbetova Y., Kanzaferova R., Malykh S., Lobaskova M., Khusnutdinova E. Brain derived neurotrophic factor gene (BDNF) and personality traits: the modifying effect of season of birth and sex. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2015 Jan 2; 56: 58–65. doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.08.001.
4. Lieberman R., Kranzler H.R., Joshi P., Shin D.G., Covault J. GABRA2 Alcohol Dependence Risk Allele is Associated with Reduced Expression of Chromosome 4p12 GABAA Subunit Genes in Human Neural Cultures. *Alcohol Clin Exp Res.* 2015 Sep; 39(9): 1654–64. doi: 10.1111/acer.12807.
5. Halikere A., Popova D., Scarnati M.S., Hamod A., Swerdel M.R., Moore J.C., Tischfield J.A., Hart R.P., Pang Z.P. Addiction associated N40D mu-opioid receptor variant modulates synaptic function in human neurons. *Mol Psychiatry.* 2020 Jul; 25(7): 1406–1419. doi: 10.1038/s41380-019-0507-0.
6. Bazov I., Sarkisyan D., Kononenko O., Watanabe H., Karpyak V.M., Yakovleva T., Bakalkin G. Downregulation of the neuronal opioid gene expression concomitantly with neuronal decline in dorsolateral prefrontal cortex of human alcoholics. *Transl Psychiatry.* 2018 Jun 20; 8(1): 122. doi: 10.1038/s41398-017-0075-5.
7. Robinson S.L., Thiele T.E. The Role of Neuropeptide Y (NPY) in Alcohol and Drug Abuse Disorders. *Int Rev Neurobiol.* 2017; 136: 177–197. doi: 10.1016/bs.irm.2017.06.005.
8. Hartwell E.E., Feinn R., Morris P.E., Gelernter J., Krystal J., Arias A.J., Hoffman M., Petrakis I., Gueorguieva R., Schacht J.P., Oslin D., Anton R.F., Kranzler H.R. Systematic review and meta-analysis of the moderating effect of rs1799971 in OPRM1, the mu-opioid receptor gene, on response to naltrexone treatment of alcohol use disorder. *Addiction.* 2020 Jan 21. doi: 10.1111/add.14975.

РАЗЛИЧИЯ ПО УРОВНЮ ИНБРИДИНГА В ПОПУЛЯЦИЯХ СИБИРИ: АНАЛИЗ РЕГИОНОВ ВЫСОКОЙ ГОМОЗИГОТНОСТИ

Н.А. Колесников, В.Н. Харьков, А.А. Зарубин, В.А. Степанов

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

Аннотация

Анализ геномных данных (~907 750 аутомомных SNP) позволил оценить уровень инбридинга на основе анализа регионов высокой гомозиготности (F_{ROH}) в выборке из 421 человека 18 коренных народов Сибири. Данные были получены с помощью биочипов Infinium Multi-Ethnic Global-8 Kit. В результате в популяциях коренного населения Сибири количество и суммарная длина ROH, а также коэффициент F_{ROH} показывают значительное разнообразие как внутри, так и между исследованными популяциями. Для нивхов, чукчей и коряков наблюдаются одни из самых высоких значений коэффициента инбридинга ($F_{ROH} > 1,5$) по сравнению с остальными мировыми популяциями.

Ключевые слова: популяционная генетика, Сибирь, регионы высокой гомозиготности, популяции человека, инбридинг.

DIFFERENCES IN THE LEVEL OF INBREEDING IN THE POPULATIONS OF SIBERIA: ANALYSIS OF RUNS OF HOMOZYGOSITY

N.A. Kolesnikov, V.N. Kharkov, A.A. Zarubin, V.A. Stepanov

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

Abstract

The genomic data analysis (~907 750 autosomal SNPs) allowed us to estimate the inbreeding level based on the analysis of runs of homozygosity (F_{ROH}) in the group of 421 people from 18 indigenous Siberia peoples. Data was obtained using biochips Infinium Multi-Ethnic Global-8 Kit. One of the highest values of the inbreeding coefficient ($F_{ROH} > 1.5\text{Mb}$) is observed for the Nivkhs, Chukchi, and Koryaks, as compared with the other world populations.

Key words: population genetics, ROH, runs of homozygosity, human populations, Siberia, inbreeding.

Введение

Коэффициент инбридинга F – один из основных параметров популяционной генетики. Важным этапом для его определения является обнаружение регионов высокой гомозиготности (ROH). Общий суммарный размер длинных ROH показывает большие межиндивидуальные вариации, которые отражают события недавнего инбридинга. Регионы высокой гомозиготности связаны и с эффективным размером популяции, поскольку к накоплению большего числа ROH имеют тенденцию относительно небольшие популяции. Инбридинг добавляет небольшое количество очень длинных ROH, тогда как эффект «бутылочного горлышка» увеличивают количество ROH, которые, как правило, остаются короткими [1]. Анализ доли генома в виде ROH определенной длины дает информацию об уровне инбридинга в предковой популяции.

Современные методы исследования на основе высокоплотных чипов позволяют проанализировать генетико-демографические процессы, в том числе инбридинг на геномном уровне и эффект «бутылочного горлышка». Для популяций из различных регионов показаны разные значения инбридинга [2]. Популяции коренного населения Сибири характеризуются, как правило, небольшой численностью и значительной географической изоляцией от других популяций, что находит отражение в структуре их генетического разнообразия [3].

В отличие от F (коэффициент инбридинга) оценки F_{ROH} могут потенциально более точно оценить фактический процент генома, который является аутозиготным, включая аутозиготность, возникшую у очень отдаленного общего предка, например более 50 поколений назад [4, 5].

Таким образом, уровень инбридинга является информативным в отношении генетико-демографических процессов в популяции, а также может быть связан и распространенностью генетических заболеваний. Следовательно, надежная оценка уровней инбридинга имеет значение для генетики популяций человека.

Цель работы – оценить степень инбридинга в популяциях у коренных народов Сибири с использованием ROH.

Материал и методы

Данные были получены с помощью биочипов Infinium Multi-Ethnic Global-8 Kit на выборке из 421 человека. Популяции коренного населения Сибири представлены: алтайцами (Б – с. Бешпельтир, $N = 24$ и К – с. Кулада, $N = 25$), бурятами (А – п. Агинское, $N = 23$ и К – с. Курумкан, $N = 28$), калмыками ($N = 29$), кетами ($N = 15$), коряками ($N = 20$), нивхами ($N = 13$), татарами (г. Томск, $N = 20$), тувинцами ($N = 28$), удэгейцами ($N = 15$), хакасами (Т – сагайцами, $N = 29$ и Ш – качинцами, $N = 26$), чукчами ($N = 25$), чулымцами ($N = 22$), эвенками (З – забайкальские, $N = 25$ и Я – якутские, $N = 28$), якутами ($N = 26$).

Из анализа были исключены образцы, имеющие более 5 % пропущенных позиций, а также SNP с более чем 10 % отсутствующими генотипами. Были исключены все позиции делеций и инсерций. В итоге осталось 907 750 SNP. Фазирующие генотипов было выполнено с помощью программного пакета Beagle 4.1 [6].

Весь анализ был выполнен с учетом трех различных наборов ROH, полученных в PLINK v1.9 [7], идентифицированных с учетом минимальной длины 500, 1,5 и 5 Мб.

Чтобы проанализировать ROH, учитывая их предположительный возраст возникновения, мы также использовали программу Garlic [8], включающую метод, основанный на вероятностной модели [1], для вывода ROH в классах с А-«коротким», В-«средним» и С-«длинным» размерами. Для анализа ROH в Garlic указали следующие параметры: `--build hg19 --error 0.001 --win-size 40 --auto-win-size --auto-win-size-step 2 --kde-subsample 0 --ld-subsample 0 --resample 40`.

Для сравнения данных полученные результаты были обобщены путем расчета средних значений количества и совокупной длины ROH на человека для каждой популяции. Статистический анализ проводился в среде R. Статистическую значимость межпопуляционных различий оценивали при помощи теста Вилкоксона, используя функцию *wilcox.test*. Для коррекции уровня значимости по причине множественных сравнений использовалась поправка Бонферрони (уровень значимости = 0,05).

Для расчета наблюдаемого процента F_{ROH} у каждого индивидуума размеры областей ROH, превышающих 1,5 Мб (исключая половые хромосомы), суммировали и затем делили на общую длину аутосом, за исключением центромер (2708,613716 Mb для hg18).

Результаты и выводы

Во всех популяциях границы А–В классов лежат от 305 538 до 417 367 п.н. со средним значением 366 961 п.н. и SD 7 278 п.н. Границы В–С классов лежат в 942 650, 1 553 830 п.н. со средним значением 1 260 151 и SD 38 326 п.н.

Наибольшим коэффициентом геномного инбридинга для длин ROH > 1,5 Мб обладают популяции нивхов ($F_{\text{ROH}} = 0,0389$), чукчей ($F_{\text{ROH}} = 0,0431$) и коряков ($F_{\text{ROH}} = 0,0446$). Наименьшим коэффициентом инбридинга обладают калмыки ($F_{\text{ROH}} = 0,0080$), татары ($F_{\text{ROH}} = 0,0093$) и буряты (А) ($F_{\text{ROH}} = 0,0139$). Для остальных популяций наблюдается разброс в диапазоне значений F_{ROH} от 0,0170 до 0,0340.

Для чукчей, коряков, нивхов наблюдается значительное увеличение суммарной длины среднего класса ROH на человека как по сравнению с остальными популяциями, так и по сравнению с классом коротких ROH внутри популяции, что говорит о продолжительном инбридинге, малой эффективной численности и географической изоляции популяций. Для бурят (А) также характерно увеличение суммарной длины среднего класса ROH, но в большей степени не из-за длины фрагментов, а из-за их количества, что говорит об эффекте «бутылочного горлышка» в прошлом.

Популяции коренного населения Сибири по среднему количеству и средней суммарной длине ROH размером более 1,5 Мб образуют несколько крайних по значениям групп. В первую группу входят коряки, чукчи и нивхи, для них наблюдается наибольшее количество и длина ROH, во вторую – татары и калмыки с наименьшим количеством и длиной.

Остальные популяции разделяются на две группы за исключением удэгейцев, занимающих промежуточное положение (рис. 1).

В целом популяции коренного населения Сибири сильно различаются по общему количеству и длине ROH, что говорит о том, что в прошлом они испытывали разные степени изоляции и / или изменения численности населения.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90101.

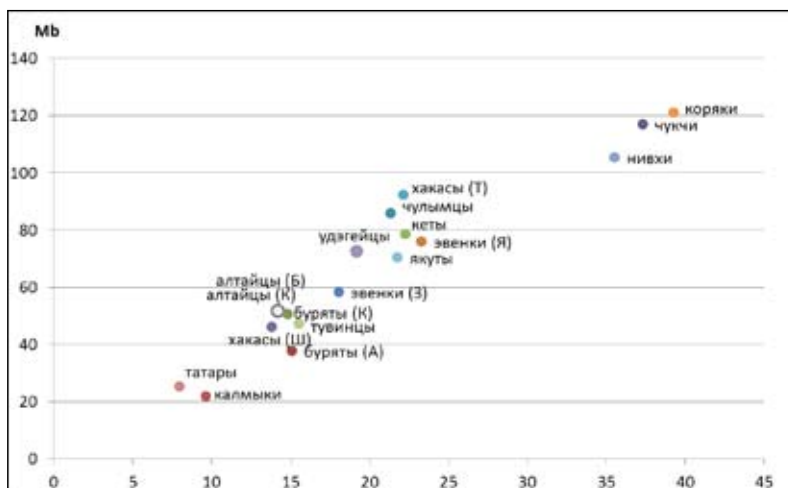


Рис. 1. Отношение средней общей длины ROH (Мб) к среднему общему числу ROH в исследуемых популяциях для ROH>1,5 Мб

ЛИТЕРАТУРА

1. Pemberton T.J., Absher D., Feldman M.W., Myers R.M., Rosenberg N.A., Li J.Z. Genomic patterns of homozygosity in worldwide human populations. *Am J. Hum. Genet.* 2012 Aug 10; 91(2): 275–92. doi: 10.1016/j.ajhg.2012.06.014.
2. Ceballos F.C., Joshi P.K., Clark D.W., Ramsay M., Wilson J.F. Runs of homozygosity: windows into population history and trait architecture. *Nat Rev Genet.* 2018 Apr; 19(4): 220–234. doi: 10.1038/nrg.2017.109.
3. Колесников Н.А., Харьков В.Н., Зарубин А.А., Степанов В.А. Особенности распределения регионов высокой гомозиготности в геномах представителей коренного населения Северной Евразии. *Генетика.* 2019; 55(10): 1231–1236.
4. McQuillan R., Leutenegger A.L., Abdel-Rahman R., Franklin C.S., Pericic M., Barac-Lauc L., Smolej-Narancic N., Janicijevic B., Polasek O., Tenesa A., Macleod A.K., Farrington S.M., Rudan P., Hayward C., Vitart V., Rudan I., Wild S.H., Dunlop M.G., Wright A.F., Campbell H., Wilson J.F. Runs of homozygosity in European populations. *Am J. Hum. Genet.* 2008 Sep; 83(3): 359–72. doi: 10.1016/j.ajhg.2008.08.007.
5. Lemes R.B., Nunes K., Carnavalli J.E.P., Kimura L., Mingroni-Netto R.C., Meyer D., Otto P.A. Inbreeding estimates in human populations: Applying new approaches to an admixed Brazilian isolate. *PLoS One.* 2018 Apr 24; 13(4): e0196360. doi: 10.1371/journal.pone.0196360.
6. Browning S.R., Browning B.L. Rapid and accurate haplotype phasing and missing-data inference for whole-genome association studies by use of localized haplotype clustering. *Am J. Hum. Genet.* 2007 Nov; 81(5): 1084–97. doi: 10.1086/521987.
7. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M.A., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P.I., Daly M.J., Sham P.C. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J. Hum. Genet.* 2007 Sep; 81(3): 559–75. doi: 10.1086/519795.
8. Szpiech Z.A., Blant A., Pemberton T.J. GARLIC: Genomic Autozygosity Regions Likelihood-based Inference and Classification. *Bioinformatics.* 2017 Jul 1; 33(13): 2059–2062. doi: 10.1093/bioinformatics/btx102.

АНАЛИЗ УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРЕДПОЛАГАЕМОГО ПРОМОТОРНОГО РЕГИОНА ГЕНА *MIR21* У ПАЦИЕНТОВ С АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ АРТЕРИЙ

Ю.А. Королёва¹, А.В. Марков¹, А.А. Слепцов¹, А.А. Зарубин¹,
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

Согласно литературным данным, в тканях артерий, поражённых атеросклерозом, значительно усиливается экспрессия микроРНК *miR-21*, что может быть связано с вариабельностью метилирования CpG-сайтов промоторного региона гена *MIR21*. Мы проанализировали уровень метилирования в предполагаемом промоторном регионе гена *MIR21* в тканях сосудов и лейкоцитах периферической крови у пациентов с клинически выраженным атеросклерозом артерий методами таргетного бисульфитного секвенирования и пиросеквенирования. В качестве контроля были использованы лейкоциты периферической крови относительно здоровых индивидов. Мы выявили, что все последовательные CpG-сайты гена *MIR21* на участке от chr17:57,915,593 до chr17:57,915,888 (GRCh37/hg19) включительно гипометилированы в тканях сосудов независимо от их типа и наличия атеросклеротического поражения по сравнению с лейкоцитами как пациентов, так и контрольной группы. При этом уровень метилирования всех исследованных CpG-сайтов гена *MIR21* не различался, с одной стороны, между тканями атеросклеротических бляшек, непоражённых артерий и вен у пациентов с атеросклерозом, и, с другой стороны, между лейкоцитами периферической крови пациентов и индивидов контрольной группы. Следовательно, уровень метилирования предполагаемого промоторного региона гена *MIR21* тканеспецифичен. В то же время отсутствие значимых различий в метилировании ДНК между тканями поражённых и не поражённых атеросклерозом артерий не позволяет говорить о связи уровня метилирования исследуемого региона с атеросклерозом артерий. Таким образом, мы показали тканеспецифичность метилирования предполагаемого промоторного региона гена *MIR21* на участке chr17:57,915,593–57,915,888, но не его связь с заболеванием.

Ключевые слова: CpG-сайт, *MIR21*, атеросклероз, лейкоциты, метилирование ДНК, микроРНК, сосуды, тканеспецифичность.

ANALYSIS OF DNA METHYLATION LEVEL OF PUTATIVE PROMOTER OF *MIR21* GENE IN PATIENTS WITH ATHEROSCLEROSIS

Yu.A. Koroleva¹, A.V. Markov¹, A.A. Sleptsov¹, A.A. Zarubin¹, 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 Budgetary Scientific Institution «Research Institute for Complex
Problems of Cardiovascular Diseases», Kemerovo, Russia²

Abstract

According to the literature, in the tissue of atherosclerotic arteries significantly increases the expression of *miR-21*, which may be related to the methylation variability of CpG-sites of the *MIR21* promoter region. We analyzed the DNA methylation level in the putative promoter region of *MIR21* gene in the vascular tissues and leukocytes of peripheral blood in patients with clinically significant atherosclerosis by the targeted bisulfite sequencing and pyrosequencing. Peripheral blood leukocytes of relatively healthy individuals were used as controls. We found that all sequential CpG-sites of *MIR21* gene in the region from chr17:57,915,593 to chr17:57,915,888 (GRCh37/hg19) were hypomethylated in the vessels regardless of their type and presence of atherosclerotic lesions as compared to the leukocytes (of both patients and controls). However, the methylation level of all CpG-sites of *MIR21* gene did not differ, on the one hand, between the tissues of intact arteries and veins in patients with atherosclerosis, and on the other hand, between blood leukocytes of the patients and leukocytes of healthy individuals. Therefore, *MIR21* gene methylation is tissue specific at least in the studied region. At the same time, the absence of statistically significant differences in DNA methylation between the tissues of atherosclerotic and intact arteries does not allow us to speak about the association between the DNA methylation level of the analyzed region and atherosclerosis. Thus, we demonstrated the tissue specificity of the DNA methylation level of the putative promoter region of the *MIR21* gene in the region chr17:57,915,593–57,915,888, but not its association with the disease.

Key words: CpG-site, *MIR21*, atherosclerosis, leukocytes, DNA methylation, microRNA, vessels, tissue specificity.

Основной причиной смертности населения в мире остаются ишемические поражения сердца и головного мозга, зачастую являющиеся осложнением атеросклероза коронарных

и сонных артерий. Согласно литературным данным [1], в тканях артерий, поражённых атеросклерозом, усиливается экспрессия miR-21 – представителя микроРНК, класса малых регуляторных молекул. Экспрессия микроРНК может подвергаться регуляции, в том числе путём метилирования в генах микроРНК (*MIR*) CpG-динуклеотидов (CpG-сайтов), т.е. цитозинов, связанных фосфодиэфирной связью с гуанином. Экспрессию микроРНК регулирует преимущественно метилирование CpG-островков (скоплений CpG-сайтов), перекрывающих промоторные участки генов: обычно CpG-островки гипометилированы, а их избыточное гиперметилирование подавляет транскрипцию и, следовательно, ингибирует экспрессию соответствующих генов [2]. Расположение промоторного региона гена *MIR21* окончательно не установлено, однако в литературе и базах данных указаны координаты предполагаемого промотора в пределах региона chr17:57,914,850–57,915,900 (здесь и далее координаты по сборке генома GRCh37/hg19) [3, 4]. Метилирование данного региона в основном изучается в отношении онкологических и воспалительных заболеваний, и подобный анализ при атеросклеротическом поражении артерий представляет исследовательский интерес.

Цель исследования – оценить тканеспецифичность уровня метилирования промоторного региона гена *MIR21* в тканях сосудов и лейкоцитах крови и его связь с атеросклеротическим поражением артерий.

Материал и методы

Исследование проводилось двумя методами: с помощью таргетного бисульфитного секвенирования на приборе MiSeq (Illumina, США) и пиросеквенирования на приборе PyroMark Q24 (Qiagen, США).

В выборку пациентов с атеросклерозом сонных артерий для таргетного бисульфитного секвенирования вошли 22 человека (средний возраст $64,6 \pm 6,5$ года), из них 17 мужчин и 5 женщин; в выборку пациентов с атеросклерозом сонных артерий для пиросеквенирования – 121 человек (средний возраст $63,5 \pm 7,7$ года), из них 102 мужчины и 19 женщин. У всех пациентов при ультразвуковом исследовании обнаружен стеноз $>70\%$ сонной артерии, что является показанием к каротидной эндартерэктомии. От всех пациентов до оперативного вмешательства получены образцы лейкоцитов периферической крови (ЛКБ). В ходе операции от пациентов обеих выборок получены образцы атеросклеротических бляшек (СAB). Кроме того, от пациентов, вошедших в выборку для таргетного бисульфитного секвенирования, получены образцы макроскопически неизмененных участков сонных артерий, подлежащих к атеросклеротической бляшке (САН), и больших подкожных вен нижних конечностей (БПВ). От пациентов с атеросклерозом коронарных артерий, перенесших коронарное шунтирование (23 пациента, все мужчины, средний возраст $57,2 \pm 7,1$ года), получены образцы внутренних грудных артерий (ВГА), которые редко поражаются атеросклерозом.

В контрольную группу для пиросеквенирования вошли 160 индивидов (средний возраст $65,2 \pm 10,7$ года), из них 111 мужчин и 49 женщин, без клинических признаков поражения сердечно-сосудистой системы. Проведённое УЗИ сонных артерий не выявило гемодинамически значимых изменений (толщина комплекса интима-медиа $0,9 \pm 0,3$ мм). Из данной группы в качестве контроля для таргетного бисульфитного секвенирования выбраны 14 индивидов (10 мужчин и 4 женщины, средний возраст $65,6 \pm 7,7$ года). От всех представителей данной группы получены образцы периферической крови (ЛКЗ).

ДНК выделена стандартным фенол-хлороформным методом и обработана бисульфитом натрия. Последовательности праймеров для таргетного бисульфитного секвенирования подобраны с помощью онлайн-инструмента MethPrimer 2 (<http://www.urogene.org/cgi-bin/methprimer2/MethPrimer.cgi>). Проанализированный регион охватывает 9 CpG-сайтов (chr17:57,915,172; chr17:57,915,371; chr17:57,915,593; chr17:57,915,665; chr17:57,915,717; chr17:57,915,740; chr17:57,915,773; chr17:57,915,800; chr17:57,915,888). Методом пиросеквенирования проанализировано два участка, включающих 2 (chr17:57,915,094; chr17:57,915,133) и 3 (chr17:57,915,717; chr17:57,915,740; chr17:57,915,774) CpG-сайта. Праймеры на первый участок подобраны с помощью онлайн-инструмента Primer Design and Search Tool (<http://www.zymoresearch.com/tools/bisulfite-primer-seeker>), на второй – взяты из публикации Adams et al. (2014) [4]. Для каждого образца получены данные об уровне метилирования изучаемых CpG-сайтов в процентах. Статистический анализ проведён в свободно распространяемой среде R (версия R 3.5.3) [The R Foundation].

Результаты и обсуждение

Данные таргетного бисульфитного секвенирования (рис. 1) промоторного региона гена *MIR21* показали низкий уровень метилирования CpG-сайтов chr17:57,915,172 и chr17:57,915,371 во всех изученных тканях. Остальные последовательно расположенные CpG-сайты с chr17:57,915,593 по chr17:57,915,888 включительно значимо ($p < 0,001$) гипо-

метилированы в клетках сосудов (независимо от их типа и наличия атеросклеротического поражения) по сравнению с лейкоцитами (независимо от наличия заболевания). При этом уровень метилирования этих CpG-сайтов не различается как между САН и БПВ ($p>0,4$), так и между ЛКБ и ЛКЗ ($p>0,1$). Это указывает на тканеспецифичность метилирования промоторного региона гена *MIR21*.

Результаты пиросеквенирования (рис. 2), с одной стороны, показали гипометилирование с отсутствием тканеспецифичности в 2 CpG-сайтах (chr17:57,915,094 и chr17:57,915,133), «предлежащих» региону, изученному методом бисульфитного секвенирования, тем самым расширив область промоторного региона гена *MIR21*, в которой тканеспецифичность не наблюдается. С другой стороны, пиросеквенирование подтвердило тканеспецифичность метилирования для CpG-сайтов chr17:57,915,717; chr17:57,915,740 и chr17:57,915,774: ВГА по уровню метилирования не отличаются от САБ, хотя обе ткани сосудов значимо гипометилированы по сравнению как с ЛКБ, так и ЛКЗ.

В то же время по всем изученным CpG-сайтам с помощью обоих методов исследования не обнаружено достоверного различия уровня метилирования ДНК в тканях атеросклеротических бляшек сонных артерий (САБ) относительно непоражённых артерий (САН или ВГА), следовательно, нельзя говорить о связи уровня метилирования промоторного региона гена *MIR21* с атеросклеротическим поражением артерий.

Выводы

Метилирование промоторного региона гена *MIR21* в области chr17:57,915,593–57,915,888 тканеспецифично и не зависит от атеросклеротического поражения артерий: его уровень в тканях сосудов ниже, чем в лейкоцитах периферической крови.

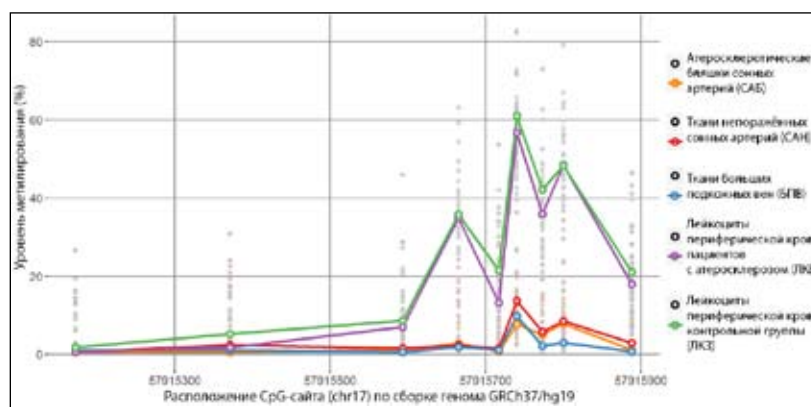


Рис. 1. Уровень метилирования предполагаемого промоторного региона гена *MIR21* в области chr17:57,915,172–57,915,888 по данным таргетного бисульфитного секвенирования. По оси абсцисс указан уровень метилирования ДНК (%), по оси ординат – координаты CpG-сайтов по сборке генома GRCh37/hg19. Линии отображают медианный уровень метилирования по каждой ткани

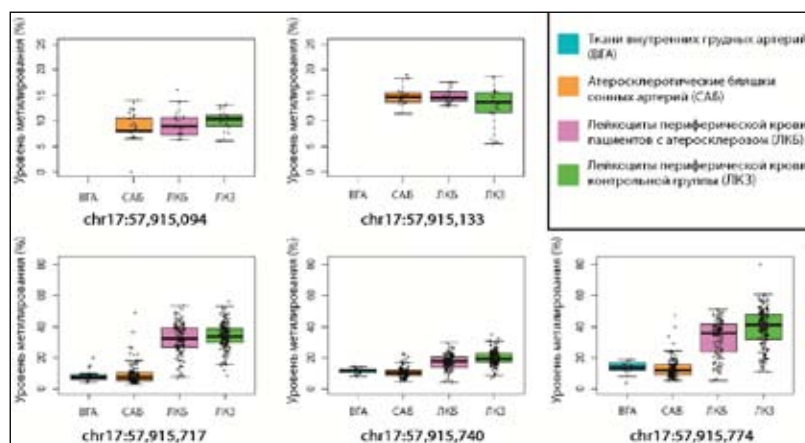


Рис. 2. Уровень метилирования отдельных CpG-сайтов предполагаемого промоторного региона гена *MIR21* по данным пиросеквенирования. По оси абсцисс указан уровень метилирования ДНК (%), по оси ординат – исследованные группы образцов

ЛИТЕРАТУРА

1. Raitoharju E., Lyytikäinen L.P., Levula M., Oksala N., Mennander A., Tarkka M., Klopp N., Illig T., Kähönen M., Karhunen P.J., Laaksonen R., Lehtimäki T. miR-21, miR-210, miR-34a, and miR-146a/b are up-regulated in human atherosclerotic plaques in the Tampere Vascular Study. *Atherosclerosis*. 2011 Nov; 219(1): 211–7. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.07.020.
2. Baer C., Claus R., Plass C. Genome-wide epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Cancer Res*. 2013 Jan 15; 73(2): 473–7. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3731.
3. Fujita S., Ito T., Mizutani T., Minoguchi S., Yamamichi N., Sakurai K., Iba H. miR-21 Gene expression triggered by AP-1 is sustained through a double-negative feedback mechanism. *J. Mol. Biol.* 2008 May 2; 378(3): 492–504. doi: 10.1016/j.jmb.2008.03.015.
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., Hold G.L., 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 Oct; 20(10): 1784–93. doi: 10.1097/MIB.0000000000000179.

ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ЭФФЕКТЫ РЕЦИПРОКНЫХ МОНОГЕННЫХ ХРОМОСОМНЫХ МУТАЦИЙ В СУБСЕКМЕНТЕ ЗР26.3 В МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ НЕЙРОНОВ, ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ИЗ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЕМ НЕРВНО-ПСИХИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ

**М.Е. Лопаткина¹, В.С. Фишман², М.М. Гридина², Н.А. Скрыбин¹,
А.А. Кашеварова¹**

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

CNTN6, наряду с другими представителями генов семейства контактинов, кодирующих нейрональные молекулы межклеточной адгезии, рассматривается в качестве кандидатного гена развития состояний, характеризующихся нарушением нервно-психического развития. Проведен полнотранскриптомный анализ генной экспрессии в модельной системе нейронов, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с идиопатическими интеллектуальными нарушениями и реципрокными микроделециями и микродупликациями, затрагивающими единственный ген *CNTN6*. С помощью методов биоинформационного анализа были выявлены дифференциально экспрессирующиеся гены в группах сравнения «Дупликация *CNTN6* – Норма» и «Делеция *CNTN6* – Норма». Для клеток как с делецией, так и с дупликацией *CNTN6* была показана глобальная дисрегуляция генной экспрессии. Показано, что в нейронах с нарушением копийности *CNTN6* снижена экспрессия генов, продукты которых вовлечены в ключевые для развития мозга биологические процессы: функционирование нервной системы, нейрогенез, регуляцию синаптической передачи и клеточного морфогенеза.

Ключевые слова: нарушение нервно-психического развития, идиопатические интеллектуальные расстройства, моногенные вариации числа копий участков ДНК, *CNTN6*, микроделеционные / микродупликационные синдромы, дифференциальная экспрессия генов, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, ИПСК.

TRANSCRIPTIONAL EFFECTS OF RECIPROCAL MONOGENIC CHROMOSOMAL MUTATIONS IN 3P26.3 REGION IN A MODEL SYSTEM OF NEURONS, DERIVED FROM INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS OF PATIENTS WITH NEURODEVELOPMENTAL DISORDERS

**M.E. Lopatkina¹, V.S. Fishman², M.M. Gridina², N.A. Skryabin¹,
A.A. Kashevarova¹**

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

Аннотация

CNTN6 gene, along with the other contactin family members encoding the neural cell adhesion molecules is considered as a candidate gene for neurodevelopmental disorders. Whole transcriptome analysis of iPSC-derived neurons, obtained from patients with idiopathic intellectual disability and reciprocal *CNTN6* microdeletion and microduplication was performed. Bioinformatics analysis revealed the list of genes differentially expressed in neurons with *CNTN6* duplication and deletion in comparison with normal *CNTN6* copy number cells. The global dysregulation of gene expression was demonstrated for cells with *CNTN6* copy number variation. Whole transcriptome analysis showed that the gene expression in neurons with *CNTN6* copy number changes was downregulated for genes, which products are involved in the crucial biological processes for brain development: the functioning of the nervous system, neurogenesis, regulation of synaptic signaling and cellular morphogenesis.

Key words: neurodevelopmental disorders, idiopathic intellectual disability, monogenic copy number variation, *CNTN6*, microdeletion/microduplication syndromes, differential gene expression, induced pluripotent stem cells, iPSC.

Актуальность

Успехи в вопросах, связанных с изучением патогенеза хромосомных заболеваний, во многом связаны с использованием новых молекулярно-генетических технологий. Внедрение в диагностический процесс технологии матричной сравнительной геномной гибридизации способствовало выявлению большого числа несбалансированных микроструктурных аберраций (CNV), нередко затрагивающих единственный ген или его отдельные фрагменты – так называемых «моногенных» и «внутригенных CNV» [1]. Данные хромосомные аберрации были выявлены у пациентов с различной патологией: задержкой нервно-психического развития, неврологической симптоматикой, аномалиями развития опорно-двигательной, сердечно-сосудистой и мочеполовой систем [2]. Частота моно- и внутригенных CNV в группе индивидов с патогенными и вероятно патогенными хромосомными мутациями составляет 10–13 %, что указывает на вероятный вклад перестроек в структуру наследственной заболеваемости человека [1].

Оценка патогенетической значимости выявляемых моно- и внутригенных CNV нередко вызывает значительные трудности. Так, сужение спектра попадающих в перестройку генов в случае моно- и внутригенных CNV до одного гена не упрощает клиническую картину заболевания и не позволяет сделать однозначный вывод об особенностях фенотипического проявления данной хромосомной мутации. В некоторых случаях CNV наследуется от условно здоровых родителей, что указывает на её неполную пенетрантность и вариабельную экспрессивность, что также вносит сложности в оценку гено-фенотипических корреляций. Моно- и внутригенные CNV зачастую проявляются сложными комплексными неспецифическими нарушениями фенотипа, характерными и для числовых аномалий хромосом. Проведенное в нашей лаборатории исследование пациентов с реципрокными моногенными CNV, затрагивающими единственный ген *CNTN6*, подтвердило данную закономерность. Примечательно, что выявленные у пациентов нарушения развития различных органов и систем тяжело поддаются объяснению изменением копийности гена, работающего преимущественно в головном мозге [3].

Также стоит отметить, что в ряде случаев традиционно используемые для анализа лимфоциты периферической крови не являются релевантным типом клеток для интерпретации клинических эффектов и оценки патогенетической значимости вновь обнаруженных хромосомных мутаций. Выходом из сложившейся ситуации может стать исследование процессов, происходящих в модельных системах, разработанных на основе персонифицированных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) пациентов с уникальными микроструктурными абберациями хромосом.

Цель исследования – выявление особенностей экспрессионных профилей нейронов, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с реципрокными микроделециями и микродупликациями региона 3p26.3, затрагивающими единственный ген *CNTN6*.

Материал и методы

Культуры ИПСК, полученные от пациентов с микроделецией и микродупликацией гена *CNTN6*, а также трех здоровых доноров, были дифференцированы в нейрональном направлении по стандартному протоколу [4]. Для проведения полнотранскриптомного анализа на микрочипах SurePrint G3 Human Gene Expression 8×60K Microarray Kit (Agilent Technologies, США) была использована тотальная РНК, выделенная из нейронов с хромосомными абберациями. Для получения списков дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) был проведен биоинформационный анализ в программной среде R с использованием пакета limma [5] уровнем значимости (adjusted P value) < 0,05, значением параметров модели robust = true, trend = true. Уровни экспрессии в группах отличались минимум в 2 раза. Из дальнейшего анализа были исключены гены, экспрессирующиеся в мышечных глиальных клетках. Для анализа функциональных категорий генов использовали веб-ресурс WebGestalt (WEB-based GENE SeT Analysis Toolkit), функциональную базу данных «Генная онтология» (Gene Ontology). Анализ обогащения проводили с помощью метода ORA (overrepresentation enrichment analysis, метод Бенджамини–Хохберга, FDR < 0,05).

Результаты

Проведено сравнение уровней экспрессии генов в группах «Дупликация *CNTN6* – Норма» (3 138 гипо- и 384 гиперэкспрессирующихся гена) и «Делеция *CNTN6* – Норма» (803 гипо- и 338 гиперэкспрессирующихся генов). Анализ обогащения генов в первой группе показал вовлеченность продуктов гипоекспрессирующихся генов в такие биологические процессы, как везикулярный транспорт, процессинг РНК, сборка микротрубочек, организация и биогенез митохондрий, модификация и транспорт белков, структурная организация хромосом, а также клеточный цикл. Продукты генов со сниженной относительно нормы экспрессией связаны с такими клеточными структурами, как мембраны клеток и органелл, цитоскелет, митохондрии, хромосомы, каталитические комплексы, синаптические контакты и везикулы. Было показано, что продукты гипоекспрессирующихся генов регулируют активность ферментов (метилтрансфераз, деацетилаз) и транскрипционных факторов, а также взаимодействуют с фосфатидилинозитолом, АТФ, пуриновыми нуклеотидами и рибонуклеотидами.

Продукты гиперэкспрессирующихся генов в группе «Дупликация *CNTN6* – Норма» участвуют в регуляции системных процессов (в частности, процессов, происходящих в нервной системе) и сенсорной чувствительности, в частности, регулируют передачу сигнала в обонятельном рецепторе. В данной группе сравнения значимо были обогащены гены, продукты которых относятся к липопротеидным частицам плазмы крови и комплексам липидов и белков.

Анализ обогащения генов в группе «Делеция *CNTN6* – Норма» показал вовлеченность продуктов гипоекспрессирующихся генов в такие биологические процессы, как развитие и формирование нервной системы, нейрогенез, генерация и дифференцировка предшественников нейронов, регуляция клеточного сигналинга, синаптической передачи и долговременной потенциации. Продукты гипоекспрессирующихся генов в нейронах с микроделецией *CNTN6* связаны с такими клеточными компонентами, как синапсы, пре- и постсинаптическая мембрана, синаптические везикулы, сома, дендриты и окончания аксона. Продукты гипоекспрессирующихся генов регулируют активность белков-каналов и белков-переносчиков, связывание цАМФ, клатрина, SH3 домена, пуриновых нуклеотидов и рибонуклеотидов.

Продукты гиперэкспрессирующихся генов в группе сравнения «Делеция *CNTN6* – Норма» вовлечены в регуляцию репликации вирусного генома, реакции на вирусную инвазию, иммунного ответа и ответа на внешние раздражители. Белковые продукты данных генов относятся к компонентам цитоплазматической мембраны и внеклеточного матрикса, межклеточным контактам, везикулам и липидным рафтам. Продукты гиперэкспрессирующихся генов участвуют в процессах связывания фактора роста и регуляции активности эндопептидаз.

При проведении полнотранскриптомного анализа были выявлены общие гены, односторонне изменяющие свою экспрессию как в нейронах с делецией, так и с дупликацией *CNTN6*. Продукты общих гипохемирующих генов вовлечены в связанные с развитием ЦНС процессы, в частности, нейрогенез, клеточный сигналинг и регуляцию синаптической передачи. Продукты данных ДЭГ относятся к таким клеточным компонентам, как цитоплазматические везикулы, синапсы, сома, аксоны и дендриты, пре- и постсинаптические мембраны. Белковые продукты 25 гиперэкспрессирующихся генов участвуют в таких биологических процессах, как агрегация, активация и пролиферация Т-клеток, положительная регуляция иммунного ответа, фагоцитоза и уровней липопротеинов плазмы ($p < 0,05$, $FDR > 0,05$). Продукты выявленных ДЭГ связаны с такими структурами, как эндоцитозные пузырьки, липопротеидные частицы, лизосомы и везикулы. Для 51 гена было показано повышение экспрессии при делеции, но снижение экспрессии при дупликации *CNTN6* («обратная» дозовая зависимость от перестройки). Продукты данных генов участвуют в ответе на стероидные и глюкокортикоидные гормоны, регулируемом экзоцитозе, развитии костей, организации фибрилл коллагена, регуляции клеточной адгезии и катаболизме липидов мембраны ($p < 0,05$, $FDR > 0,05$). Кодированные данными ДЭГ белки связаны с такими клеточными структурами, как эндоцитозные пузырьки, лизосомы, внеклеточное пространство и клеточные контакты ($p < 0,05$, $FDR > 0,05$). Для 7 генов было показано снижение экспрессии при делеции и повышение при дупликации *CNTN6*, однако данные гены, кодирующие длинные некодирующие РНК и микроРНК, не аннотированы в функциональных базах данных.

Выводы

Полнотранскриптомный тест и последующий биоинформационный анализ, проведенные на материале, полученном из нейрональных культур с реципрокными хромосомными перестройками, затрагивающими единственный ген *CNTN6*, выявили большое число ДЭГ, продукты которых вовлечены в различные биологические процессы (регуляцию системных процессов, детекцию химических стимулов, транспорт аминокислот и холестерина, катаболизм макромолекул, процессинг РНК, регуляцию репликации вирусного генома и др.), однако для ряда генов была показана вовлеченность их продуктов в процессы формирования и развития ЦНС (нейрогенез, синаптическую передачу и клеточный сигналинг).

Результаты эксперимента указывают на глобальную дисрегуляцию экспрессии генов в нейронах с нарушением копийности единственного гена *CNTN6*. Изменение экспрессии большого числа генов, непосредственно не вовлеченных в перестройку, однако необходимых для нормального развития мозга, может указывать на нарушение работы обширной сети белковых взаимодействий, в которую также входит и молекула *CNTN6*. Изменение экспрессии генов, не принимающих участия в развитии и формировании ЦНС, может влиять на возникновение других фенотипических особенностей у пациентов с интеллектуальными нарушениями, подтверждая плейотропный эффект изучаемых хромосомных мутаций в регионе 3p26.3.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ «Клеточные и молекулярные механизмы патогенеза хромосомных болезней» (№ 14-15-00772).

ЛИТЕРАТУРА

1. Truty R., Paul J., Kennemer M., Lincoln S.E., Olivares E., Nussbaum R.L., Aradhya S. Prevalence and properties of intragenic copy-number variation in Mendelian disease genes. *Genet Med.* 2019 Jan; 21(1): 114–123. doi: 10.1038/s41436-018-0033-5.
2. Almind G.J., Grønskov K., Milea D., Larsen M., Brøndum-Nielsen K., Ek J. Genomic deletions in OPA1 in Danish patients with autosomal dominant optic atrophy. *BMC Med Genet.* 2011 Apr 4; 12: 49. doi: 10.1186/1471-2350-12-49.
3. 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.
4. Zhang Y., Pak C., Han Y., Ahlenius H., Zhang Z., Chanda S., Marro S., Patzke C., Acuna C., Covy J., Xu W., Yang N., Danko T., Chen L., Wernig M., Südhof T.C. Rapid single-step induction of functional neurons from human pluripotent stem cells. *Neuron.* 2013 Jun 5; 78(5): 785–98. doi: 10.1016/j.neuron.2013.05.029.
5. Ritchie M.E., Phipson B., Wu D., Hu Y., Law C.W., Shi W., Smyth G.K. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Res.* 2015 Apr 20; 43(7): e47. doi: 10.1093/nar/gkv007.

ОЦЕНКА СООТНОШЕНИЯ РАЗНЫХ ТИПОВ КЛЕТОК ПРИ ИЗУЧЕНИИ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В ОБРАЗЦАХ АРТЕРИЙ ПАЦИЕНТОВ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

А.В. Марков, А.А. Зарубин, Д.В. Шарыш, М.С. Назаренко

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

Аннотация

В работе проанализирован клеточный состав интактных и пораженных атеросклерозом артерий при помощи биоинформатического алгоритма клеточной деконволюции с использованием данных о метилировании ДНК в образцах. Алгоритм оптимизирован для работы с образцами кровеносных сосудов. Проведен сравнительный анализ клеточного состава в интактных артериях и атеросклеротических бляшках различной локализации.

Ключевые слова: метилирование ДНК, CpG-сайт, атеросклероз, клеточная гетерогенность, клеточная деконволюция, биоинформатика, Bioconductor, R, HEpiDISH.

DNA METHYLATION-BASED ESTIMATION AND ACCOUNTING FOR HETEROGENOUS CELL TYPE RATIO IN ARTERY SAMPLES OF PATIENTS WITH ATHEROSCLEROSIS

A.V. Markov, A.A. Zarubin, D.V. Sharysh, M.S. Nazarenko

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

Abstract

We analyzed the cellular composition of intact and atherosclerotic arteries using the bioinformatics algorithm of cell deconvolution, using data on DNA methylation in the samples. The algorithm was optimized for dealing with blood vessel samples. The cellular composition of intact arteries and atherosclerotic plaques of different localization were compared.

Key words: DNA methylation, CpG site, atherosclerosis, cell-type heterogeneity, cell-type deconvolution, bioinformatics, Bioconductor, R, HEpiDISH.

Атеросклероз – это болезнь артерий крупного и среднего диаметра, в которую вовлечено множество патологических процессов на клеточном уровне: дисфункция эндотелиальных клеток (ЭК), окисление и аккумуляция липопротеидов, активация иммунной системы и воспаление, пролиферация гладкомышечных клеток (ГМК) [1]. Клеточный фенотип определяется эпигенетическими механизмами регуляции работы генов, в том числе метилированием ДНК (в основном, по остаткам цитозина в CpG-сайтах). Пораженные атеросклерозом артерии отличаются по профилю метилирования ДНК от здоровых артерий человека, что может быть связано с изменением как клеточного состава стенок артерии, так и с непосредственным нарушением функционального состояния самих клеток [1, 2]. В связи с этим в разных исследованиях, направленных на изучение метилирования ДНК в атеросклеротических бляшках *in vivo*, воспроизводится лишь небольшая часть результатов [2]. Одной из причин является клеточная гетерогенность образцов, которая не учитывалась в прежних работах, но может быть определена с использованием самих результатов анализа метилирования ДНК [3].

Цель исследования – оптимизация алгоритма определения клеточных фракций в стенке артерии на основании данных о метилировании CpG-сайтов, оценка и учет клеточной гетерогенности образцов атеросклеротической бляшки при анализе метилирования ДНК.

Материал и методы

Для работы были использованы наборы данных о метилировании CpG-сайтов в атеросклеротических бляшках сонных артерий (n=38), а также в образцах бляшек (n=15) и нормальных тканей (n=15) аорты, которые получены в исследовании S. Zaina et al. с использованием

микрочипов Infinium HumanMethylation450 BeadChip (Illumina, далее по тексту – 450K) [4, 5]. Наборы данных находятся в свободном доступе в электронном хранилище Gene Expression Omnibus (GEO; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>), идентификаторы доступа: GSE46394, GSE66500. Клеточный состав образцов на основании профилей метилирования CpG-сайтов оценен с помощью алгоритма HEPiDISH [6]. Для формирования оптимального референсного набора CpG-сайтов была привлечена информация из базы данных GEO и проекта ENCODE (<https://www.encodeproject.org>), содержащих метиломы эндотелиальных клеток (GSE84395), фибробластов (GSE40699), ГМК (GSE40699 и приложение к статье J.-X. Jiang et. al. [7]), а также лейкоцитов (GSE35069). Обработка и статистический анализ данных проведены в программной среде R с пакетами Bioconductor [8]. Иерархический кластерный анализ проводили по методу Уорда (с расчетом Евклидовых расстояний). Поиск дифференциально метилированных позиций осуществляли с использованием обобщенных линейных моделей (в пакете limma) либо t-критерия.

Результаты

Нами был подобран оптимальный референсный набор CpG-сайтов, эффективно дискриминирующий основные типы клеток человека, которые могут служить источником ДНК из пораженных атеросклерозом артерий: ЭК, ГМК, фибробласты, иммунные клетки (Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы, моноциты, дифференцирующиеся в макрофаги). Для этого было проведено сравнение клеточных метиломов и выделены CpG-сайты, значимо отличающиеся по уровню метилирования (разница средних уровней метилирования $\Delta\beta > 70\%$ при уровне значимости $p < 0,01$) в каждом из изученных типов клеток по сравнению с другими. Итоговый референс включал 409 CpG-сайтов, на основе которого был оценен клеточный состав в атеросклеротических бляшках сонных артерий, а также бляшках и нормальных тканях аорты (рис. 1, А). Кластерный анализ образцов по профилю метилирования ДНК позволил обнаружить, что сначала образцы группируются в зависимости от локализации артерии (группы I–IV и V–VIII на рис. 1, А), затем в зависимости от соотношения структурных (ЭК+ГМК) и иммунных клеток в стенке артерии и, в последнюю очередь, по полу доноров. При этом атеросклеротические бляшки сонных артерий содержали значимо больше иммунных клеток с преобладанием «моноцитарной» фракции (разница – 22 % в среднем, тогда как для других фракций – 2–3 %), которая скорее всего отражает присутствие макрофагов в бляшке. В пораженных атеросклерозом артериях наблюдалась уменьшенная фракция ГМК (в среднем – на 35 %) в пользу ЭК и иммунных клеток, причем разница между соответствующими долями клеток в бляшках и непораженных артериях была статистически значимой ($p < 0,01$) для всех типов клеток, кроме фибробластов и CD4+ Т-лимфоцитов. Отдельную группу составляли атеросклеротические бляшки аорты и сонных артерий с сильным смещением в сторону иммунных клеток (кластер V на рис. 1, А), что косвенно может указывать на острое воспаление (возможно, кровоизлияние в бляшку) с большим количеством нейтрофилов либо моноцитов / макрофагов. Для данной группы было характерно преобладание образцов, полученных от пациентов с обострением атеросклероза (острого нарушения мозгового кровообращения).

Выводы

В атеросклеротических бляшках сонных артерий по сравнению с аналогичными образцами аорты более выражен иммунный компонент. Анализ метилирования ДНК позволяет рассчитать ожидаемый клеточный состав исследуемых образцов, а также провести классификацию образцов, предположить лежащие в её основе клеточные процессы, а также выявить регионарную специфичность образцов и учесть их клеточную гетерогенность при поиске дифференциально метилированных CpG-сайтов.

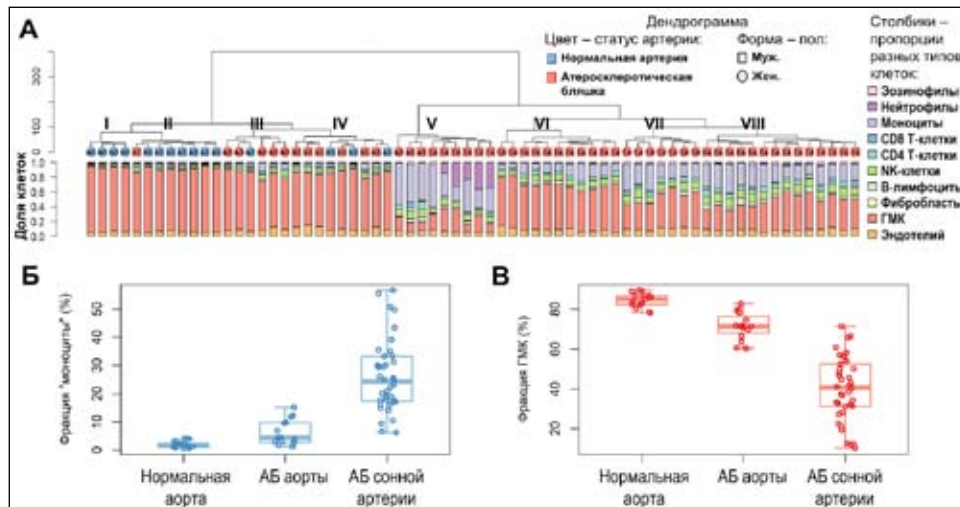


Рис. 1. Кластеризация изученных образцов атеросклеротических бляшек аорты (АО) и сонных артерий (СА), а также рассчитанный клеточный состав (кластеры пронумерованы римскими цифрами) (А). Б, В – сравнение оцененных фракций инфильтрирующих моноцитов / макрофагов и гладкомышечных клеток (ГМК) в непораженных образцах аорты и атеросклеротических бляшках (АБ) разной локализации

ЛИТЕРАТУРА

1. Tabaei S., Tabaei S.S. DNA methylation abnormalities in atherosclerosis. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2019 Dec; 47(1): 2031–2041. doi: 10.1080/21691401.2019.1617724.
2. Aavik E., Babu M., Ylä-Herttuala S. DNA methylation processes in atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis.* 2019 Feb; 281: 168–179. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.12.006.
3. Teschendorff A.E., Zheng S.C. Cell-type deconvolution in epigenome-wide association studies: a review and recommendations. *Epigenomics.* 2017 May; 9(5): 757–768. doi: 10.2217/epi-2016-0153.
4. Zaina S., Heyn H., Carmona F.J., Varol N., Sayols S., Condom E., Ramirez-Ruz J., Gomez A., Gonçalves I., Moran S., Esteller M. DNA methylation map of human atherosclerosis. *Circ Cardiovasc Genet.* 2014 Oct; 7(5): 692–700. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.113.000441.
5. Zaina S., Gonçalves I., Carmona F.J., Gomez A., Heyn H., Mollet I.G., Moran S., Varol N., Esteller M. DNA methylation dynamics in human carotid plaques after cerebrovascular events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015 Aug; 35(8): 1835–42. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.305630.
6. Zheng S.C., Webster A.P., Dong D., Feber A., Graham D.G., Sullivan R., Jevons S., Lovat L.B., Beck S., Widschwendter M., Teschendorff A.E. A novel cell-type deconvolution algorithm reveals substantial contamination by immune cells in saliva, buccal and cervix. *Epigenomics.* 2018 Jul; 10(7): 925–940. doi: 10.2217/epi-2018-0037.
7. Jiang J.X., Aitken K.J., Sotiropoulos C., Kirwan T., Panchal T., Zhang N., Pu S., Wodak S., Tolg C., Bägli D.J. Phenotypic switching induced by damaged matrix is associated with DNA methyltransferase 3A (DNMT3A) activity and nuclear localization in smooth muscle cells (SMC). *PLoS One.* 2013 Aug 7; 8(8): e69089. doi: 10.1371/journal.pone.0069089.
8. Huber W., Carey V.J., Gentleman R., Anders S., Carlson M., Carvalho B.S., Bravo H.C., Davis S., Gatto L., Girke T., Gottardo R., Hahne F., Hansen K.D., Irizarry R.A., Lawrence M., Love M.I., MacDonald J., Obenchain V., Oleś A.K., Pagès H., Reyes A., Shannon P., Smyth G.K., Tenenbaum D., Waldron L., Morgan M. Orchestrating high-throughput genomic analysis with Bioconductor. *Nat Methods.* 2015 Feb; 12(2): 115–21. doi: 10.1038/nmeth.3252.

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНА КАЛЬСЕКВЕСТРИНА 2 (CASQ2) В МИОКАРДЕ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Э.Ф. Муслимова, О.В. Будникова

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

Аннотация

В образцах миокарда от 68 пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) ишемического генеза выполнена оценка уровня экспрессии гена кальсеквестрина 2 (CASQ2). Обнаружено, что уровень экспрессии гена CASQ2 у пациентов с ХСН функционального класса (ФК) III был ниже, чем у пациентов с ХСН ФК II. Выявлена обратная зависимость между уровнем экспрессии CASQ2 и фракцией выброса левого желудочка. Уровень экспрессии гена CASQ2 был более высоким в миокарде пациентов с диастолической дисфункцией, а также при сахарном диабете 2-го типа.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, кальсеквестрин 2, экспрессия гена, CASQ2, миокард.

EVALUATION OF CALSEQUESTRIN 2 (CASQ2) GENE EXPRESSION IN THE MYOCARDIUM OF PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE

E.F. Muslimova, O.V. Budnikova

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

Abstract

In myocardial samples from 68 patients with chronic heart failure (CHF) of ischemic origin, the expression level of the calsequestrin 2 (CASQ2) gene was estimated. It was found that the level of CASQ2 gene expression was lower in patients with functional class III CHF than in patients with class II. An inverse relationship was found between the expression level of CASQ2 and the ejection fraction of the left ventricle. The level of CASQ2 gene expression was higher in the myocardium of patients with diastolic dysfunction, as well as in type 2 diabetes mellitus.

Key words: chronic heart failure, calsequestrin 2, gene expression, CASQ2, myocardium.

Каждый цикл сокращения-расслабления кардиомиоцитов сопровождается выбросом ионов кальция из саркоплазматического ретикулума (СР). Внутри СР ионы Ca^{2+} в основном связаны с белком кальсеквестрином 2 (CASQ2). Также CASQ2 участвует в регуляции высвобождения Ca^{2+} из СР через рианодиновые рецепторы. При высокой концентрации Ca^{2+} кальсеквестрин менее прочно связывается с рианодиновыми рецепторами, что позволяет им открыться и высвободить Ca^{2+} в цитозоль [1, 2]. Изменение содержания и активности белка CASQ2, зависящее, в свою очередь, от работы соответствующего гена, может являться фактором риска сократительной дисфункции миокарда.

Цель исследования – оценить уровень относительной экспрессии гена кальсеквестрина 2 (CASQ2) в миокарде пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) ишемического генеза.

Материал и методы

В исследование были включены 68 пациентов с ХСН, развившейся на фоне ишемической болезни сердца (ИБС). Возраст пациентов составил 64 (59; 69) года. Постинфарктный кардиосклероз верифицирован у 70,6 % пациентов. Сахарный диабет 2-го типа (СД2) выявлен у 36,8 % пациентов. Для описания выраженности симптомов ХСН использована классификация Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (НЮНА), учитывающая влияние заболевания сердца на ограничение физической активности пациента [3]. Распределение случаев ХСН в зависимости от функционального класса (ФК) I, II и III было следующим: 2,9; 61,8; 35,3 %. Во всей выборке фракция выброса левого желудочка (ЛЖ) составила 61 % (53; 65) и соответствовала сохраненной фракции выброса [4].

Образцы миокарда – фрагмент ушка правого предсердия – получены при подключении аппарата искусственного кровообращения во время плановых операций коронарного шунтирования. Образцы разрушали с помощью гомогенизатора TissueLyser LT (QIAGEN, США), выделяли РНК из гомогената (RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit, QIAGEN, США), проводили синтез комплементарной ДНК (RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit, Thermo Scientific, США). Полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени проводили на амплификаторе LightCycler 96 (Roche) с использованием праймеров и зондов TaqMan Gene Expression Assays (Thermo Scientific, США). Уровень экспрессии генов рассчитывался автоматически с помощью программного обеспечения LightCycler 96. В качестве референсных были использованы ген глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы *GAPDH*, ген бета-актина *ACTB* и ген малой субъединицы рибосомы *18S* (TaqMan Gene Expression Assays, Thermo Scientific, США).

Статистический анализ данных проводился с помощью пакета SPSS версии 13 (IBM, США). Для анализа количественных данных использовали тест Манна–Уитни или тест Краскела–Уоллиса для трёх независимых групп с поправкой Бонферрони. Результаты представляли в виде медианы и интерквартильного размаха Ме (Q1; Q3), где Ме – медиана, Q1 и Q3 – 25-й и 75-й перцентили. Проводился анализ силы линейной взаимосвязи с помощью

коэффициента ранговой корреляции Спирмена. При всех видах анализа уровень значимости был $p < 0,05$.

Результаты

Между пациентами с постинфарктным кардиосклерозом и без него оказался сопоставимым уровень экспрессии и *CASQ2/GAPDH* ($p = 0,185$), и *CASQ2/ACTB* ($p = 0,158$), и *CASQ2/18S* ($p = 0,508$). При этом у больных ХСН ФК II уровень экспрессии *CASQ2* в миокарде оказался выше, чем у пациентов с ФК III (2 пациента с ФК I при статистическом анализе не учитывались). Так, уровень относительной экспрессии *CASQ2/ACTB* у пациентов с ФК II был 1,9 (1,2; 3,2), а у пациентов с ФК III – 1,2 (0,7; 2,0). Различия были статистически значимыми ($p = 0,029$). Подобная ситуация наблюдалась и при анализе экспрессии *CASQ2/GAPDH* ($p = 0,049$): 1,4 (0,9; 2,4) против 0,7 (0,5; 1,5). Различия в уровне экспрессии *CASQ2/18S* не достигли статистической значимости ($p = 0,075$). Но в исследуемой выборке выявлена отрицательная линейная связь между уровнем экспрессии *CASQ2/18S* и фракцией выброса ЛЖ ($r = -0,288$, $p = 0,047$).

Диастолическая дисфункция (ДД) миокарда в виде нарушения расслабления миокарда выявлена у 74,6 % пациентов. Для этих пациентов была характерна более высокая экспрессия гена *CASQ2/ACTB* ($p = 0,040$) по сравнению с лицами без ДД: 1,7 (1,2; 2,5) против 0,8 (0,6; 2,1) соответственно. Подобная тенденция имела место и при оценке уровня экспрессии для *CASQ2/GAPDH* ($p = 0,068$) и *CASQ2/18S* ($p = 0,090$), но различия не были статистически значимыми.

Выявлена положительная линейная взаимосвязь уровня глюкозы крови и относительной экспрессии гена *CASQ2/GAPDH* ($r = 0,280$, $p = 0,024$), *CASQ2/ACTB* ($r = 0,276$, $p = 0,024$), *CASQ2/18S* ($r = 0,351$, $p = 0,014$). У пациентов с СД2 относительная экспрессия гена *CASQ2* была выше, чем у пациентов без нарушений углеводного обмена. Для *CASQ2/GAPDH* уровень экспрессии составил 1,6 (1,1; 2,7) у пациентов с СД2 против 0,9 (0,5; 1,4) у пациентов без СД2 ($p = 0,003$), для *CASQ2/ACTB* значения составили 1,9 (1,2; 4,3) против 1,2 (0,7; 2,0) соответственно ($p = 0,008$). Уровень экспрессии *CASQ2/18S* составил 1,8 (1,4; 2,4) против 1,3 (1,0; 1,9), $p = 0,039$. Указывается, что при СД2 экспрессия генов также меняется в результате модификации гистонов, изменения доступа к хроматину вследствие метилирования ДНК под воздействием гипергликемии и посредством некодирующих микроРНК [5].

Выводы

Обнаружена связь между снижением уровня экспрессии гена кальсеквестрина 2 *CASQ2* и сократительной дисфункцией миокарда: относительная экспрессия у пациентов с ХСН ФК III была ниже, чем при ФК II, при этом выявлена обратная зависимость между уровнем экспрессии и фракцией выброса ЛЖ. Но при диастолической дисфункции, а также при сахарном диабете 2-го типа относительная экспрессия оказалась более высокой, что может быть отражением компенсаторных процессов, проходящих в миокарде при формировании ХСН ишемического генеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Faggioni M., Knollmann B.C. Calsequestrin 2 and arrhythmias. American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology. 2012; 302(6): H1250–H1260.
2. Salazar-Cantú A., Pérez-Treviño P., Montalvo-Parra D., Balderas-Villalobos J., Gómez-Viquez N.L., García N., Altamirano J. Role of SERCA and the sarcoplasmic reticulum calcium content on calcium waves propagation in rat ventricular myocytes. Arch Biochem Biophys. 2016 Aug 15; 604: 11–9. doi: 10.1016/j.abb.2016.05.018.
3. Мареев В.Ю., Фомин И.В., Агеев Ф.Т., Безрамбекова Ю.Л., Васюк Ю.А., Гарганеева А.А., Гендлин Г.Е., Глезер М.Г., Готье С.В., Довженко Т.В., Кобалава Ж.Д., Козилова Н.А., Коротеев А.В., Мареев Ю.В., Овчинников А.Г., Перепеч Н.Б., Тарловская Е.И., Чесникова А.И., Шевченко А.О., Арутюнов Г.П., Беленков Ю.Н., Галаявич А.С., Гиляревский С.Р., Драпкина О.М., Дупляков Д.В., Лопатин Ю.М., Ситникова М.Ю., Скибицкий В.В., Шляхто Е.В. Клинические рекомендации ОССН – РКО – РНМОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение. Кардиология. 2018; 58(6S): 8–158.
4. Ponikowski P., Voors A.A., Anker S.D., Bueno H., Cleland J.G.F., Coats A.J.S., 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.C., Ruilope L.M., Ruschitzka F., Rutten F.H., van der Meer P. ESC Scientific Document Group. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. Eur Heart J. 2016 Jul 14; 37(27): 2129–2200. doi: 10.1093/eurheartj/ehw128.
5. Черников А.А., Северина А.С., Шамхалова М.Ш., Шестакова М.В. Роль механизмов «метаболической памяти» в развитии и прогрессировании сосудистых осложнений сахарного диабета. Сахарный диабет. 2017; 20(2): 126–134.

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ЗНАЧЕНИЯ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА RS10953541 ГЕНА-КАНДИДАТА BCAP29, АССОЦИИРОВАННОГО С ОСТЕОАРТРОЗОМ КОЛЕННОГО СУСТАВА

В.Б. Новаков

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Россия

Аннотация

Остеоартроз – дегенеративно-дистрофическое заболевание суставов, причиной которого является поражение хрящевой ткани суставных поверхностей. Наиболее часто поражаются крупные суставы нижних конечностей, особенно коленные суставы. ОА коленного сустава имеет важный генетический компонент, и многие исследования показали важную роль различных генов-кандидатов в развитии данной патологии. Однако открытым остаётся вопрос понимания биологических механизмов, лежащих в основе ассоциаций отдельных полиморфных локусов с ОА. Цель исследования – изучить функциональное значение полиморфного локуса rs10953541 гена *BCAP29*, ассоциированного с остеоартрозом коленного сустава.

Изучаемый полиморфизм был отобран из каталога полногеномных исследований (GWAS). Функциональное значение оценено с помощью онлайн-программного обеспечения HaploReg (v4.1) и данных проекта Genotype-Tissue Expression (GTEx).

В каталоге полногеномных исследований опубликованы результаты 14 работ, посвящённых изучению ОА коленного сустава. В рамках этих исследований были найдены ассоциации с 88 однонуклеотидными полиморфизмами, ассоциированными с ОА коленного сустава. Согласно полногеномным исследованиям, полиморфный локус rs10953541 ассоциирован с развитием ОА коленного сустава в европейской популяции. Установлено, что полиморфный локус rs10953541 не приводит к изменению аминокислот в кодируемом полипептиде, находится в регионе мотивов ДНК, являющихся сайтами связывания с транскрипционным фактором Foxp3, а также в регионе гиперчувствительности к ДНКазе. Полиморфизм rs10953541 значимо ассоциирован с уровнем экспрессии генов *BCAP29* и *HBP1* в различных тканях и органах, а также с уровнем альтернативного сплайсинга генов *HBP1* и *COG5*. Полиморфизм rs10953541 находится в неравновесии по сцеплению с 8 SNPs ($r^2 \geq 0,8$), имеющими значимые регуляторные эффекты (6 SNPs находятся в регионах регуляторных мотивов ДНК, 2 SNPs – в области гистонов, маркирующих промоторы, и 4 SNPs в области гистонов, маркирующих энхансеры в различных тканях и органах). Все сцепленные полиморфизмы также ассоциированы с экспрессией генов *BCAP29* и *HBP1* в разных органах и тканях. Выводы: установлены эпигенетические эффекты полиморфного локуса rs10953541 гена *BCAP29*, показавшего GWAS значимые ассоциации с ОА коленного сустава, и сцепленных с ним SNPs.

Ключевые слова: остеоартроз коленного сустава, rs143384, ген *BCAP29*, nsSNP, regSNP, eQTL, sQTL.

STUDY OF THE FUNCTIONAL SIGNIFICANCE OF THE POLYMORPHIC LOCUS RS10953541 OF THE BCAP29 CANDIDATE GENE ASSOCIATED WITH KNEE OSTEOARTHRITIS

V.B. Novakov

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod National Research University», Belgorod, Russia

Abstract

Osteoarthritis is a degenerative joint disease caused by damage to the cartilage of the articular surfaces. Most often, large joints of the lower extremities are affected, especially the knee joints. OA of the knee joint has an important genetic component, and many studies have shown the important role of various candidate genes

in the development of this pathology. However, the question of understanding the biological mechanisms underlying the associations of individual polymorphic loci with OA remains open. The aim of the study – to study the functional significance of the polymorphic locus rs10953541 of the *BCAP29* gene associated with osteoarthritis of the knee joint. The studied polymorphism was selected from the catalog of genome-wide research (GWAS). Functional value was evaluated using the online software HaploReg (v4.1) and data from the Genotype-Tissue Expression project (GTEx). The results of 14 works devoted to the study of OA of the knee joint are published in the catalog of genome-wide studies. Within the framework of these studies, associations were found with 88 single nucleotide polymorphisms associated with knee OA. According to genome-wide studies, the rs10953541 polymorphic locus is associated with the development of knee OA in the European population. It was established that the polymorphic locus rs10953541 does not lead to a change in amino acids in the encoded polypeptide; it is located in the region of DNA motifs, which are binding sites with the transcription factor Foxp3, as well as in the region of hypersensitivity to DNase. The rs10953541 polymorphism is significantly associated with the level of expression of the *BCAP29* and *HBP1* genes in various tissues and organs, as well as with the level of alternative splicing of the *HBP1* and *COG5* genes. The rs10953541 polymorphism is in disequilibrium in linking with 8 SNPs ($r^2 \geq 0.8$) with significant regulatory effects (6 SNPs are in regions of DNA regulatory motifs, 2 SNPs are in the region of histones marking promoters and 4 SNPs are in the region of histones marking enhancers in various tissues and organs). All linked polymorphisms are also associated with the expression of *BCAP29* and *HBP1* genes in different organs and tissues. Conclusions: the epigenetic effects of the polymorphic locus rs10953541 of the *BCAP29* gene, which showed GWAS significant associations with OA of the knee joint and SNPs linked to it, were established.

Key words: knee osteoarthritis, rs143384, *BCAP29* gene, nsSNP, regSNP, eQTL, sQTL.

Актуальность

В настоящее время самым частым заболеванием суставов среди болезней опорно-двигательного аппарата признают остеоартроз (ОА). По данным ВОЗ, ОА болеет более 4 % населения земного шара, а в 10 % случаев он является причиной инвалидности, вызывая ухудшение качества жизни больных. В настоящее время ОА рассматривается как заболевание, при котором происходит нарушение процессов восстановления и разрушения ткани, прежде всего в хряще, в кости, расположенной под хрящом, и окружающих сустав тканях: капсуле сустава, синовиальной оболочке, связках, мышцах [1]. Наиболее часто поражаются крупные суставы нижних конечностей (коленные и тазобедренные) и межфаланговые суставы кисти.

Остеоартрозы чаще всего поражают именно коленный отдел, по частоте встречаемости среди всех дегенеративно-дистрофических суставных патологий остеоартроз коленного сустава занимает 1-е место. В структуре всех ортопедических заболеваний на эту патологию приходится от 30 до 55 % [2]. ОА коленного сустава в медицинской терминологии называют гонартрозом. В Российской Федерации на 10 тыс. населения 100–120 человек больны гонартрозом. Прогнозируется увеличение количества больных гонартрозом в два раза к 2020 г. [2]. Данный патологический процесс у 80 % пациентов вызывает заметное снижение качества жизни, а у 10–21 % становится причиной инвалидности, особенно у лиц старшей возрастной группы [3, 4]. ОА поражает как один сустав, так и одновременно два коленных сустава. Установлено, что около 30 % пациентов с подтвержденным диагнозом имеют двухсторонний ОА.

ОА коленного сустава, как и ряд других часто встречающихся заболеваний, имеет важный генетический компонент [5–10]. Среди кандидатных генов ОА выделяют гены II, VI, IX подтипов коллагена и хрящевого тромбоспондина, гены матриксных металлопротеиназ, ген фактора роста и дифференциации 5 и т. д. Но стоит отметить, что, несмотря на значительный прогресс, достигнутый в изучении патогенеза и выявлении генетических факторов развития ОА, открытым остается вопрос понимания биологических механизмов, лежащих в основе ассоциаций отдельных полиморфных локусов с данной патологией.

Цель исследования – изучение функционального значения полиморфизма rs10953541 гена *BCAP29*, взаимосвязанного с развитием остеоартроза коленного сустава.

Материал и методы

Отбор полиморфного локуса rs10953541 гена *BCAP29*, ассоциированного с ОА коленного сустава, был произведен из каталога полногеномных исследований (GWAS) согласно критериям, представленным в работе [10].

Была изучена функциональная роль полиморфизма rs10953541 гена *BCAP29*, показавшего GWAS-значимые ассоциации с ОА коленного сустава, и сцепленных с ним SNPs. Рассмотрены связь изучаемого полиморфного локуса с несинонимическими заменами (nsSNP),

регуляторный потенциал (regSNP), влияние на экспрессию генов (eQTL), связь с уровнем альтернативного сплайсинга (sQTL) с помощью онлайн-программного обеспечения HaploReg (v4.1) и данных проекта Genotype-Tissue Expression (GTEx).

Результаты

В каталоге полногеномных исследований опубликованы результаты 14 работ, посвящённых изучению ОА коленного сустава. В рамках этих исследований были найдены ассоциации с 88 SNPs, ассоциированными с ОА коленного сустава. Согласно исследованию E. Evangelou et al. (2011), полиморфный локус rs10953541 ассоциирован с развитием ОА коленного сустава в европейской популяции [11]. Используя критерии, представленные в исследовании [10], нами был отобран изучаемый полиморфный локус rs10953541 гена В-клеточного рецептор-ассоциируемого белка 29 из каталога GWAS.

На следующем этапе работы мы оценили регуляторное значение изучаемого SNP с использованием онлайн-программного обеспечения HaploReg (v4.1). Полиморфизм rs10953541 находится в неравновесии по сцеплению с 8 SNPs ($r^2 \geq 0,8$): rs138371893, rs68170813, rs35531458, rs35061190, rs34273277, rs35024078, rs7785962, rs10953540. Получено, что полиморфный локус rs10953541, ассоциированный с развитием ОА коленного сустава, не приводит к изменению аминокислот в кодируемом полипептиде. В локусах, которые сцеплены с ним, также не выявлено несинонимичных нуклеотидных замен.

Полиморфизм rs10953541 находится в регионе мотивов ДНК, являющихся сайтами связывания с транскрипционным фактором Foxp3, а также в регионе гиперчувствительности к ДНКазе, как и 4 SNPs, сцепленных с изучаемым (rs7785962, rs34273277, rs35531458 и rs35061190).

Сцепленные с rs10953541 SNPs имеют следующие характеристики: полиморфный локус rs68170813 находится в эволюционно консервативном регионе, два локуса из восьми (rs35531458 и rs35061190) – в области гистонов, маркирующих промоторы в тканях сердца плода и энхансеры в 7 тканях (аорта, первичные клетки меланоцитов, надпочечники, почки, легкое плода, правое предсердие, скелетные мышцы). Локусы rs35024078 и rs34273277 располагаются в области гистонов, определяющих промоторы в тканях мозга и сердца плода, эндотелиальных клетках пупочной вены. Полиморфные локусы rs35024078 и rs34273277 находятся в регионе регуляторных мотивов Foxj1, Irf и HNF6 соответственно; rs35061190 – Brachyury, Nkx2; rs138371893 – SREBP. В регионе мотивов ДНК, являющихся сайтами связывания с 7 (CTCF, Ets, Myf, TATA, YY1, ZEB1, Znf143) и 5 транскрипционными факторами (AIRE, Brachyury, Pou3f2, Pou5f1, RBP-Jkappa), находятся полиморфизмы rs10953540 и rs35531458 соответственно.

Используя данные GTEx проекта, было установлено, что изучаемый генетический полиморфизм rs10953541 значимо ассоциирован с уровнем экспрессии 2 генов в различных тканях. Значительный экспрессионный потенциал rs10953541 был установлен для гена *BCAP29* в тканях мозга ($p=9,5E-11$), в артерии большеберцовой кости ($p=6,1E-08$), в большеберцовом нерве ($p=1,7E-05$); гена *HBPI* – в коже нижних конечностей ($p=3,2E-05$). Стоит отметить, что 8 SNPs, сцепленных с rs10953541, также ассоциированы с экспрессией генов *BCAP29*, *HBPI* в различных тканях и органах.

Полиморфизм rs10953541 ассоциирован с уровнем альтернативного сплайсинга транскрипта гена *COG5* в висцеральной жировой ткани (ID интрона 107256794: 107258273: chr_33312, $p=3,2E-07$). Для всех сцепленных полиморфизмов также выявлены ассоциации с уровнем альтернативного сплайсинга транскрипта гена *COG5* в различных органах и тканях.

Выводы

Таким образом, в нашем исследовании установлена функциональная роль полиморфного локуса rs10953541 гена *BCAP29*, показавшего GWAS-значимые ассоциации с ОА коленного сустава, и 8 SNPs, сильно сцепленных с ним ($r^2 \geq 0,8$). Полиморфный локус rs10953541 находится в регионе мотивов ДНК, являющихся сайтами связывания с транскрипционным фактором Foxp3, в регионе гиперчувствительности к ДНКазе. Изученный полиморфизм rs10953541 ассоциирован с уровнем экспрессии генов *BCAP29* и *HBPI* в различных тканях и органах, с уровнем альтернативного сплайсинга транскрипта гена *COG5*. Значительные эпигенетические эффекты установлены и для всех локусов, сцепленных с rs10953541 ($r^2 \geq 0,8$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Матвеев Р.П., Брагина С.В. Остеоартроз коленного сустава: проблемы и социальная значимость. Экология человека. 2012; 9: 53–62.

2. Балабанова Р.М., Эрдес Ш.Ф. Распространенность ревматических заболеваний в России в 2012–2013 гг. Научно-практическая ревматология. 2015; 53(2): 120–124.
3. Мазуров В.И., Трофимова А.С., Трофимов Е.А. Факторы риска и некоторые аспекты патогенеза остеоартроза. Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2016; 8(2): 116–124.
4. Паникар В.И., Щербань Э.А., Павлова И.А. Комплексная гериатрическая оценка остеоартроза коленных суставов в старческом возрасте. Научные результаты биомедицинских исследований. 2019; 5(1): 131–139. doi: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-10.
5. Панина С.Б. Полиморфизмы генов как факторы риска развития остеоартроза // Медицинский вестник Юга России. 2013; 2: 13–20.
6. Nekipelova E.V., Novakova O.N., Yakunchenko T.I., Krikun E.N., Zhernakova N.I., Efremova O.A. Clinical and genetic research of chronic glomerulonephritis. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016; 7(6): 3222–3227.
7. Москаленко М.И., Пономаренко И.В., Полоников А.В., Чурносков М.И. Полиморфный локус rs652438 гена MMP12 ассоциирован с развитием артериальной гипертензии у женщин. Артериальная гипертензия. 2019; 25(1): 60–65. doi: 10.18705/1607-419X-2019-25-1-60-65.
8. Пономаренко И.В., Полоников А.В., Верзилина И.Н., Сорокина И.Н., Орлова В.С., Чурносков М.И. Полиморфизм гена UGT2B4 как фактор развития эндометриоза. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2019; 18(3): 15–20.
9. Пономаренко И.В., Полоников А.В., Чурносков М.И. Ассоциация полиморфизма rs4986938 гена ESR2 с развитием гиперплазии эндометрия. Акушерство и гинекология. 2019; 4: 66–72.
10. Ponomarenko I., Reshetnikov E., Altuchova O., Polonikov A., Sorokina I., Yermachenko A., Dvornyk V., Golovchenko O., Churnosov M. Association of genetic polymorphisms with age at menarche in Russian women. Gene. 2019 Feb 20; 686: 228–236. doi: 10.1016/j.gene.2018.11.042.
11. Evangelou E., Valdes A.M., Kerkhof H.J., Styrkarsdottir U. Meta-analysis of genome-wide association studies confirms a susceptibility locus for knee osteoarthritis on chromosome 7q22. Ann Rheum Dis. 2011 Feb; 70(2): 349–55. doi: 10.1136/ard.2010.132787.

МУТАЦИОННЫЙ СКРИНИНГ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ КРАСНОЯРСКОГО РЕГИОНА

А.А. Разумова^{1,2}, Г.Ю. Кочмарева²

ФГБУ «Федеральный Сибирский научно-клинический центр ФМБА России», г. Красноярск, Россия¹,
ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, Россия²

Аннотация

Болезнь Паркинсона (БП) – это одно из наиболее часто встречающихся нейродегенеративных заболеваний, распространенность которого составляет около 100–150 случаев на 100 тыс. населения, при этом ежегодно в мире регистрируется более 300 тыс. новых случаев болезни. Появление моторных симптомов (ригидность мускулатуры, брадикинезия, тремор) связано с поражением свыше 60 % дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга, приводящим к снижению концентрации дофамина в стриатуме [1]. На сегодняшний день этиология БП до конца не изучена, однако известно, что заболевание носит мультифакторную природу и существуют как экзогенные, так и эндогенные причины. К числу последних относятся, в частности, мутации около 20 генетических локусов. Причинные гены условно разделяют на те, которые непосредственно приводят к появлению БП (*PARK1*, *PARK2* и *PARK8* и др.), и те, которые в определенной степени повышают риск развития заболевания (*GBA*, *MATP*). Нами проведен мутационный скрининг генов *PARK2*, *PINK1*, *SNCA*, *ATP13A2*, *PARK7*, *LRRK2*, *UCHL*, *GCH1*, *CAV-1* и *CAV-2* на наличие крупных делеций и дупликаций, а также некоторых точковых мутаций с помощью технологии MLPA-анализа. Помимо этого, проведен скрининг 8–11 экзонов (как содержащих большинство значимых мутаций) гена *GBA* методом секвенирования по Сенгеру у 61 пациента с диагнозом болезнь Паркинсона. Мутации были выявлены только в гене *GBA* у 9 человек, среди них как относительно частые (L444P, T369M, E326K, D448H), так и редкие (V460V, с.*92G>A (rs708606)), влияние которых на развитие заболевания на сегодняшний день не подтверждено. Немаловажным фактом является то, что двое пациентов из представленных 9 оказались компаунд-гетерозиготными носителями двух мутаций, что, судя по всему, повлияло на очень ранний возраст дебюта в данных случаях. Стоит отметить, что подобное исследование проведено впервые в Сибири и в Красноярском регионе в частности.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, мутационный скрининг, *GBA*, *PARK2*, *PINK1*, *SNCA*, *ATP13A2*, *PARK7*, *LRRK2*.

MUTATIONAL SCREENING OF GENES ASSOCIATED WITH PARKINSON'S DISEASE AMONG PATIENTS OF THE KRASNOYARSK REGION

A.A. Razumova^{1,2}, G.Y. Kochmaryova²

The Federal State-Financed Institution Federal Siberian Research Clinical Centre, Federal Medical Biological Agency, Krasnoyarsk, Russia¹,
Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia²

Abstract

Parkinson's disease (PD) is one of the most common neurodegenerative diseases, the prevalence of which is about 100–150 cases per 100 thousand people, and more than 300 thousand new cases of the disease are registered annually in the world. The appearance of motor symptoms (muscle stiffness, bradykinesia, tremor) is associated with damage to over 60 % of dopaminergic neurons of the substantia nigra, leading to a decrease in the concentration of dopamine in the striatum [1]. To date, the etiology of PD has not been fully studied, however, it is known that the disease is multifactorial in nature, and there are both exogenous and endogenous causes. The latter include, in particular, mutations of about 20 genetic loci. Causal genes are conditionally divided into those that directly lead to the appearance of PD (*PARK1*, *PARK2* and *PARK8*, etc.) and those that increase the risk of the disease to a certain extent (*GBA*, *MAPT*). We performed mutational screening of the *PARK2*, *PINK1*, *SNCA*, *ATP13A2*, *PARK7*, *LRRK2*, *UCHL*, *GCH1*, *CAV-1* and *CAV-2* genes for the presence of large deletions and duplications, as well as some point mutations using MLPA analysis technology, in addition screening of 8–11 exons (as containing the most significant mutations) of the *GBA* gene by Sanger sequencing in 61 patients with Parkinson's disease. Mutations were detected only in the *GBA* gene in 9 people, among them both relatively frequent (L444P, T369M, E326K, D448H) and rare (V460V, c. * 92G> A (rs708606)), whose influence on the development of the disease today day is not confirmed. An important fact is that two of the 9 patients presented turned out to be compound heterozygous carriers of two mutations, which, apparently, affected the very early age of the debut in these cases. It is worth noting that such a study was conducted for the first time in Siberia and in the Krasnoyarsk region in particular.

Key words: Parkinson's disease, mutational screening, *GBA*, *PARK2*, *PINK1*, *SNCA*, *ATP13A2*, *PARK7*, *LRRK2*.

Распространенность БП составляет примерно 100–150 случаев на 100 тыс. населения, частота встречаемости для лиц старше 60 лет – 1–2 %, при этом около 17 % всех случаев заболевания обнаруживаются в возрасте до 50 лет, таким образом, недуг поражает часть трудоспособного населения, что приводит к значительным социальным и экономическим последствиям [2]. В основном заболевание носит спорадический характер, однако 15 % случаев представлено семейными формами, и именно у таких больных чаще всего обнаруживаются мутации, ассоциированные с БП, при этом зачастую отмечается ранний возраст начала заболевания.

Цель исследования – проведение мутационного скрининга генов *PARK2*, *PINK1*, *SNCA*, *ATP13A2*, *PARK7*, *LRRK2*, *UCHL*, *GCH1*, *CAV-1*, *CAV-2* и *GBA*, а также выявление возможных фенотипических корреляций между обнаруженными мутациями и клиническими особенностями течения БП у пациентов.

В исследование были отобраны пациенты, соответствовавшие следующим критериям включения: возраст старше 18 лет; у пациента установлен диагноз болезни Паркинсона в соответствии с «UNITED KINGDOM PARKINSON'S DISEASE SOCIETY BRAIN BANK CRITERIA»; возраст дебюта заболевания (появления моторных симптомов) от 20 до 50 лет и / или наличие кровных родственников с БП.

Для анализа генов *PARK2*, *PINK1*, *SNCA*, *ATP13A2*, *PARK7*, *LRRK2*, *UCHL*, *GCH1*, *CAV-1* и *CAV-2* использовался метод мультиплексной пробозависимой лигазной реакции с амплификацией (MLPA), анализ гена *GBA* проводился методом прямого секвенирования по Сенгеру. Объектом исследования стала геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови пациентов. При анализе гена *GBA* учитывалось существование псевдогена *GBAP*, на 96 % гомологичного последовательности гена и влияющего на достоверность результатов. Для исключения данного влияния был использован метод гнездовой (вложенной) полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью специально подобранных праймеров (табл. 1).

Методы секвенирования по Сенгеру и MLPA проводились на генетическом анализаторе AB 3500 («Applied Biosystems»). Была проанализирована ДНК 61 пациента. Мутации в генах, анализируемых методом MLPA, обнаружены не были. Анализ гена GBA показал наличие мутаций и полиморфизмов у 9 пациентов (табл. 2).

Согласно данным различных авторов, вклад мутаций в генах *PARK2*, *PINK1*, *SNCA*, *ATP13A2*, *PARK7*, *LRRK2*, *UCHL*, *GCH1*, *CAV-1* и *CAV-2* в развитие спорадических форм БП может составлять 1–6 % [3], а при развитии семейных форм – 1–15 % в зависимости от анализируемых генов [4]. Возможно, распространенность соответствующих мутаций среди пациентов Красноярского региона довольно низка, и при увеличении выборки пациентов мутации в данных генах будут выявлены. Описанная в литературе частота встречаемости мутаций в гене GBA составляет 4–5 % для европейских популяций [5]. В то же время соответствующая частота в приведенном исследовании составляет 14,7 %, что может объясняться критериями выборки пациентов (начало заболевания до 50 лет и / или наличие семейного анамнеза). Мутации в гене GBA подразделяют на «тяжелые» и «мягкие» в зависимости от степени влияния на уровень активности кодируемого фермента – β -глюкоцереброзидазы. «Тяжелые» мутации (например, L444P и D409H) приводят к значительному снижению активности фермента, а «мягкие» (N370S) влияют в меньшей степени. Также выделяют два полиморфизма (E326K и T369M), степень влияния которых еще меньше, чем у «мягких» мутаций. К наиболее частым мутациям относятся N370S и L444P. Последняя была выявлена в нашем исследовании у двоих пациентов, причем в сочетании с одним из двух вышеназванных полиморфизмов (компаунд-гетерозиготное носительство). У обоих пациентов имеет место раннее начало заболевания: 45 лет в случае носительства L444P и T369M у первого человека, 30 лет – при L444P и E326K у второго. Помимо этого, у отца второго пациента также был диагноз БП, причем наблюдалось тяжелое и быстро прогрессирующее течение заболевания с летальным исходом по истечении 8 лет от дебюта. Для пациента с мутацией D409H также оказался характерным ранний возраст начала заболевания – 44 года. Касательно мутации V460V, обнаруженной у одного пациента в гетерозиготном, а у другого в гомозиготном состоянии, стоит сказать, что она является частью комплексной мутации RecNciI (p.L444P; p.A456P; p.V460V), однако две другие мутации из трех нами найдены не были. В связи с тем, что замена является синонимичной, можно предположить, что влияние данной мутации на развитие БП определяется нарушением регуляции экспрессии гена, например, при участии соответствующей микроРНК. О связи однонуклеотидной замены rs708606 в некодирующей области 11-го экзона гена GBA с БП информация в литературе стала появляться лишь относительно недавно. Например, согласно исследованию M.V.M.B. Wilke et al. [6], такие пограничные мутации могут быть причиной немоторных симптомов при БП. Во многих литературных источниках говорится об ассоциации «тяжелых» мутаций в гене GBA с ранним началом БП, с чем согласуются полученные нами данные. Кроме того, считается, что фенотипические проявления GBA – ассоциированной БП не отличаются от проявлений идиопатической БП, и в нашем исследовании также не обнаружено клинических особенностей у пациентов с выявленными мутациями в гене GBA.

Таблица 1

Праймеры, используемые при секвенировании гена GBA

Праймер	Forward, 5'-3'	Reverse, 5'-3'
1. ПЦР		
8–11-й экзоны	TGTGTGCAAGGTCCAGGATCAG	ACCACCTAGAGGGGAAAGTG
2. Секвенирующая ПЦР		
8–9-й экзоны	TGTGTGCAAGGTCCAGGATCAG	GTGATGTAAGCCATCCGATG
10–11-й экзоны	GGGTGACTTCTTAGATGAGG	ACCACCTAGAGGGGAAAGTG

Таблица 2

Выявленные мутации и полиморфизмы в гене GBA

Мутация (полиморфизм)	Количество пациентов
L444P + T369M	1
L444P + E326K	1
D409H	1
T369M	3
V460V	2
rs708606	1

ЛИТЕРАТУРА

1. Литвиненко И.В. Болезнь Паркинсона. М.: Миклош, 2006. 216 с.
2. Левин О.С., Федорова Н.В. Болезнь Паркинсона. М.: МЕДпресс-Информ, 2012. 351 с.
3. Cook L., Schulze J., Farlow J. Parkinson Disease Overview. GeneReviews [Internet]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1223/> (cited: 1.02.2020).
4. Brüggemann N., Klein C. Parkin Type of Early-Onset Parkinson Disease. GeneReviews [Internet]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1478/> (cited: 1.02.2020).
5. Иллариошкин С.Н. Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. По материалам IV Национального конгресса по болезни Паркинсона и расстройствам движений (с международным участием). М., 2017. 382 с.
6. Wilke M.V.M.B., Dornelles A.D., Schuh A.S., Vairo F.P., Basgalupp S.P., Siebert M., Nalin T., Piltcher O.B., Schwartz I.V.D. Evaluation of the frequency of non-motor symptoms of Parkinson's disease in adult patients with Gaucher disease type 1. Orphanet J. Rare Dis. 2019 May 10; 14(1): 103. doi: 10.1186/s13023-019-1079-4.

АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА *PPP1R12C* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ПРЕЭКЛАМПСИИ В СОЧЕТАНИИ С СИНДРОМОМ ЗАДЕРЖКИ РОСТА ПЛОДА

Е.А. Решетников

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород, Россия

Аннотация

Цель исследования – изучить роль полиморфизмов гена регуляторной субъединицы 12С протеинфосфатазы 1 (*PPP1R12C*) в развитии преэклампсии в сочетании с синдромом задержки роста плода (СЗРП). В группу исследования вошли 710 женщин: 79 беременных с преэклампсией в сочетании с синдромом задержки роста плода (СЗРП) и 631 женщина с нормальным течением беременности (контрольная группа). Материалом для молекулярно-генетического исследования послужили ДНК, выделенные из лимфоцитов периферической венозной крови исследуемых индивидуумов стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Всем женщинам проведено типирование двух однонуклеотидных полиморфизмов гена регуляторной субъединицы 12С протеинфосфатазы 1 (*PPP1R12C*): C/A *PPP1R12C* (rs2532058), A/G *PPP1R12C* (rs66707428). Анализ ассоциаций SNPs с развитием преэклампсии в сочетании с СЗРП проводили с использованием логистического регрессионного анализа в рамках аддитивной, доминантной и рецессивной генетических моделей.

Установлено, что аллель A rs2532058 *PPP1R12C* ассоциирован с развитием преэклампсии в сочетании с СЗРП в рамках аддитивной (OR=0,66, 95 % CI 0,39–0,96, p=0,03) и доминантной моделей (OR=0,51, 95 % CI 0,28–0,92, p=0,03) взаимодействия аллелей. По локусу rs66707428 *PPP1R12C* достоверных ассоциаций с развитием изученных осложнений беременности выявлено не было.

Таким образом, результаты проведенного исследования показывают, что аллель А гена *PPP1R12C* по локусу rs2532058 является протективным фактором развития преэклампсии в сочетании с синдромом задержки роста плода у женщин Центрально-Черноземного региона России.

Ключевые слова: беременность, преэклампсия, синдром задержки роста плода, плацентарная недостаточность, генетический полиморфизм.

ASSOCIATIONS OF *PPP1R12C* GENE POLYMORPHISMS WITH A RISK OF PREECLAMPSIA IN COMBINATION WITH FETAL GROWTH RESTRICTION

E.A. Reshetnikov

Belgorod State University, Belgorod, Russia

Abstract

Objective – to study the role of gene polymorphisms of the regulatory subunit of 12C protein phosphatase 1 (*PPP1R12C*) in the development of preeclampsia with fetal growth restriction (FGR).

Research group: 710 women: 79 pregnant women with preeclampsia and fetal growth restriction (FGR) and 631 women with normal pregnancy (control group). The material for molecular genetic research was DNA isolated from peripheral venous blood lymphocytes of the studied individuals using the standard phenol-chloroform extraction method. All women underwent typing of two single nucleotide polymorphisms of the gene of the regulatory subunit 12C protein phosphatase 1 (*PPP1R12C*): C/A *PPP1R12C* (rs2532058), A/G *PPP1R12C* (rs66707428). Analysis of the associations of SNPs with the development of preeclampsia in combination with FGR allows the use of logistic regression analysis in the framework of additive, dominant and recessive genetic models.

It was found that the allele A rs2532058 *PPP1R12C* is associated with the development of preeclampsia in combination with FGR within the framework of the additive (OR = 0,66, 95 % CI 0,39–0,96, p = 0,03) and dominant models (OR = 0,51, 95 % CI 0,28–0,92, p = 0,03) interaction of alleles. At the rs66707428 locus *PPP1R12C*, no reliable associations with the development of the studied pregnancy complications were revealed.

Thus, the results of the study show that the allele A *PPP1R12C* gene rs2532058 in focus is a protective factor for the development of preeclampsia in combination with fetal growth restriction in women of the Central Black Earth Region of Russia.

Key words: pregnancy, preeclampsia, fetal growth restriction, placental insufficiency, genetic polymorphism.

Актуальность

Плацентарная недостаточность (ПН) – клинический синдром, обусловленный морфофункциональными изменениями в плаценте и нарушениями компенсаторно-приспособительных механизмов, обеспечивающих функциональную полноценность органа. ПН представляет собой результат сложной реакции плода и плаценты на различные патологические состояния материнского организма и проявляется в комплексе нарушений транспортной, трофической, эндокринной и метаболической функций плаценты, лежащих в основе патологии плода и новорожденного [1].

Последствия плацентарной гипоперфузии у плода – задержка роста, а в некоторых случаях – антенальная гибель. Для матери антиангиогенные факторы, высвобождаемые ишемической плацентой, приводят к эндотелиальной дисфункции и клиническим проявлениям преэклампсии, включая артериальную гипертензию и протеинурию [2].

По данным мировой литературы и ВОЗ, частота преэклампсии составляет 2–8 % [3, 4]. ПЭ остается важной причиной материнской, перинатальной и неонатальной заболеваемости и смертности [4, 5].

В 60 % случаев плацентарная недостаточность приводит к развитию СЗРП, который занимает третье место в структуре причин перинатальной заболеваемости [6]. В дальнейшем у детей с СЗРП отмечается отставание в физическом развитии, его дисгармоничность, задержка темпов психомоторного развития [7].

Многочисленные исследования указывают на мультифакториальность преэклампсии и СЗРП, что предполагает оценку генетического компонента в развитии данных осложнений беременности. В настоящее время научные исследования, посвященные молекулярно-генетическому исследованию преэклампсии и СЗРП, активно проводятся по всему миру [8–11].

Цель исследования – изучить роль полиморфизмов гена регуляторной субъединицы 12С протеинфосфатазы 1 (*PPP1R12C*) в развитии преэклампсии в сочетании с синдромом задержки роста плода (СЗРП).

Материал и методы

В группу исследования вошли 710 женщин: 79 беременных с преэклампсией в сочетании с синдромом задержки роста плода (СЗРП) и 631 женщина с нормальным течением беременности (контрольная группа).

В исследуемые выборки включались женщины русской национальности, родившиеся в Центральном Черноземье России, не имеющие между собой родства, проживающие в Белгородской области и добровольно согласившиеся на проведение исследования. Клинико-лабораторное обследование беременных проводилось на базе Перинатального центра Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа.

Диагноз преэклампсии ставился на основании генерализованных отеков, артериальной гипертензии и протеинурии. Диагностика синдрома внутриутробной 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). Полученные при ультразвуковом исследовании фетометрические показатели сравнивались с номограммами F. Hadlock и гестационным сроком.

Материалом для молекулярно-генетического исследования послужили ДНК, выделенные из лимфоцитов периферической венозной крови исследуемых индивидуумов стандартным фенольно-хлороформной экстракцией.

Генотипирование образцов ДНК выполнено методом матрично-активированной лазерной десорбции / ионизации (MALDI) на платформе iPLEX масс-спектрометра MassARRAY Analyzer 4 («Sequenom») на базе НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН. Всем женщинам проведено типирование двух однонуклеотидных полиморфизмов гена регуляторной субъединицы 12С протеинфосфатазы 1 (PPP1R12C): C/A PPP1R12C (rs2532058), A/G PPP1R12C (rs66707428).

Анализ ассоциаций SNPs с развитием преэклампсии в сочетании с СЗРП проводили с использованием логистического регрессионного анализа в рамках аддитивной, доминантной и рецессивной генетических моделей. Исследование проводили с учетом коррекции на ковариаты: возраст, индекс массы тела, возраст появления менархе, количество искусственных абортов в анамнезе, количество мертворождений в анамнезе, количество спонтанных абортов в анамнезе, наличие артериальной гипертензии до наступления беременности, наличие преэклампсии в анамнезе.

Результаты

По всем изученным полиморфизмам частоты минорных аллелей (MAF) были выше 5 %. Исследование распределения генотипов полиморфных маркеров у беременных с преэклампсией в сочетании с СЗРП и беременных контрольной группы показало, что эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга ($p > 0,05$).

Результаты оценки ассоциаций изученных полиморфизмов гена PPP1R12C с риском развития преэклампсии в сочетании с СЗРП представлены в таблице.

Установлено, что аллель A rs2532058 PPP1R12C ассоциирован с развитием преэклампсии в сочетании с СЗРП в рамках аддитивной ($OR=0,66$, $p=0,03$) и доминантной моделей ($OR=0,51$, $p=0,001$) взаимодействия аллелей. По локусу rs66707428 PPP1R12C достоверных ассоциаций с развитием изученных осложнений беременности выявлено не было.

Выводы

Таким образом, результаты проведенного исследования показывают, что аллель A гена PPP1R12C по локусу rs2532058 является протективным фактором развития преэклампсии в сочетании с синдромом задержки роста плода у женщин Центрально-Черноземного региона России.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ Российской Федерации (проект НШ-2609.2020.7).

Клинические и клинико-анамнестические характеристики исследуемых групп беременных

Показатели	Беременные с преэклампсией и СЗРП (n = 79) $\bar{X} \pm SD$ (min-/max)/%(n)	Контроль (n = 631) $\bar{X} \pm SD$ (min-/max)/%(n)	p
Возраст, лет	27,92±5,46 (17–45)	26,57±4,94 (18–41)	0,026
Рост, м	1,64±0,06 (1,54–1,87)	1,65±0,06 (1,47–1,99)	0,77
Масса тела, кг	66,78±15,15 (42–116)	63,50±11,22 (42–100)	0,13
ИМТ, кг/м ²	24,78±5,73	23,40±3,47	0,37
Распред. индивидуумов по ИМТ:			
недостаток массы тела (<18,50)	6,33 (5)	3,65 (23)	0,016
нормальная масса тела (18,50–24,99)	56,96 (45)	64,82 (409)	
избыточная масса тела (25,00–29,99)	13,92 (11)	25,99 (164)	
ожирение (>30)	22,78 (18)	5,54 (35)	
Показатели реализации репродуктивной функции			
Первая беременность	36,71 (29)	40,41 (255)	0,19
Количество беременностей	1,86±1,78	1,07±2,04	0,0001
Количество родов	0,63±0,64	0,56±0,81	0,17
Количество мертворождений	0,038±0,19	0,007±0,08	0,037
Количество выкидышей	0,29±0,54	0,13±0,35	0,007
Количество искусственных абортов	0,92±1,14	0,37±0,78	0,0001
Факторы риска			
Курение	58,23 (46)	63,71 (402)	0,59
Алкоголь	91,14 (72)	79,72 (503)	0,12
Артериальная гипертензия до беременности	27,85 (22)	1,74 (11)	0,00001
ЗППП в анамнезе	30,38 (24)	26,62 (168)	0,63
Преэклампсия в анамнезе	24,05 (19)	3,80 (24)	0,0001
СЗРП в анамнезе	22,79 (18)	0,79 (5)	0,0001

Примечание. p – уровень значимости различий между сравниваемыми группами по критерию Краскела–Уоллиса.

ЛИТЕРАТУРА

- Burton G.J., Redman C.W., Roberts J.M., Moffett A. Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications. *BMJ*. 2019 Jul 15; 366: 12381. doi: 10.1136/bmj.12381.
- Eiland E., Nzerue C., Faulkner M. Preeclampsia 2012. *J. Pregnancy*. 2012; 2012: 586578. doi: 10.1155/2012/586578.
- Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol*. 2009 Jun; 33(3): 130–7. doi: 10.1053/j.semperi.2009.02.010.
- Abalos E., Cuesta C., Carroli G., Qureshi Z., Widmer M., Vogel J.P., Souza J.P. WHO Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health Research Network. Pre-eclampsia, eclampsia and adverse maternal and perinatal outcomes: a secondary analysis of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *BJOG*. 2014 Mar; 121 Suppl 1: 14–24. doi: 10.1111/1471-0528.12629.
- Vogel J.P., Souza J.P., Mori R., Morisaki N., Lumbiganon P., Laopaiboon M., Ortiz-Panoso E., Hernandez B., Pérez-Cuevas R., Roy M., Mittal S., Cecatti J.G., Tunçalp Ö., Gülmezoglu A.M. WHO Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health Research Network. Maternal complications and perinatal mortality: findings of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *BJOG*. 2014 Mar; 121 Suppl 1: 76–88. doi: 10.1111/1471-0528.12633.
- Серов В.Н. Профилактика материнской смертности. *Акушерство и гинекология*. 2011; 7(1): 4–10.
- Nardozza L.M., Caetano A.C., Zamarian A.C., Mazzola J.B., Silva C.P., Marçal V.M., Lobo T.F., Peixoto A.B., Araujo Júnior E. Fetal growth restriction: current knowledge. *Arch Gynecol Obstet*. 2017 May; 295(5): 1061–1077. doi: 10.1007/s00404-017-4341-9.
- Трифонов Е.А., Габидулина Т.В., Еришов Н.И., Сереброва В.Н., Ворожжицева А.Ю., Степанов В.А. Характеристика транскриптома плацентарной ткани у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией. *Acta Naturae* (русскоязычная версия). 2014; 2(21): 77–90.
- Zhao L., Bracken M.B., DeWan A.T. Genome-wide association study of pre-eclampsia detects novel maternal single nucleotide polymorphisms and copy-number variants in subsets of the Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) study cohort. *Ann Hum Genet*. 2013 Jul; 77(4): 277–87. doi: 10.1111/ahg.12021.
- Reshetnikov E., Zarudskaya O., Polonikov A., Bushueva O., Orlova V., Krikun E., Dvornik V., Churnosov M. Genetic markers for inherited thrombophilia are associated with fetal growth retardation in the population of Central Russia. *J. Obstet Gynaecol Res*. 2017 Jul; 43(7): 11391144. doi: 10.1111/jog.13329.
- Jones R., Peña J., Mystal E., Marsit C., Lee M.J., Stone J., Lambertini L. Mitochondrial and glycolysis-regulatory gene expression profiles are associated with intrauterine growth restriction. *J. Matern Fetal Neonatal Med*. 2020 Apr; 33(8): 1336–1345. doi: 10.1080/14767058.2018.1518419.

АНАЛИЗ ДВУХЛОКУСНЫХ МОДЕЛЕЙ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ГЛАУКОМЫ У МУЖЧИН

Д.И. Свиарева

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,
г. Белгород, Россия

Аннотация

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) – это хроническое заболевание глаз, сопровождающееся повышением внутриглазного давления и характерными изменениями поля зрения. Мужской пол является фактором риска развития глаукомы. Важным процессом при этом является нарушение баланса между синтезом новых волокон, составляющих РПС, и потерей старых, что в литературе получило название «ремоделирование». Главной причиной патологического ремоделирования в решетчатой пластинке склеры считается избыточный синтез матриксных металлопротеиназ (ММР). Цель исследования – изучение двухлокусных моделей взаимодействия полиморфных локусов генов матриксных металлопротеиназ, ассоциированных с формированием ПОУГ у мужчин. Выборку для исследования составили 236 мужчин русской национальности, являющихся уроженцами Центрального Черноземья РФ и не имеющих родства между собой, с ранее установленным или впервые выявленным диагнозом первичной открытоугольной глаукомы, и 174 здоровых мужчины контрольной группы. Среди изученных семи полиморфных локусов генов ММР в состав моделей SNP4SNP взаимодействий, связанных с формированием заболевания, входят пять полиморфных локусов: rs1799750 *MMP-1*, rs679620 *MMP-3*, rs3918249 *MMP-9*, rs17576 *MMP-9*, rs2250889 *MMP-9*. Нами выявлено 4 двухлокусных модели SNP4SNP взаимодействий, определяющих подверженность к развитию ПОУГ у мужчин ($p=0,001-0,004$, $p_{perm}=0,007-0,042$). Модель, включающая полиморфные локусы rs679620 *MMP-3* и rs1799750 *MMP-1*, имеет наибольшую статистическую значимость ($p=0,003$, $p_{perm}=0,007$). Нами установлено, что 3 из 4 статистически значимых моделей ассоциированы с повышенным риском развития заболевания ($OR=1,80-3,17$). SNP4SNP взаимодействия генов матриксных металлопротеиназ определяют подверженность к развитию ПОУГ у мужчин.

Ключевые слова: ассоциации, глаукома, матриксные металлопротеиназы, мужчины, полиморфизм.

ANALYSIS OF TWO-LOCUS MODELS OF INTERACTION OF MATRIX METALLOPROTEINASE GENES IN THE GLAUCOMA FORMATION AMONG MEN

D.I. Svinareva

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod State National Research University», Belgorod, Russia

Abstract

Primary open-angle glaucoma (POAG) is a chronic eye disease accompanied by increased intraocular pressure and changes in the vision field. Male gender is a risk factor for glaucoma development. An important process in this case is the violation of the balance between the synthesis of new fibers that make up the RPS, and the loss of old ones, in the literature has been called «remodeling». The main cause of pathological remodeling in the lattice plate of the sclera is considered to be excessive synthesis of matrix metalloproteinase (MMP). Objective – to study two-locus models of interaction of polymorphic loci of matrix metalloproteinase genes associated with the formation of POAG in men. The sample for the study was made up of 236 Russian men, who do not have any relationship with each other, with a primary open-angle glaucoma, and 174 healthy men of the control group. Among the studied seven polymorphic loci of MMP genes, the SNP4SNP models of interactions associated with disease formation include five polymorphic loci: rs1799750 *MMP-1*, rs679620 *MMP-3*, rs3918249 *MMP-9*, rs17576 *MMP-9*, rs2250889 *MMP-9*. We have identified 4 two-locus models of SNP4SNP interactions that determine the susceptibility to the development of POAG in men ($p=0,001-0,004$, $p_{perm}=0,007-0,042$). The model including polymorphic loci rs679620 *MMP-3* and rs1799750 *MMP-1* has the highest statistical significance ($p=0,003$, $p_{perm}=0,007$). We found that 3 out of 4 statistically significant models

were associated with an increased risk of developing the disease (OR=1,80–3,17). SNP×SNP interactions of matrix metalloproteinase genes that determine the susceptibility to the development of POAG in men.

Key words: associations, glaucoma, matrix metalloproteinases, men, polymorphism.

Введение

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) – это хроническое заболевание глаз, сопровождающееся повышением внутриглазного давления и характерными изменениями поля зрения. Мужской пол является фактором риска развития глаукомы. Несмотря на многочисленные исследования, молекулярные механизмы патогенеза данного заболевания до конца не выяснены. Данные гистологических исследований доказывают важную роль соединительной ткани в возникновении и развитии заболевания в рамках механической теории патогенеза ПОУГ. При ПОУГ нарушается образование компонентов экстрацеллюлярного матрикса, повышается жесткость и снижаются эластические свойства роговицы и склеры глаза. Регуляция экстрацеллюлярного матрикса происходит при помощи протеолитических ферментов, в частности, металлопротеиназ.

Семейство матриксных металлопротеиназ (ММП) представляет собой семейство цинк- и кальций-зависимых эндопептидаз и состоит из более чем 20 энзимов, которые способны расщеплять почти все компоненты экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани. ММП являются основными регуляторами состава внеклеточного матрикса, своевременная деградация которого лежит в основе процессов эмбриогенеза, морфогенеза, репарации и ремоделирования тканей [1]. При заболевании глаукомой нарушается образование компонентов экстрацеллюлярного матрикса (коллагена, протеогликанов, молекул клеточной адгезии), а именно повышается жесткость и снижаются эластические свойства роговицы и склеры глаза [2]. Регуляция экстрацеллюлярного матрикса происходит при помощи протеолитических ферментов, в частности, металлопротеиназ, а также специфических ингибиторов их активности – тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMs). Важным процессом при этом является нарушение баланса между синтезом новых волокон, составляющих РПС, и потерей старых, что в литературе получило название «ремоделирование» [3]. Главной причиной патологического ремоделирования в решетчатой пластинке склеры считается избыточный синтез ММП [4]. Матриксная металлопротеиназа-9 (ММП-9, также известная как желатиназа В) принимает участие в процессах воспаления, ремоделирования ткани и репарации, мобилизации матрикс-связанных факторов роста и процессинга цитокинов. Активность ММП-9 ингибируется TIMP-3 и регулируется различными цитокинами и факторами роста, включая интерлейкины, интерфероны, эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста нервов (NGF), основной фактор роста фибробластов (FGFb), фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор некроза опухоли α (TNF- α), трансформирующий фактор роста β (TGF- β) и остеопонтин [5–8]. Основной функцией ММП-9 является разрушение белков внеклеточного матрикса, а также активация различных факторов роста, таких как pro-TGF- β и pro-TNF- α [9]. Повышение содержания металлопротеиназы-9 как в системном кровотоке, так и местно также может свидетельствовать о нарушении процессов клеточного ремоделирования в структурах глаза, что способствует формированию аутоиммунного воспаления с деструкцией тканей [2].

Цель исследования – изучение двухлокусных моделей взаимодействия полиморфных локусов генов матриксных металлопротеиназ, ассоциированных с формированием ПОУГ у мужчин

Материал и методы

Выборку для исследования составили 236 мужчин русской национальности, являющихся уроженцами Центрального Черноземья РФ и не имеющих родства между собой, с ранее установленным или впервые выявленным диагнозом первичной открытоугольной глаукомы, подтвержденного клиническими, инструментальными и лабораторными методами обследования, и 174 мужчины контрольной группы, которые не имеют данного заболевания. Все включенные в исследование родились и проживали в Центральном Черноземье России, русской национальности, не имели родства между собой. Диагноз глаукома устанавливался по основным диагностическим критериям: повышенное ВГД, наличие глаукоматозной экскавации ДЗН, характерные изменения периферического поля зрения. Группа контроля была сформирована из индивидуумов, не имеющих острых и хронических заболеваний глаз, у которых отсутствовали какие-либо признаки глаукомы. Было проведено молекулярно-генетическое исследование семи полиморфных локусов матриксных металлопротеиназ (rs679620 ММП-3,

rs1799750 *MMP-1*, rs2250889 *MMP-9*, rs17576 *MMP-9*, rs3918249 *MMP-9*, rs3787268 *MMP-9*, rs17577 *MMP-9*). Анализ полиморфных маркеров осуществлялся методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров и зондов на амплификаторе CFX96. Межгенные взаимодействия изучали с помощью программного обеспечения APSampler (<http://sources.redhat.com/cygwin/>), использующего метод Монте-Карло марковских цепей и байесовскую непараметрическую статистику [10]. Силу ассоциации оценивали на основе показателя отношения шансов (OR) и его 95 % доверительного интервала (95 % CI). С целью коррекции на множественные сравнения выполнен пермутационный тест (статистически значимым уровнем считали $p_{\text{perm}} < 0,05$).

Результаты

С помощью программного обеспечения APSampler установлены сочетания аллелей / генотипов полиморфных локусов генов *MMP*, ассоциированные с развитием ПОУГ у мужчин (таблица). Среди изученных семи полиморфных локусов генов *MMP* в состав моделей SNPЧSNP взаимодействий, связанных с формированием заболевания, входят пять полиморфных локусов: rs1799750 *MMP-1*, rs679620 *MMP-3*, rs3918249 *MMP-9*, rs17576 *MMP-9*, rs2250889 *MMP-9*. Нами выявлено 4 двухлокусных модели SNPЧSNP взаимодействий, определяющих подверженность к развитию ПОУГ у мужчин. При этом следует отметить, что все модели имеют необходимую статистическую значимость с учетом проведенного пермутационного теста ($p=0,001-0,004$, $p_{\text{perm}}=0,007-0,042$). Модель, включающая полиморфные локусы rs679620 *MMP-3* и rs1799750 *MMP-1*, имеет наибольшую статистическую значимость ($p=0,003$, $p_{\text{perm}}=0,007$). Нами установлено, что 3 модели из 4 статистически значимых моделей ассоциированы с повышенным риском развития заболевания (OR=1,80–3,17).

Заключение

SNPЧSNP взаимодействия генов матриксных металлопротеиназ определяют подверженность к развитию ПОУГ у мужчин.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ Российской Федерации (проект НШ-2609.2020.7).

ЛИТЕРАТУРА

1. Bonnans C., Chou J., Werb Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014 Dec; 15(12): 786–801. doi: 10.1038/nrm3904.
2. Арапиев М.У., Ловпаче Д.Н., Слепова О.С., Балацкая Н.В. Исследование факторов регуляции экстраклеточного матрикса и биомеханических свойств корнеосклеральной оболочки при физиологическом старении и первичной открытоугольной глаукоме. *Национальный журнал «Глаукома».* 2015; 14(4): 13–20.
3. Курьшова Н.И. Глаукомная оптическая нейропатия. М.: МЕДпресс-информ, 2006. 136 с.
4. Golubnitschaja O., Yeghiazaryan K., Liu R., Mönkemann H., Leppert D., Schild H., Haefliger I.O., Flammer J. Increased expression of matrix metalloproteinases in mononuclear blood cells of normal-tension glaucoma patients. *J. Glaucoma.* 2004 Feb; 13(1): 66–72. doi: 10.1097/00061198-200402000-00013.
5. Kim J.W. Effect of Nitric Oxide on the Expression of Matrix Metalloproteinase and Its Association with Migration of Cultured Trabecular Meshwork Cells. *Korean J. Ophthalmol.* 2016 Feb; 30(1): 66–75. doi: 10.3341/kjo.2016.30.1.66.
6. Кириленко М.Ю., Тикунова Е.В., Сиротина С.С., Полоников А.В., Бушуева О.Ю., Чурносков М.И. Изучение ассоциаций генетических полиморфизмов факторов роста с развитием первичной открытоугольной глаукомы. *Вестник офтальмологии.* 2017; 133(3): 9–15.
7. Tikunova E., Ovtcharova V., Reshetnikov E., Dvornyk V., Polonikov A., Bushueva O., Churnosov M. Genes of tumor necrosis factors and their receptors and the primary open angle glaucoma in the population of Central Russia. *Int J. Ophthalmol.* 2017 Oct 18; 10(10): 1490–1494. doi: 10.18240/ijo.2017.10.02.
8. Тикунова Е.В., Чурносков М.И. Генетические исследования при первичной открытоугольной глаукоме. *Вестник офтальмологии.* 2014; 130(5): 96–99. doi: 10.1534/genetics.105.048090.
9. Rönkkö S., Rekonen P., Kaarniranta K., Puustjärvi T., Teräsvirta M., Uusitalo H. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the chamber angle of normal eyes and patients with primary open-angle glaucoma and exfoliation glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2007 May; 245(5): 697–704. doi: 10.1007/s00417-006-0440-1.
10. Favorov A.V., Andreewski T.V., Sudomoina M.A., Favorova O.O., Parmigiani G., Ochs M.F. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans. *Genetics.* 2005 Dec; 171(4): 2113–21. doi: 10.1534/genetics.105.048090.

НАРУШЕНИЕ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ У АБОРТУСОВ ПЕРВОГО ТРИМЕСТРА БЕРЕМЕННОСТИ С ЧИСЛОВЫМИ ХРОМОСОМНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ

Е.С. Сердюкова¹, О.Ю. Васильева², А.В. Марков², С.А. Васильев²

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия¹,
Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

Большинство эмбрионов, погибших в начале первого триместра беременности, имеют хромосомные нарушения, большей частью которых являются анеуплоидии. Возникновение геномной мутации может быть связано с нарушением эпигенетической регуляции генома, в частности, уровня его метилирования. В свою очередь, нарушение дозы генов вследствие изменения числа хромосом при анеуплоидии может приводить к изменению уровня метилирования ДНК в промоторах отдельных генов, приводя к нарушению нормального эмбрионального развития. Научная новизна данной работы заключается в том, что впервые с помощью таргетного бисульфитного массового параллельного секвенирования определен индекс метилирования ДНК в CpG-островках отдельных генов в выборке спонтанных абортусов с анеуплоидиями. На основе биобанка НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ сформированы выборки образцов цитотрофобласта хориона 22 спонтанных абортусов с трисомией 16 и 10 медицинских абортусов первого триместра беременности. Из экстраэмбриональных тканей была выделена ДНК, которая далее подвергалась бисульфитной конверсии. Вследствие конверсии ДНК все неметилированные цитозины конвертируются в урацил с последующим замещением на тимин, в то время как метилированные цитозины в составе CpG-островков остаются в неизменном виде. Далее мы проводили ПЦР-амплификацию фрагмента бисульфит-конвертированной ДНК, включающего несколько анализируемых CpG-сайтов, с последующим созданием библиотек и мультиплексным анализом на приборе MiSeq (Illumina, США). Анализируемые гены (*ANKRD53*, *GATA3*, *CALCB*, *TRPV6*, *SCL13A4*) были выбраны на основе результатов предварительных широкогеномных исследований с помощью метилчипов. В настоящем исследовании было показано, что у всех генов данной панели наблюдается повышение уровня метилирования в промоторах у спонтанных абортусов с трисомией 16. Кроме того, у спонтанных абортусов с мозаичной формой трисомии 16 наблюдается отрицательная корреляция между метилированием промотора гена *ANKRD53* и долей клеток с трисомным кариотипом. Таким образом, трисомия 16 связана с гиперметилированием генома в трофобласте, которое может приводить к летальности эмбриона на ранних стадиях эмбриогенеза.

Ключевые слова: метилирование ДНК, анеуплоидия, эмбриогенез, трофобласт, бисульфитное секвенирование, спонтанные абортусы.

ABNORMAL METHYLATION OF GENE PROMOTERS IN FIRST TRIMESTER MISCARRIAGES WITH NUMERICAL CHROMOSOMAL ABNORMALITIES

E.S. Serdyukova¹, O.Yu. Vasilyeva², A.V. Markov², S.A. Vasilyev²

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia¹,
Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Tomsk, Russia²

Abstract

More than half of the embryos that died at the beginning of the first trimester of pregnancy have chromosomal abnormalities, most of which are aneuploidy. The occurrence of a genomic mutation may be associated with abnormal epigenetic regulation of the genome, in particular, its methylation level. In turn, increased gene dosage due to changes in the number of chromosomes can lead to a change in the level of DNA methylation in the promoters of individual genes, leading to a disruption in normal embryonic development. The scientific novelty of this work is that for the first time using the targeted bisulfite mass parallel sequencing, the methylation index in the CpG islands of individual genes in a sample of miscarriages with aneuploidy will be determined. Based on the biobank of the Scientific Research Institute of Medical Genetics of Tomsk National Research Medical Center, the samples of the chorionic cytotrophoblast of 22 miscarriages with trisomy 16 and 10 induced abortions of the first trimester of pregnancy were formed. DNA was isolated from extraembryonic tissues, which was then subjected to bisulfite conversion. As a result of DNA bisulfite conversion, all unmethylated cytosines are converted to uracil followed by substitution with thymine, while methylated cytosines in the CpG islands remain unchanged. Next, we performed PCR amplification of a fragment of a bisulfite-converted DNA, which includes one or more analyzed CpG sites, followed by the generation of libraries and multiplex analysis on a MiSeq instrument (Illumina, USA). Analyzed genes (*ANKRD53*, *GATA3*, *CALCB*, *TRPV6*, and *SCL13A4*) choice were based on preliminary data obtained by genome-wide analysis using DNA methylation arrays. In the present study, it was shown that all genes in this panel show an increase in DNA methylation level. In addition, there is a correlation between the level of methylation of *ANKRD53* gene and the fraction of cells with a trisomic

karyotype of miscarriages with aneuploidy. Thus, trisomy 16 is associated with genome hypermethylation in the trophoblast, which can lead to the embryo death at the early stages of embryogenesis.

Key words: DNA methylation, aneuploidy, embryogenesis, trophoblast, bisulfite sequencing, miscarriages.

Одним из важнейших механизмов, регулирующих транскрипцию генов, является метилирование ДНК. Нарушение уровня метилирования ДНК в ходе эмбриогенеза в связи с воздействием любых патологических факторов является одной из причин неблагоприятного исхода для развивающегося организма [1]. Внутриутробная гибель эмбриона чаще всего происходит на начальных этапах онтогенеза, и в 50 % случаев ее причиной являются геномные мутации, большей частью которых являются трисомии аутосом. В свою очередь, нарушение дозы генов вследствие изменения числа хромосом при анеуплоидии может приводить к изменению уровня метилирования ДНК в промоторах отдельных генов, приводя к нарушению нормального эмбрионального развития. Ранее у спонтанных абортусов с трисомным кариотипом был проведен широкогеномный анализ на метилочипах «Infinium HumanMethylation27 Bead Chip» (Illumina, США), в результате которого были выявлены дифференциально-метилированные гены, часть из которых (*ANKRD53*, *GATA3*, *CALCB*, *TRPV6*, *SCL13A4*) легла в основу панели генов для более подробного изучения уровня метилирования с помощью таргетного бисульфитного массового параллельного секвенирования.

Цель исследования – оценка взаимосвязи индекса метилирования CpG-сайтов промоторов генов с наличием анеуплоидии у спонтанных абортусов I триместра беременности.

Материал и методы

Для проведения исследования на базе биобанка НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ были сформированы выборки образцов цитотрофобласта хориона 22 спонтанных абортусов с трисомией 16 и 10 медицинских абортусов первого триместра беременности. Для проведения молекулярно-генетического анализа использовались образцы цитотрофобласта хориона. Ткань подвергали стандартной обработке протеинкиназой K в течение 16 ч и фенол-хлороформной экстракции, направленной на выделение ДНК. В дальнейшем проводилась бисульфитная конверсия, где неметилированные цитозины конвертировались в урацил с дальнейшей заменой на тимин в ходе ПЦР-реакции, а метилированные цитозины, находящиеся в составе CpG-островков, оставались в неизменном виде. В дальнейшем проводилась ПЦР-амплификация фрагментов модифицированной ДНК, соответствующей промоторам генов *ANKRD53*, *GATA3*, *CALCB*, *TRPV6*, *SCL13A4*, в каждом из которых было несколько анализируемых CpG-сайтов.

Результаты

В результате молекулярно-генетического исследования у спонтанных абортусов с трисомией по хромосоме 16 процент метилирования оказался выше в сравнении с контрольной группой, представленной медицинскими абортусами, в промоторах всей панели генов. Выявлены определённые CpG-сайты, вероятно, задействованные в регуляции экспрессии данных генов. Следовательно, анеуплоидии у спонтанных абортусов сопровождаются глобальными нарушениями эпигенетического статуса. Эти нарушения могут быть связаны с развитием патологических механизмов во внутриутробном развитии, которые впоследствии приводят к гибели эмбриона.

Наблюдалась зависимость между степенью метилирования гена *ANKRD53*, который ответствен за расхождение хромосом в митотическом делении. Возможно, его повышение ответственно за снижение доли трисомного клона у абортусов с анеуплоидией. Гиперметилирование гена может быть причиной возникновения мозаицизма по трисомии 16, часто встречающегося в выборке спонтанных абортусов.

Также на выборке абортусов с анеуплоидией отмечалось aberrантное метилирование регуляторной области транскрипционного фактора *GATA3*, который, в свою очередь, является главным компонентом для своевременной дифференцировки клеток цитотрофобласта в пренатальном периоде, и возможно, что нарушение его экспрессии может повлиять на имплантацию эмбриона в первом триместре беременности, что впоследствии приведёт к неминуемой гибели плода [2].

Промоторы остальных генов (*CALCB*, *TRPV6* и *SCL13A4*) оказались также гиперметилированы, что может оказывать влияние на исход развития эмбриона на ранних этапах беременности.

Выводы

Использование метода таргетного бисульфитного массового параллельного секвенирования позволило обнаружить статистически значимое увеличение уровня метилирования в промоторных областях генов эмбриогенеза. Данные результаты могут свидетельствовать о том, что эпигенетические нарушения в геноме эмбриона с анеупloidией неблагоприятно влияют на взаимодействие между эмбрионом и матерью. Потенциально гиперметилирование анализируемых генов у спонтанных абортусов с трисомией 16 может являться не столько эффектом анеупloidии, сколько адаптацией трофобласта к гибели эмбриона. Это указывает на необходимость проведения дополнительных исследований для изучения уровня метилирования выявленных генов у спонтанных абортусов с нормальным кариотипом.

Исследование проведено при поддержке гранта РНФ № 19-74-10026.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов В.С., Кузнецова Т.В. Цитогенетика эмбрионального развития человека. Научно-практические аспекты. СПб.: Изд-во Н-Л, 2007. 640 с.
2. Yauk C., Polyzos A., Rowan-Carroll A., Somers C.M., Godschalk R.W., Van Schooten F.J., Berndt M.L., Pogribny I.P., Koturbash I., Williams A., Douglas G.R., Kovalchuk O. Germ-line mutations, DNA damage, and global hypermethylation in mice exposed to particulate air pollution in an urban/industrial location. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Jan 15; 105(2): 60–510. doi: 10.1073/pnas.0705896105.

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОМПОНЕНТЫ ПРЕЭКЛАМПСИИ ПО СИСТЕМЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ УЧАСТКОВ ГЕНОВ С ХАРАКТЕРИСТИКОЙ ВКЛАДА ЕСТЕСТВЕННОГО ОТБОРА НА МАКРОЭВОЛЮЦИОННОМ УРОВНЕ В ЕЕ ФОРМИРОВАНИИ

В.Н. Сереброва, Е.А. Трифонова, В.А. Степанов

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

Аннотация

Преэклампсия (ПЭ) является тяжелой мультисистемной патологией беременности с плохо изученным этиопатогенезом, для которой в настоящее время не существует прогностических биомаркеров и эффективной фармакологической терапии. В связи с ведущей ролью плаценты в развитии патологии настоящее исследование посвящено изучению генетической компоненты ПЭ по системе регуляторных полиморфных вариантов (rSNP) наиболее значимых дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) плацентарной ткани и выявлению роли естественного отбора в ее формировании. В представленной работе изучено 46 rSNP 21 ДЭГ. Суммарный объем выборки составил 1 269 образцов ДНК женщин из популяций бурят, русских и якутов. Ассоциация с развитием ПЭ выявлена для 14 rSNP 10 ДЭГ. Действие очищающего отбора наблюдалось для большинства изученных генов-ортологов в ряду представителей отряда Primates и человека. Действие сильного очищающего отбора показано для гена *BHLHE40* при сопоставлении генов-ортологов человека и шимпанзе. В эволюционной линии парвотряда Catarrhini выявлено действие слабого очищающего отбора для 4 rSNP 4 ДЭГ. Таким образом, результаты, полученные в настоящей работе, демонстрируют существенный вклад исследованных маркеров и их адаптивных изменений на макроэволюционном уровне в формировании наследственной подверженности к ПЭ.

Ключевые слова: преэклампсия, плацента, транскриптом, регуляторный однонуклеотидный полиморфный вариант (rSNP), естественный отбор.

ANALYSIS GENETIC COMPONENT OF PREECLAMPSIA VIA THE REGULATORY SITES OF GENES WITH THE CHARACTERISTIC OF NATURAL SELECTION CONTRIBUTION AT THE MACROEVOLUTIONARY LEVEL IN ITS FORMATION

V.N. Serebrova, E.A. Trifonova, V.A. Stepanov

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Tomsk, Russia

Abstract

Preeclampsia (PE) is a severe multisystem pregnancy complication with poorly understood etiopathogenesis, for which there are currently no prognostic biomarkers and effective pharmacological therapy. In connection with the leading role of placenta in the development of pathology, this study is devoted to study the genetic component of PE via the regulatory polymorphic variants (rSNPs) of the most significant differentially expressed genes (DEGs) of the placental tissue and to detecting the role of natural selection in its formation. In this work, we analyzed 46 rSNPs 21 DEGs. The total sample size was 1269 DNA samples of women from populations of Buryats, Russians and Yakuts. Association with the development of PE was detected for 14 rSNPs 10 DEGs. The action of negative selection was observed for most of the studied orthologous genes among the six representatives of the order Primates and humans. The effect of strong negative selection is shown for the *BHLHE40* gene when comparing orthologous genes human and chimpanzees. In the evolutionary line of parvorder Catarrhini we demonstrated the effect of weak negative selection for 4 rSNPs 4 DEGs. Thus, the results obtained in this work demonstrate the significant contribution studied markers and their adaptive changes on the macroevolutionary level to the formation of hereditary predisposition to PE.

Key words: preeclampsia, placenta, transcriptome, regulatory single-nucleotide polymorphisms (rSNPs), natural selection.

Актуальность

Преэклампсия (ПЭ) является тяжелым мультисистемным осложнением беременности, которое возникает после 20-недельного срока гестации и сопровождается артериальной гипертензией со значительной протеинурией. Данная патология затрагивает около 2–8 % беременностей во всем мире и является одной из ведущих причин материнской и перинатальной заболеваемости и смертности. Кроме того, отсутствуют прогностические биомаркеры и эффективная фармакологическая терапия, поскольку этиопатогенез ПЭ остается плохо изученным. Согласно наиболее признанной гипотезе, главным патогенетически значимым процессом в развитии данной патологии является нарушение ремоделирования спиральных артерий на ранних сроках гестации [2]. Таким образом, в связи с ведущей ролью плаценты в этиопатогенезе ПЭ большой интерес представляет изучение вариабельности уровня экспрессии генов плацентарной ткани и механизмов регуляции данных изменений.

Настоящее исследование посвящено изучению роли регуляторных полиморфных вариантов (rSNP) наиболее значимых дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), впервые выявленных по результатам анализа транскриптома плацентарной ткани при ПЭ и физиологической беременности, в формировании наследственной предрасположенности к развитию данной патологии беременности. Кроме того, в данной работе впервые был применен эволюционный подход к анализу формирования генетической архитектуры ПЭ, способный обнаружить новые потенциальные генетические маркеры в генах, вовлеченных в патогенез заболевания и предположительно входящих в состав «упущенной наследуемости» при многофакторных заболеваниях.

Цель исследования – охарактеризовать генетическую архитектуру ПЭ по системе 46 rSNP 21 ДЭГ в этнических выборках бурят, русских, якутов и изучить роль естественного отбора на макроэволюционном уровне в ее формировании.

Материал и методы

Выбор ДЭГ, впервые выявленных по результатам анализа транскриптома плаценты при ПЭ и физиологическом течении беременности, осуществляли согласно результатам 26 статей за период с 2002 по 2013 г. В работу включены только те гены, дифференциальная экспрессия которых показана в трех и более исследованиях. Для поиска наиболее значимых rSNP в выбранных 46 ДЭГ использовали базу данных «RegulomeDB».

Анализ ассоциаций 46 rSNP 21 ДЭГ с развитием ПЭ проводили в этнических выборках бурят (г. Улан-Удэ), русских (г. Томск) и якутов (г. Якутск). В исследование включены 1 269 образцов ДНК женщин: 551 пациентка с умеренной и тяжелой степенью ПЭ (буряты N=139 чел., русские N=195 чел., якуты N=217 чел.) и 718 женщин контрольной группы (буряты N=205 чел., русские N=303 чел., якуты N=210 чел.). Генотипирование осуществляли методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. Соответствие распределения частоты аллелей и генотипов равновесию Харди–Вайнберга проводили с помощью точного теста Фишера, для сравнения частоты аллелей и генотипов между исследуемыми группами использовали критерий χ^2 Пирсона. Для оценки ассоциации rSNP с развитием ПЭ вычисляли отношение шансов (OR) и его 95 % доверительный интервал (95 % CI), статистически значимые различия устанавливали при уровне значимости не более 5 %.

В дальнейшую работу включены 14 rSNP 10 ДЭГ, показавшие статистически значимую ассоциацию с развитием ПЭ в исследуемых выборках. Поиск сигналов естественного отбора на макроэволюционном уровне проводили по 10 ДЭГ в ряду шести представителей отряда Primates (лемур, галаго, макака, гиббон, орангутан, шимпанзе) с помощью теста dN/dS и по 14 rSNP в ряду трех представителей парвотряда Catarrhini (шимпанзе, орангутан и макака-резус) методом INSIGHT [4].

Экспериментальные исследования проведены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ). Проведение настоящего исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Результаты

В представленной работе продемонстрирована статистически значимая ассоциация с развитием ПЭ для 14 rSNP 10 ДЭГ: у бурят – rs12489120 гена *BHLHE40*, rs12678229 гена *NDRG1*, rs66707428 гена *PPP1R12C*, rs10757027 и rs113968629 гена *PLIN2*, rs56153523 гена *SYDE1*; у русских – rs10985257 гена *CORO2A*, rs72959687 гена *INHA*, rs10423795 гена *LHB*, rs1671215 гена *RDH13*, rs56153523 и rs8109071 гена *SYDE1*; у якутов – rs2227262 и rs3802252 гена *NDRG1*, rs34845949 гена *SASH1*. Выявлен ряд предрасполагающих к развитию ПЭ аллелей и генотипов. Так, в группе больных отмечалось значимое повышение частоты аллеля Т (OR=3,16) rs12489120 гена *BHLHE40*, аллеля G (OR=1,45) и генотипа GG (OR=1,93) rs12678229 гена *NDRG1*, аллеля А (OR=2,13) и генотипа AA (OR=2,43) rs66707428 гена *PPP1R12C*, генотипа AA (OR=1,71) rs10757027 гена *PLIN2*, генотипа DEL.A (OR=1,83) rs113968629 гена *PLIN2*, аллеля С (OR=2,16) и генотипа CC (OR=2,58) rs56153523 гена *SYDE1* в выборке бурят; аллеля С (OR=2,33) rs10985257 гена *CORO2A*, аллеля С (OR=1,39) и генотипа CC (OR=2,69) rs72959687 гена *INHA*, аллеля С (OR=1,40) rs10423795 гена *LHB*, аллеля С (OR=1,74) и генотипа CC (OR=1,73) rs56153523 гена *SYDE1*, аллеля G (OR=1,98) и генотипа GG (OR=3,92) rs8109071 гена *SYDE1* в выборке русских; аллеля С (OR=1,66) rs2227262 и аллеля Т (OR=1,37) rs3802252 гена *NDRG1*, генотипа CC (OR=2,69) rs34845949 гена *SASH1* в выборке якутов. Наряду с этим протективными свойствами обладают: аллель С (OR=0,32) rs12489120 гена *BHLHE40*, аллель А (OR=0,69) rs12678229 гена *NDRG1*, аллель G (OR=0,47) и генотип GA (OR=0,4) rs66707428 гена *PPP1R12C*, генотип AT (OR=0,56) rs10757027 гена *PLIN2*, генотип AA (OR=0,59) rs113968629 гена *PLIN2*, аллель Т (OR=0,46) и генотип TT (OR=0,34) rs56153523 гена *SYDE1* в выборке бурят; аллель А (OR=2,33) и генотип AA (OR=0,45) rs10985257 гена *CORO2A*, аллель А (OR=0,72) rs72959687 гена *INHA*, аллель Т (OR=0,71) и генотип TT (OR=0,52) rs10423795 гена *LHB*, генотип CC (OR=0,27) rs1671215 гена *RDH13*, аллель Т (OR=0,57) и генотип TT (OR=0,33) rs56153523 гена *SYDE1*, аллель С (OR=0,51) и генотип CC (OR=0,50) rs8109071 гена *SYDE1* в выборке русских; аллель Т (OR=0,60) и генотип TT (OR=0,09) rs2227262 гена *NDRG1*, аллель С (OR=0,73) rs3802252 гена *NDRG1* в выборке якутов.

Результаты поиска сигналов естественного отбора по 10 ДЭГ в ряду шести представителей отряда Primates и человека демонстрируют сохранение структуры белка для большинства изученных генов-ортологов вследствие действия очищающего отбора. Так, одновременно во всех исследуемых группах действие такого типа отбора показано для 6 генов: *NDRG1*, *PLIN2*, *PPP1R12C*, *RDH13*, *SASH1*, *SYDE1*. Примечательно, что сигналы действия сильного очищающего отбора были выявлены только для гена *BHLHE40* при сопоставлении генов-ортологов человека и шимпанзе. Оценка роли действия естественного отбора в формировании генетической структуры 14 rSNP 10 ДЭГ в эволюционной линии трех представителей парвотряда Catarrhini позволила выявить действие слабого очищающего отбора для 4 rSNP 4

ДЭГ: rs10985257 гена *CORO2A*, rs72959687 гена *INHA*, rs34845949 гена *SASH1*, rs2227262 гена *NDRG1*. Не было выявлено действие сильного очищающего и положительного отбора.

В настоящем исследовании получены результаты, которые согласуются с некоторыми эволюционными гипотезами возникновения ПЭ. Так, для rs2227262 гена *NDRG1* выявлена ассоциация с развитием ПЭ предкового аллеля, который встречается с высокой частотой в мировых популяциях. Важно отметить, что повышенный уровень экспрессии данного гена в условиях гипоксии приводит к дифференцировке и уменьшению степени повреждения клеток трофобласта. Наряду с действием слабого очищающего отбора полученные результаты свидетельствуют о том, что инвазивная гемохориальная плацента человека может являться не следствием адаптивной эволюционной стратегии, а отражением «случайного закрепления» неблагоприятного фенотипа. Большой интерес представляет ассоциация с ПЭ производных аллелей с низкой частотой в мировых популяциях и находящихся под действием слабого очищающего отбора, что было продемонстрировано для 3 гSNP 3 ДЭГ: rs10985257 гена *CORO2A*, rs34845949 гена *SASH1*, rs72959687 гена *INHA*. Функциональная характеристика данных генов предполагает их вовлеченность в этиопатогенез ПЭ. Так, продукт гена *CORO2A* коронин 2А участвует в мембранном транспорте, клеточной подвижности, а также осуществляет дерепрессию Toll-подобных рецепторов генов-мишеней в макрофагах, что может приводить к формированию воспалительного ответа. Продукт гена *SASH1* вовлечен в регуляцию клеточной адгезии и миграции, регулирует внутриклеточную сигнальную трансдукцию, а также способен приводить к экстремальной активации врожденного иммунного ответа и развитию воспаления. Ген *INHA* кодирует α -субъединицу белковых комплексов ингибина, который является фактором роста и дифференцировки. Примечательно, что в сыновотке беременных женщин с ПЭ наблюдается повышение уровня ингибина А, что может являться компенсаторным механизмом для восстановления функций плацентарной ткани. Следует также отметить, что при ПЭ наблюдается гиперэкспрессия данных генов в плаценте по сравнению с уровнем их экспрессии при физиологической беременности. Такие результаты соответствуют представлениям гипотезы «Генетического конфликта интересов», согласно которому отбор действует не только на гены, повышающие поступление питательных веществ к плоду, но и на гены матери, которые стремятся ограничить потребности плода для сохранения общего ресурса организма.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о важной роли регуляторных участков ДЭГ плацентарной ткани в формировании наследственной предрасположенности к развитию ПЭ у бурят, русских и якутов. Кроме того, полученные результаты демонстрируют, что очищающий отбор является значимым эволюционным фактором, действующим как на белок-кодирующие части исследованных генов-ортологов, так и на регуляторные участки выбранных ДЭГ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Burton G.J., Redman C.W., Roberts J.M., Moffett A. Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications. *BMJ*. 2019 Jul 15; 366: l2381. doi: 10.1136/bmj.l2381.
2. Boeldt D.S., Bird I.M. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia. *J. Endocrinol.* 2017 Jan; 232(1): R27–R44. doi: 10.1530/JOE-16-0340.
3. Tannetta D., Sargent I. Placental disease and the maternal syndrome of preeclampsia: missing links? *Curr Hypertens Rep.* 2013 Dec; 15(6): 590–9. doi: 10.1007/s11906-013-0395-7.
4. Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А. Эволюционно-генетический анализ роли регуляторных участков гена *CORO2A* в формировании наследственной предрасположенности к преэклампсии у русских и якутов. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2018; 4(3): 38–48.
5. Elliot M.G. Oxidative stress and the evolutionary origins of preeclampsia. *J. Reprod Immunol.* 2016 Apr; 114: 75–80. doi: 10.1016/j.jri.2016.02.003.
6. Haig D. Genetic conflicts in human pregnancy. *Q. Rev Biol.* 1993 Dec; 68(4): 495–532. doi: 10.1086/418300.

РОЛЬ АЛКИЛИРУЮЩЕГО МУТАГЕНА МИТОМИЦИНА С В ФОРМИРОВАНИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ПРОАТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ФЕНОТИПА

**М.Ю. Синицкий, А.Г. Кутихин, Д.К. Шишкова, А.В. Цепкина, М.А. Асанов,
А.В. Понасенко**

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

Аннотация

Атеросклероз занимает лидирующую позицию в структуре заболеваемости и смертности среди всех сердечно-сосудистых патологий. На настоящий момент имеются свидетельства роли соматических мутаций и генотоксического стресса в развитии эндотелиальной дисфункции. Вместе с тем остается открытым вопрос о фундаментальных основах вклада мутагенеза в атерогенез. Материалом исследования послужили первичные эндотелиальные клетки коронарной и внутренней грудной артерий, экспонированные мутагеном митомицином С, характеризующимся алкилирующим механизмом действия на ДНК. В ходе данного исследования было установлено, что экспозиция первичных эндотелиальных клеток коронарной и внутренней грудной артерий приводит к практически трехкратному превышению частоты цитогенетических повреждений (микроядер, нуклеоплазменных мостов, ядерных протрузий). Установлено, что после 6 ч культивирования клеток в условиях мутагенной нагрузки в культурах наблюдается статистически значимое снижение секреции и экспрессии генов IL-8, а также снижение уровня мРНК IL-6. После элиминирования из культур мутагенного фактора, наоборот, концентрация и уровень мРНК IL-8, а также генная экспрессия IL6 резко возрастали в экспериментальных культурах по сравнению с контролем, причем клетки коронарной артерии были более чувствительны к мутагенному воздействию, чем клетки внутренней грудной артерии. Таким образом, впервые в эксперименте *in vitro* показаны мутаген-индуцированные изменения характера секреции и экспрессии генов проатеросклеротических цитокинов IL-6 и IL-8 в культурах эндотелиальных клеток различных артерий.

Ключевые слова: атеросклероз, мутагенез, генотоксический стресс, митомицин С, микроядерный тест, экспрессия генов, цитокины.

THE ROLE OF ALKYLATING MUTAGEN MITOMYCIN C IN THE FORMATION OF PROATHEROSCLEROTIC PHENOTYPE BY ENDOTHELIAL CELLS

**M.Y. Sinitsky, A.G. Kutikhin, D.K. Shishkova, A.V. Tsepokina, M.A. Asanov,
A.V. Ponasenko**

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

Аннотация

Atherosclerosis is the leader in morbidity and mortality among all cardiovascular pathologies. Nowadays, there are evidences of the role of somatic mutations and genotoxic stress in endothelial dysfunction. At the same time, the question of fundamental basis of the contribution of mutagenesis to atherogenesis remains open. Primary coronary- and internal thoracic arteries endothelial cells exposed by alkylating mutagen mitomycin C were the material of this study. It was found that exposed cultures are characterized by three-fold increasing of cytogenetic damages (micronucleus, nucleoplasmic bridges and nuclear buds) compared to control; the cells of internal thoracic artery have a higher level of DNA lesions in comparison to coronary artery. After elimination mutagenic factor from cultures a significant decrease in the secretion and gene expression of IL-8, as well as a decrease in the mRNA level of the IL-6 gene in the exposed culture was discovered. At the second time point, on the contrary, the concentration and mRNA level of IL-8, as well as expression of the IL6 gene sharply increased in cultures exposed to mitomycin C in comparison with control ($p < 0.01$), and the coronary artery cells were more sensitive to mutagenic effects than the cells of the internal thoracic artery. Thus, for the first time in *in vitro* experiment, mutagen-induced changes in the secretion and gene expression of proatherosclerotic cytokines IL-6 and IL-8 in endothelial cells of various arteries have been shown.

Key words: atherosclerosis, mutagenesis, genotoxic stress, mitomycin C, micronucleus test, gene expression, cytokines.

Актуальность

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно от сердечно-сосудистых заболеваний умирает более 17 млн человек, при этом лидирующую позицию в структуре заболеваемости и смертности среди всех патологий сердечно-сосудистой системы занимает атеросклероз [1]. На настоящий момент обсуждается вопрос вклада генотоксического стресса и соматических мутаций в атерогенез [2, 3]. К числу наиболее распространенных и критических последствий генотоксического воздействия на организм человека относят образование поперечных сшивок молекулы ДНК, которые приводят к нарушению

процессов репликации и транскрипции, а также к запуску механизмов апоптоза [4]. Принимая во внимание тот факт, что на организм человека постоянно воздействует целый ряд факторов, способных индуцировать повреждения ДНК и способствовать возникновению соматических мутаций, проблема оценки вклада мутагенеза в формирование атеросклероза имеет не только фундаментальное, но и прикладное значение.

Цель исследования – определение уровня маркеров генотоксического стресса, а также особенностей секреции и генной экспрессии проатеросклеротических цитокинов IL-6 и IL-8 в культурах первичных эндотелиальных клеток человека, экспонированных мутагеном алкилирующего механизма действия митомицином C (ММС).

Материал и методы

Материалом исследования послужили культуры первичных эндотелиальных клеток коронарной (НСАЕС) и внутренней грудной (НІТАЕС) артерий (Cell Applications Inc., США). Оценку уровня повреждения ДНК проводили после 6 ч культивирования клеток в присутствии 500 нг/мл ММС с последующими сутками культивирования без генотоксической нагрузки с помощью микроядерного теста с блоком цитокинеза [5]. При анализе 1 000 клеток учитывали такие цитогенетические повреждения, как микроядра (МЯ), нуклеоплазменные мосты и ядерные протрузии. Концентрацию проатеросклеротических цитокинов IL-6 и IL-8 оценивали после 6 ч культивирования с ММС (точка 1) и после 6 ч + 24 ч культивирования в чистой культуральной среде (точка 2) методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов IL-6 Human SimpleStep ELISA Kit (Abcam, Англия) и IL-8 Human ELISA Kit (Abcam, Англия). Уровень мРНК генов *IL-6* и *IL-8* также оценивался в точках 1 и 2 с помощью метода количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (реал-тайм ПЦР) с использованием *TaqMan* зондов. Нормирование результатов ПЦР проводилось с помощью трех референсных генов *HPRT1*, *GAPDH* и *B2M*. Экспрессия генов *IL-6* и *IL-8* рассчитывалась по методу ΔC_t .

Результаты

Показано, что экспонированные культуры характеризуются достоверным превышением всех изученных цитогенетических маркеров генотоксического воздействия в сравнении с контролем. Интересно, что в целом клетки внутренней грудной артерии имеют более высокий уровень цитогенетических повреждений как в контроле, так и в эксперименте по сравнению с клетками коронарной артерии, однако данные различия, за исключением клеток с нуклеоплазменными мостами, не достигают порога достоверности. Определено, что концентрация IL-6 в культурах НСАЕС и НІТАЕС, экспонированных ММС, не отличалась от контрольных образцов ни в точке 1, ни в точке 2. Более интересные данные были получены по уровню секреции IL-8. В точке 1, непосредственно после воздействия мутагена, отмечено снижение концентрации данного цитокина в обеих клеточных линиях, экспонированных ММС, однако после элиминирования из культуры мутагенного фактора секреция IL-8 резко возрастала в экспериментальных культурах по сравнению с контролем. При этом несмотря на то, что средняя концентрация данного цитокина была несколько выше в культурах НІТАЕС по сравнению с культурами НСАЕС ($477,40 \pm 77,15$ пг/мл и $401,05 \pm 118,90$ пг/мл соответственно), расчет кратности изменения секреции в экспериментальных образцах относительно контроля показал, что увеличение концентрации IL-8 в культурах НІТАЕС (в 1,46 раза) носит менее выраженный характер, чем в культурах НСАЕС (в 1,61 раза). Данные биохимического анализа относительно IL-8 подтверждаются результатами оценки генной экспрессии. В точке 1 было отмечено снижение экспрессии гена *IL-8* в экспонированных культурах, а в точке 2, наоборот, резкое увеличение количества мРНК данного гена (в 10,94 раза для культур НСАЕС и в 2,74 – для культур НІТАЕС) в сравнении с контролем. Несмотря на то, что при анализе секреции IL-6 мы не получили значимых различий по концентрации данного цитокина в культуральной среде, его генная экспрессия изменялась так же, как экспрессия гена *IL-8* – снижалась непосредственно после воздействия ММС и повышалась после суток последующего культивирования в чистой культуральной среде, что позволяет предположить наличие эпигенетических механизмов регуляции его экспрессии. Стоит отметить, что линия НІТАЕС также характеризовалась менее выраженным повышением экспрессии данного цитокина по сравнению с линией НСАЕС.

Выводы

Полученные в нашей работе результаты демонстрируют ассоциации генотоксического стресса, вызванного действием на культуры эндотелиальных клеток мутагена ММС, характеризующегося алкилирующим механизмом действия на ДНК с дифференциальной секрецией и генной экспрессией проатеросклеротических цитокинов. Это свидетельствует о

формировании эндотелиоцитами проатеросклеротического профиля в ответ на мутагенную нагрузку.

Исследование выполнено при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2019-0003.

ЛИТЕРАТУРА

1. *GBD 2017 Causes of Death Collaborators*. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018 Nov 10; 392(10159): 1736–1788. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32203-7.
2. Кутихин А.Г., Синицкий М.Ю., Понасенко А.В. Роль мутагенеза в развитии атеросклероза. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2017; 6(1): 92–101.
3. Weakley S.M., Jiang J., Kougas P., Lin P.H., Yao Q., Brunicardi F.C., Gibbs R.A., Chen C. Role of somatic mutations in vascular disease formation. *Expert Rev Mol Diagn*. 2010 Mar; 10(2): 173–85. doi: 10.1586/erm.10.1.
4. Lee Y.J., Park S.J., Ciccone S.L., Kim C.R., Lee S.H. An in vivo analysis of MMC-induced DNA damage and its repair. *Carcinogenesis*. 2006 Mar; 27(3): 446–53. doi: 10.1093/carcin/bgi254.
5. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc*. 2007; 2(5): 1084–104. doi: 10.1038/nprot.2007.77.

ДЕЛЕЦИЯ В ЛОКУСЕ АРОВЕСЗ В СТРУКТУРЕ ПОДВЕРЖЕННОСТИ КАРОТИДНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА В СОЧЕТАНИИ С ОСТРЫМИ НАРУШЕНИЯМИ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА

А.А. Слепцов¹, А.В. Зайцева², А.Н. Казанцев³

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

Белковые продукты генов *АРОВЕС3А* и *АРОВЕС3В* функционально связаны с *АРОВЕС1*, который участвует в непосредственной регуляции липопротеидов низкой плотности (ароВ). В предыдущих работах в лейкоцитах у пациентов с ишемической болезнью сердца и метаболическим синдромом нами была выявлена вариация по числу копий участков ДНК (copy number variation, CNV), являющаяся делецией размером 20 т.п.н., которая приводила к слиянию и тем самым образованию химерного транскрипта *АРОВЕС3А/3В*. В настоящей работе была проанализирована частота делеции у пациентов с каротидным атеросклерозом (n=118) и сочетанием острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) и сахарного диабета 2-го типа (СД2) по сравнению с относительно здоровыми лицами (n=96) с помощью цифровой капельной ПЦР (ddPCR). Выявлено, что гетерозиготная делеция, приводящая к формированию химерного гена *АРОВЕС3А/3В*, имеет в целом низкую частоту в исследованных группах (12 % в среднем). Различий по частоте аллелей и генотипов между пациентами и контрольной группой не было обнаружено. Однако среди пациентов с каротидным атеросклерозом, но без ОНМК и СД2 (n=39) не было выявлено носителей данной CNV. В то же время частота гетерозиготной делеции (Δ3АВ) в остальных группах составила от 11 до 16 %. Предполагается, что данная CNV повышает риск ОНМК и СД2.

Ключевые слова: вариации по числу участков ДНК, *АРОВЕС3*, атеросклероз, острое нарушение мозгового кровообращения, сахарный диабет, цифровая капельная ПЦР, химерный ген.

DELETION OF THE *APOBEC3* LOCUS IN CAROTID ATHEROSCLEROSIS COMORBID WITH ACUTE CEREBROVASCULAR ACCIDENT AND DIABETES MELLITUS

A.A. Sleptcov¹, A.V. Zaitseva², A.N. Kazantsev³

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹,
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²,
Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia³

Abstract

The protein products of the *APOBEC3A* and *APOBEC3B* genes are functionally linked to *APOBEC1*, which is involved in the direct regulation of low-density lipoproteins (apoB). In previous studies in leukocytes in patients with coronary heart disease and metabolic syndrome, we found copy number variation (CNV), which is a deletion ($\Delta 3AB$) of 20 kb in size, led to gene fusion *APOBEC3A/3B*. In this work, we analyzed the deletion rate in patients with carotid atherosclerosis ($n = 118$) in combination with acute cerebrovascular accident (CVA) and diabetes mellitus (DM) comparing with a healthy group ($n = 96$) using droplet digital PCR (ddPCR). It was shown that a heterozygous deletion $\Delta 3AB$ has a low frequency in the studied groups (12 % on average). No differences in the frequency of alleles and genotypes between patients and the control group were found. However, in patients with carotid atherosclerosis and without both CVA and DM ($n = 39$), no carriers of this CNV were detected. In contrast, the frequency of heterozygous deletion ($\Delta 3AB$) in the other patient groups between 11 % to 16 %. It is suggested that this CNV may increase the risk of stroke and diabetes.

Key words: copy number variation, atherosclerosis, cerebrovascular accident, diabetes mellitus, digital drop PCR, chimeric gene.

Введение

Изменения структуры ДНК в виде однократной или многократной дупликации, (амплификации) или, напротив, делеции определенного участка ДНК, размеры которых варьируют в диапазоне от нескольких нуклеотидов до нескольких миллионов пар оснований, классифицируются как вариации по числу копий участков ДНК (CNV). С точки зрения влияния на фенотип выделяют как патологические CNV, так и нейтральные. В ряде работ показана ассоциация CNV с факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, ишемической болезнью сердца (ИБС), инфарктом миокарда [1, 2]. Однако результаты отдельных исследований неоднозначны, так как проведены в разных популяциях с использованием не единообразного дизайна и методических подходов для идентификации CNV. В предыдущих работах нашего коллектива выявлен ряд CNV, из которых к числу наиболее интересных можно отнести CNV, которая затрагивает гены *APOBEC3A* и *APOBEC3B* (chr22:38969032–38989500, hg38) [3].

Гены *APOBEC3A* и *APOBEC3B* (*Apolipoprotein B mRNA Editing Enzyme Catalytic Subunit 3A / 3B*) функционально связаны с белковым продуктом *APOBEC1*, регулирующим аполипопротеин В, т.е. липопротеин низкой плотности [4]. Ранее Nik-Zainal S. et. al. зарегистрировали сходную делецию, приводящую к образованию химерного транскрипта *APOBEC3A/APOBEC3B*, у лиц с раком молочной железы [5].

Цель исследования – оценить частоту делеции в локусе *APOBEC3A/3B* в отношении риска развития атеросклероза и его осложнений.

Материал и методы

Группа пациентов с каротидным атеросклерозом составила 118 человек (88 мужчин, 30 женщин, средний возраст $65,1 \pm 7,2$ года). По данным УЗИ, степень стеноза сонных артерий составила 70 % и более. В связи с этим пациентам проводилось плановое хирургическое лечение по удалению атеросклеротических бляшек. В контрольную группу вошли 96 относительно здоровых индивидов (без клинических проявлений со стороны сердечно-сосудистой системы), принадлежащих к той же возрастной группе, что и больные. У каждого индивида, включенного в исследование, были взяты образцы периферической крови, откуда производилась экстракция ДНК для дальнейшего анализа.

Идентификация CNV выполнена с помощью цифровой капельной ПЦР (ddPCR) на приборе QX200 Droplet Digital PCR System (Bio-Rad) согласно протоколу производителя. Для реакции использовался TaqMan-зонд Hs04086894_cn (ThermoFisher). В качестве

внутреннего контроля использовался TaqMan-зонд RNase P Copy Number Reference Assay (ThermoFisher).

Данные ddPCR проанализированы с использованием программного обеспечения QuantaSoft версии 1.7.4 (Bio-Rad), в котором была измерена доля положительных каплей и вычислено количество копий ДНК на каплю на основе распределения Пуассона, который оценивает 95 % доверительный интервал (ДИ) для каждой капли. В норме регистрируются две копии CNV (1,75–2,25). Гомозиготная делеция определялась при отсутствии сигналов с TaqMan-зонда на CNV в таргетном гене, но при наличии сигналов с RNase P; гетерозиготная делеция принималась при наличии 1 копии (в диапазоне 0,75–1,25); дупликация – при наличии более 2,25 копий. Среднее число каплей на образец составило 18000 ± 2000 . Среднее число положительных каплей 7000 ± 3000 . Все полученные сигналы не имели эффекта «дождя».

Результаты и обсуждение

Для определения связи вариации числа копий участков ДНК с сердечно-сосудистыми заболеваниями, обусловленными атеросклеротическим поражением артерий и его осложнений, была оценена частота делеции размером 20 т.п.н. между генами *APOBEC3A* и *APOBEC3B* (chr22:38969032–38989500, hg38), именуемая в дальнейшем «Δ3AB», в группах пациентов и контроля.

Частота гетерозиготной делеции Δ3AB среди группы пациентов и контрольной группы была сопоставима и составила в среднем 10–12 % (таблица). У пациентов с каротидным атеросклерозом без сахарного диабета 2 типа и острых нарушений мозгового кровообращения не выявлена делеция Δ3AB, тогда как по сравнению с другими группами с вариантами сочетаний СД2 и ОНМК частота делеции Δ3AB в гомо- и гетерозиготном состоянии обнаруживалась в пределах от 11 % до 16 % (см. таблицу).

Выводы

Впервые установлена частота делеции размером 20 т.п.н. между генами *APOBEC3A* и *APOBEC3B* среди больных каротидным атеросклерозом и контрольной группой. Показана связь данной делеции с риском развития ОНМК и СД2 у больных с каротидным атеросклерозом.

Таблица

Частота делеции Δ3AB между генами *APOBEC3A* и *APOBEC3B* в лейкоцитах крови у пациентов с каротидным атеросклерозом в зависимости от наличия сопутствующей патологии и относительно здоровых индивидов

Группа	Генотип (абс., %)			Всего
	Δ3AB/Δ3AB	wt/Δ3AB	wt/wt	
Пациенты с каротидным атеросклерозом	1 (1 %)	12 (10 %)	105 (89 %)	118 (100 %)
• Пациенты без СД2 и ОНМК	↓0 (0 %)	↓0 (0 %)	↑39 (100 %)	39 (100 %)
• Пациенты с СД2 и без ОНМК	1 (4 %)	4 (16 %)	20 (80 %)	25 (100 %)
• Пациенты с ОНМК и без СД2	0 (0 %)	6 (17 %)	29 (83 %)	35 (100 %)
• Пациенты с ОНМК и СД2	0 (0 %)	2 (11 %)	17 (89 %)	19 (100 %)
Относительно здоровые индивиды	0 (0 %)	11 (12 %)	85 (88 %)	96 (100 %)

Примечание. ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе; СД2 – сахарный диабет 2-го типа.

ЛИТЕРАТУРА

- Li Y.R., Glessner J.T., Coe B.P., Li J., Mohebasab M., Chang X., Connolly J., Kao C., Wei Z., Bradfield J., Kim C., Hou C., Khan M., Mentch F., Qiu H., Bakay M., Cardinale C., Lemma M., Abrams D., Bridglall-Jhingoor A., Behr M., Harrison S., Otieno G., Thomas A., Wang F., Chiavacci R., Wu L., Hadley D., Goldmuntz E., Elia J., Maris J., Grundmeier R., Devoto M., Keating B., March M., Pellagrino R., Grant S.F.A., Sleiman P.M.A., Li M., Eichler E.E., Hakonarson H. Rare copy number variants in over 100,000 European ancestry subjects reveal multiple disease associations. Nat Commun. 2020 Jan 14; 11(1): 255. doi: 10.1038/s41467-019-13624-1.
- Marques F.Z., Prestes P.R., Pinheiro L.B., Scurrah K., Emslie K.R., Tomaszewski M., Harrap S.B., Charchar F.J. Measurement of absolute copy number variation reveals association with essential hypertension. BMC Med Genomics. 2014 Jul 15; 7:44. doi: 10.1186/1755-8794-7-44.
- Nazarenko M.S., Sleptcov A.A., Lebedev I.N., Skryabin N.A., Markov A.V., Golubenko M.V., Koroleva I.A., Kazancev A.N., Barbarash O.L., Puzryev V.P. Genomic structural variations for cardiovascular and metabolic comorbidity. Sci Rep. 2017 Jan 25; 7: 41268. doi: 10.1038/srep41268.
- Teng B., Burant C.F., Davidson N.O. Molecular cloning of an apolipoprotein B messenger RNA editing protein. Science. 1993 Jun 18; 260(5115): 1816–9. doi: 10.1126/science.8511591.
- Nik-Zainal S., Wedge D.C., Alexandrov L.B., Petljak M., Butler A.P., Bolli N., Davies H.R., Knappskog S., Martin S., Papaemmanuil E., Ramakrishna M., Shlien A., Simoncic I., Xue Y., Tyler-Smith C., Campbell P.J., Stratton M.R. Association of a germline copy number polymorphism of APOBEC3A and APOBEC3B with burden of putative APOBEC-dependent mutations in breast cancer. Nat Genet. 2014 May; 46(5): 487–91. doi: 10.1038/ng.2955.

ПОВЕДЕНЧЕСКИЙ ФЕНОТИП МЫШЕЙ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ *DISC1*

К.В. Смирнова

Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Исследовали влияние мутаций Q31L и L100P в гене *disc1* на поведенческий фенотип мышей в тестах «открытое поле», «закапывание шариков» и «социальный тест». Обнаружили, что мыши линии Q31L показывают эмоциональное поведение в открытом поле, что характеризуется большим числом дефекаций и большим процентом замираний, в то время как L100P более подвижны, что выражается в большей пройденной дистанции и большем количестве вертикальных стоек, по сравнению с мышами Q31L. Несмотря на это, анализ времени груминга и результаты теста на закапывания шариков показывают, что именно мыши линии Q31L имеют обсессивно-компульсивно-подобное поведение и могут использоваться как модель обсессивно-компульсивного расстройства. Мутантные по *disc1* мыши не демонстрируют сниженного социального поведения, хотя их исследовательская активность в социальном тесте значимо снижена.

Ключевые слова: *disc1*, мутации, поведенческое фенотипирование, компульсивное поведение, аутичное поведение, животные модели.

BEHAVIORAL PHENOTYPE MICE WITH *DISC1* MUTATIONS

K.V. Smirnova

Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Abstract

There is a study effect mutations Q31L and L100P in *disc1* gene on mice behavioral phenotype in open field, marble burying and social test. Study show that. Q31L mice more emotional in open field test that is expressed in large number of defecations and large percent of inactivity while L100P mice are more mobile, which is expressed in the greater distance traveled and more number of vertical rearings in comparing with Q31L mice. Despite this result grooming time analysis and marble burying study show that Q31L mice have a compulsive-like behavior and can be used as model of obsessive-compulsive disorders. Also was shown that *disc1*-mutants didn't have deficit in social behavior, although their searching behavior in social test significantly less than in control.

Key words: *disc1*, mutations, behavioral phenotype, compulsive-like behavior, autistic-like behavior, animal models.

Ген *disc1* – это многофункциональный каркасный белок, участвующий в передаче сигналов и регулирующий многие аспекты развития нервной системы [1, 2]. Хромосомная транслокация, вовлекавшая этот ген, была обнаружена в большой шотландской семье, в которой наблюдалось существенное разнообразие психических расстройств [3]. Позднее были разработаны животные с нарушениями в гене *disc1*. Особый интерес представляют 2 линии мышей с точечной мутацией в этом гене: Q31L, моделирующая депрессивно-подобное состояние, и L100P – общепризнанная генетическая модель шизофрении [4–6]. Интересно, что данные мутации попадают в область делеции экзонов 2 и 3, исследованных в 2018 г. Было показано, что эта делеция приводила к увеличению показателей теста на закапывание шариков, являющегося одним из самых распространенных тестов на обсессивно-компульсивно-подобное поведение [7, 8]. Таким образом, интересно исследовать поведение мышей с точечной мутацией по гену *disc1* на обсессивно-компульсивно-подобное, а также на некоторые другие поведенческие фенотипы как возможные модели иных расстройств.

Цель исследования – охарактеризовать поведенческие фенотипы мышей с мутациями в гене *disc1*, точечные мутации которых попадают в область делеции 2-го и 3-го экзона, в частности, компульсивно-подобное и социальное поведение.

Для работы были взяты половозрелые самцы мышей линий L100P и Q31L, в качестве контроля использовали линию C57Bl/6 (далее – WT) в возрасте 5 мес, каждая экспериментальная группа состояла из 10 животных. Мышей исследовали в тесте на закапывание шариков, открытом поле и социальном тесте. Статистический анализ данных осуществляли с помощью программы STATISTICA for WINDOWS, где для выборок с нормальным распределением использовалась One-way ANOVA с последующим post-hoc анализом LSD методом Фишера. Для непараметрических выборок использовался критерий Краскела–Уоллиса для оценки наличия значимости с последующим анализом интересующих групп тестом Манна–Уитни.

В тесте ОП не обнаружено значимых различий по площади исследованной арены и времени, проведенном в центре теста. Также мутанты не показали различий по пройденной дистанции и количеству вертикальных стоек, по сравнению с WT, однако L100P-мыши показали значимо большие показатели этих параметров по сравнению с Q31L (U-test: $p < 0,05$), что может характеризовать L100P-мышей как более гиперактивных (рис. 1, A, B).

Q31L-мутанты показывают большую неподвижность по сравнению с WT (Fisher LSD: 0,0009) и большее количество дефекаций в тесте (U-test: $p < 0,005$ для L100P и $p < 0,05$ для WT), что может быть показателем их большей эмоциональности (рис. 1, C, D).

Анализ груминга в открытом поле показал, что мутанты не отличаются от дикого типа по общему времени груминга, но также Q31L-мыши грумятся значимо дольше, чем L100P (Fisher LSD: 0,003), что навело нас на мысль о наличии у Q31L обсессивно-компульсивного поведения, что впоследствии подтвердилось в тесте на закапывание шариков: мыши линии Q31L значимо больше закапывали шариков по сравнению с другими линиями (U-test: $p < 0,05$) и показывали большие результаты (рис. 2, A, B).

Социальный тест также показал большую пройденную дистанцию у мышей линии L100P по сравнению с Q31L (Fisher LSD: 0,022), но не WT (рис. 3, A). WT же показал значимо большее (Fisher LSD: 0,0017 для Q31L) время обнюхивания всех объектов (мышь и игрушка) (рис. 3, B). Показано, что мыши линии Q31L меньше времени проводят в области с живым объектом (Fisher LSD: 0,022). Однако разницы по времени обнюхивания живой мыши / игрушки между группами не обнаружено (рис. 3, C, D).

Таким образом, из результатов тестов видно, что в целом мыши линии Q31L показывают более эмоциональное поведение в открытом поле, в то время как L100P более подвижны, чем Q31L. Несмотря на это, анализ времени груминга и результаты теста на закапывание шариков показывают, что именно мыши линии Q31L показывают обсессивно-компульсивно-подобное поведение и могут использоваться как модель этого расстройства. В то же время мыши-мутанты по *disc1* не показывают дефицита в социальном поведении, хотя их исследовательская активность в социальном тесте значимо снижена.

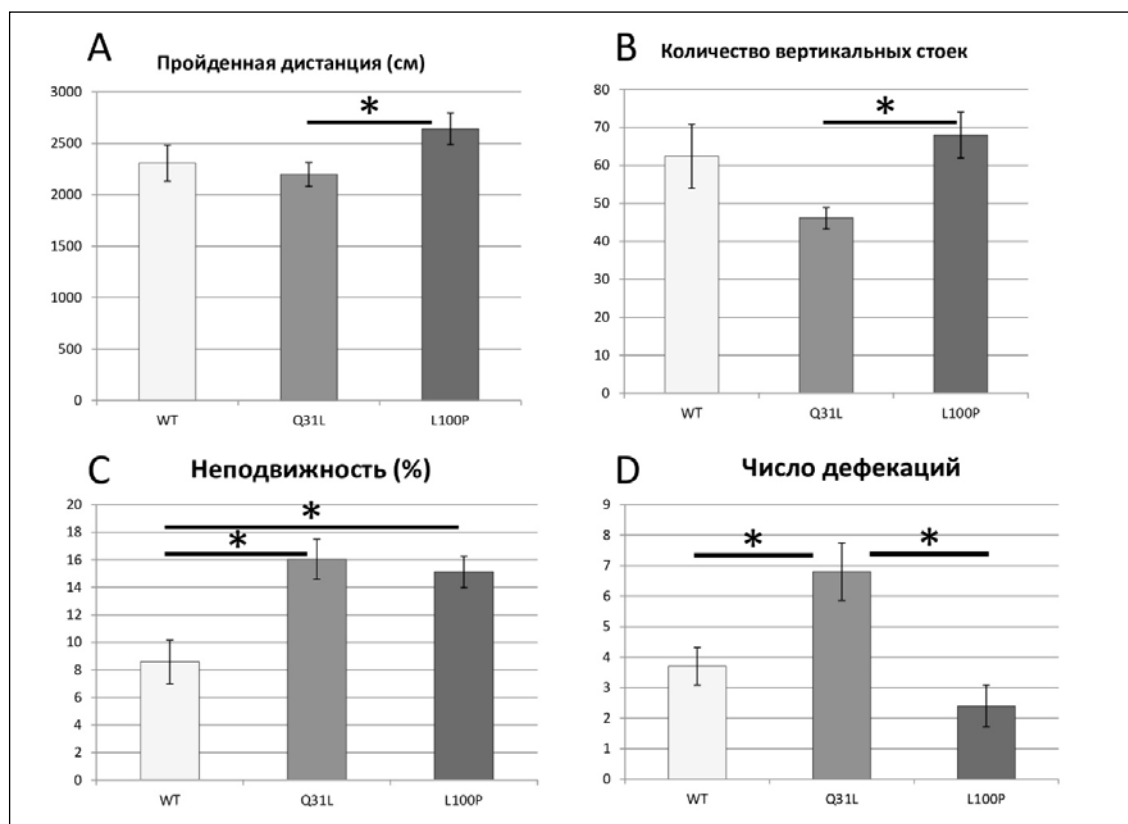


Рис. 1. Результаты теста открытое поле. * – $p < 0,05$

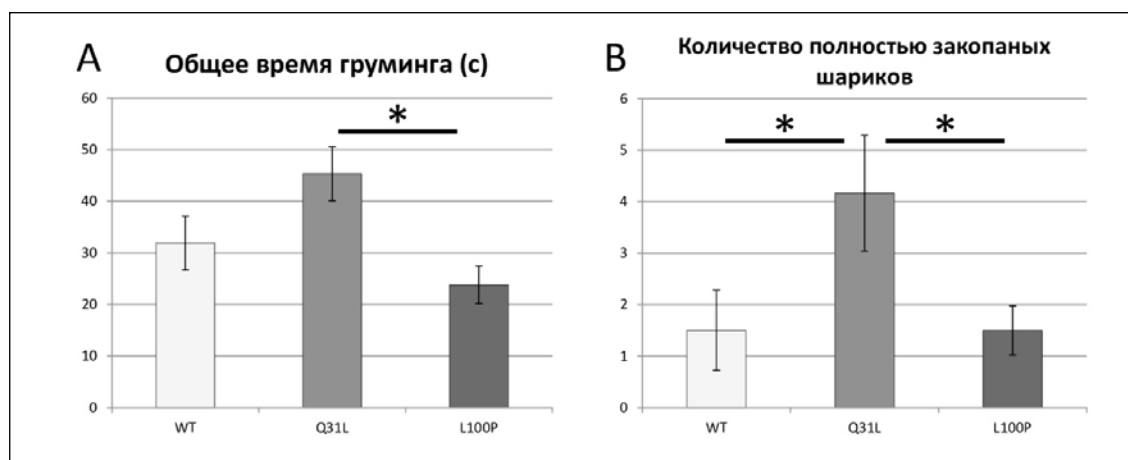
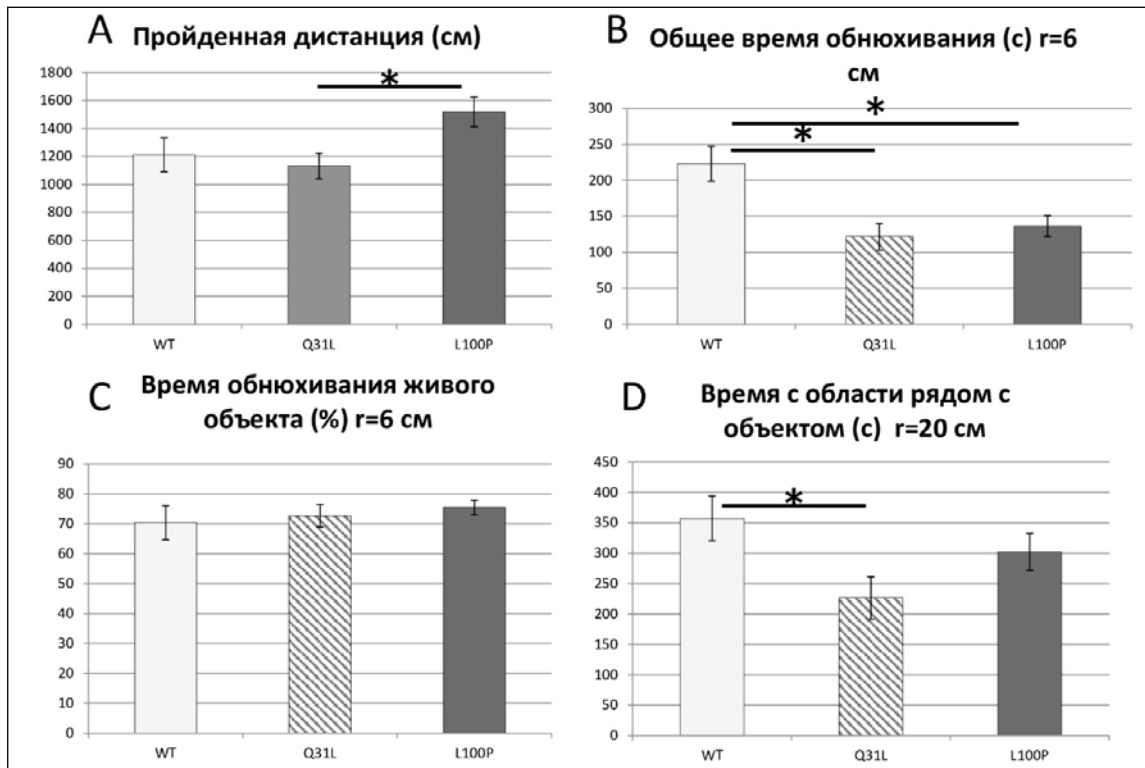


Рис. 2. Результаты тестов: А – время груминга в тесте «открытое поле». * – $p < 0,05$; В – тест на закапывание шариков

Рис. 3. Результаты социального теста. * – $p < 0,05$

ЛИТЕРАТУРА

1. Chubb J.E., Bradshaw N.J., Soares D.C., Porteous D.J., Millar J.K. The DISC locus in psychiatric illness. *Mol Psychiatry*. 2008 Jan; 13(1): 36–64. doi: 10.1038/sj.mp.4002106.
2. Brandon N.J., Millar J.K., Korth C., Sive H., Singh K.K., Sawa A. Understanding the role of DISC1 in psychiatric disease and during normal development. *J. Neurosci*. 2009 Oct 14; 29(41): 12768–75. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3355-09.2009.
3. Millar J.K., Wilson-Annan J.C., Anderson S., Christie S., Taylor M.S., Semple C.A., Devon R.S., St Clair D.M., Muir W.J., Blackwood D.H., Porteous D.J. Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia. *Hum Mol Genet*. 2000 May 22; 9(9): 1415–23. doi: 10.1093/hmg/9.9.1415.
4. Clapcote S.J., Lipina T.V., Millar J.K., Mackie S., Christie S., Ogawa F., Lerch J.P., Trimble K., Uchiyama M., Sakuraba Y., Kaneda H., Shiroishi T., Houslay M.D., Henkelman R.M., Sled J.G., Gondo Y., Porteous D.J., Roder J.C. Behavioral phenotypes of Disc1 missense mutations in mice. *Neuron*. 2007 May 3; 54(3): 387–402. doi: 10.1016/j.neuron.2007.04.015.
5. Wulfer B., Nagai T., Sobue A., Itoh N., Kuroda K., Kaibuchi K., Nabeshima T., Yamada K. Repetitive and compulsive-like behaviors lead to cognitive dysfunction in Disc1Δ2–3/Δ2–3 mice. *Genes Brain Behav*. 2018 Nov; 17(8): e12478. doi: 10.1111/gbb.12478.
6. Alonso P., López-Solà C., Real E., Segalàs C., Menchón J.M. Animal models of obsessive-compulsive disorder: utility and limitations. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2015 Aug 4; 11: 1939–55. doi: 10.2147/NDT.S62785.
7. Lipina T.V., Niwa M., Jaaro-Peled H., Fletcher P.J., Seaman P., Sawa A., Roder J.C. Enhanced dopamine function in DISC1-L100P mutant mice: implications for schizophrenia. *Genes Brain Behav*. 2010 Oct; 9(7): 777–89. doi: 10.1111/j.1601-183X.2010.00615.x.
8. Lipina T.V., Kaidanovich-Beilin O., Patel S., Wang M., Clapcote S.J., Liu F., Woodgett J.R., Roder J.C. Genetic and pharmacological evidence for schizophrenia-related Disc1 interaction with GSK-3. *Synapse*. 2011 Mar; 65(3): 234–48. doi: 10.1002/syn.20839.

МИКРОСТРУКТУРНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ Х-ХРОМОСОМЫ, СВЯЗАННЫЕ С МОДИФИКАЦИЕЙ ИНАКТИВАЦИИ Х-ХРОМОСОМЫ

Е.А. Фонова¹, Е.Н. Толмачева¹, А.А. Кашеварова¹, М.Е. Лопаткина¹,
Л.А. Затула², К.А. Павлова², И.Н. Лебедев¹

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹,
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Смещение инактивации X-хромосомы может быть следствием и маркером нарушения клеточной пролиферации при вариациях числа копий ДНК на X-хромосоме. X-сцепленные CNV выявляются как у женщин с невынашиванием беременности и смещением инактивации X-хромосомы с частотой 33 %, так и у пациентов с умственной отсталостью и смещением инактивации у их матерей с частотой 40 %.

Ключевые слова: вариации числа копий ДНК, асимметричная инактивация X-хромосомы, X-сцепленная умственная отсталость, невынашивание беременности.

MICROSTRUCTURAL REARRANGEMENTS OF THE X-CHROMOSOME ASSOCIATED WITH MODIFICATION OF THE X-CHROMOSOME INACTIVATION

E.A. Fonova¹, E.N. Tolmacheva¹, A.A. Kashevarova¹, M.E. Lopatkina¹,
L.A. Zatula², K.A. Pavlova², I.N. Lebedev¹

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

Abstract

A skewed X-chromosome inactivation can be a consequence and a marker of impaired cell proliferation in the presence of copy number variations of DNA on the X chromosome. X-linked CNV are detected in women with miscarriage and a skewed X-chromosome inactivation (with a frequency of 33.3 %), as well as in patients with mental retardation and skewed X-chromosome inactivation in their mothers (with a frequency of 40 %).

Key words: Copy number variations, skewed X-inactivation, X-linked mental retardation, miscarriage.

Вариации числа копий участков ДНК (CNV), вероятно, могут быть одной из причин формирования смещения инактивации X-хромосомы (sXCI), особенно в тех случаях, когда в них задействованы гены, контролирующие процессы деления клетки и поддержания клеточного гомеостаза. Нарушение клеточной пролиферации может быть причиной не только sXCI, но и внутриутробной гибели плода. В таком случае клиническая картина невынашивания беременности (НБ) у женщины с sXCI может быть объяснена наличием патогенной перестройки на X-хромосоме, что приведет к внутриутробной гибели плода или рождению ребенка с патологией. У 15–25 % пациентов с задержкой психического развития (ЗПР) обнаруживаются CNV [1]. Поиск генов, ассоциированных с УО, преимущественно фокусируется на X-хромосоме по причине гемизиготного состояния у мужчин для X-сцепленных генов по сравнению с генами на аутосомах, а также потому, что на X-хромосоме локализовано более чем 100 генов, ассоциированных с X-сцепленной умственной отсталостью [2]. X-сцепленная умственная отсталость (X-linked mental retardation – XLMR) представляет собой гетерогенное расстройство, составляющее 5–10 % от УО у мужчин. Женщины с XLMR обычно фенотипически здоровы или с незначительной умственной задержкой. Это может быть объяснено тем, что у женщин с XLMR часто наблюдается смещение инактивации X-хромосомы (sXCI), и это является общей особенностью для XLMR. Вероятно, это происходит за счет инактивации X-хромосомы с мутантным аллелем и / или компенсацией нормального аллеля на другой X-хромосоме. Возможно, что sXCI может служить индикатором наличия мутаций на X-хромосоме.

Цель исследования – поиск ассоциации между sXCI и возможным наличием патогенных CNV на X-хромосоме как у женщин с НБ, так и у пациентов с XLMR.

Инактивация X-хромосомы была исследована у 313 женщин с НБ и у 135 женщин из контрольной группы (отсутствие случаев НБ и минимум 2 живорожденных ребенка). Уровень sXCI ≥ 90 % был выявлен у 6,7 % у женщин с НБ, что статистически значимо выше, чем у женщин из контрольной группы (2,2 %, $p=0,019$, табл. 1).

Последующее молекулярное кариотипирование было проведено 24 женщинам с sXCI ≥ 90 % (21 женщина с НБ и 3 женщины из контрольной группы). Сравнительная ма-

тричная геномная гибридизация (aCGH) проводилась на микрочипах SurePrint G3 Human CGH array 4C180K (Agilent Technologies, США).

По данным ретроспективного анализа результатов aCGH 589 пациентов с УО наличие CNV на хромосомах выявлено у 241 семьи, из них на X-хромосоме – в 26 семьях. Патогенетическая значимость в отношении развития УО была отмечена в 131 семье (21,9 %), на X-хромосоме – в 13 семьях (9,9 %). У женщин была исследована ХСІ.

По результатам aCGH у 7 женщин с НБ и 3 женщин из контрольной группы были обнаружены CNV и на аутосомах, и на X-хромосоме. У 1 женщины с НБ – только на аутосоме. Выявленные CNV на X-хромосоме представляли собой микродупликации в регионах Xp22.33 и Xq28 и микроделеции в регионах Xp11.23 и Xq24.

При анализе спектра выявленных CNV нами было отмечено, что у 2 женщин с НБ были микродупликации в регионе Xp22.33 и регионе Xq28. У обеих женщин кариотип спонтанного абортуса был 46,XY. Сам регион Xp22.3 является псевдоаутосомным и избегает инактивации. Однако имеются данные, что экспрессия генов псевдоаутосомных областей на инактивированном гомологе значительно снижена [3]. Нами также была выявлена дупликация только Xp22.33 у женщины из контрольной группы. Вероятнее всего, эмбриолетальность зародышей у женщин с НБ связана с дупликациями именно в регионе Xq28. Так, у 2 женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) была выявлена дупликация в регионе только Xq28, в которую входят гены *SPRY*, *VAMP7*, *IL9R*. Также мы выявили моногенную трипликацию Xq28 у 2 женщин (1 с НБ, 1 из контрольной группы). В область этой трипликации вошел единственный ген *GDII*, связанный с X-сцепленной формой когнитивного расстройства (OMIM #300815). У 26-летней женщины с ПНБ была обнаружена моногенная делеция размером 52 kb в регионе Xp11.23, затрагивающая ген *ZNF630*. У женщины с ПНБ была выявлена микроделеция в регионе Xq24. В области данной делеции локализовано восемь генов, мутации двух из них (*CXorf56*, *UBE2A*) являются причиной тяжелых форм XLMR. Также была выявлена микроделеция в регионе Xq24, захватывающая гены *WDR44*, *MIR1277*, у женщины из группы контроля.

У пациентов с УО CNV представляли собой микродупликации в регионах Xp11.4, Xp11.22, Xp21.2, Xp22.2-p22.3, Xq13.1, Xq24-q25 и микроделеции в регионах Xp22.2, Xp22.33-p11.3, Xq24, Xq26.1-q26.2.

Мы проанализировали происхождение CNV в 5 семьях и выявили, что в 2 случаях мутация была унаследована от матери, а в 3 случаях мутация произошла *de novo* (табл. 2).

Всего было 2 девочки с УО (пациенты 1 и 2) с CNV на X-хромосоме *de novo*, у всех девочек была равновероятная инактивация X-хромосомы, что, вероятно, и приводило к проявлению патологического фенотипа. Также у пациента 3 была выявлена нуллисомия Xp22.2 *de novo*, где локализован ген *MID1*, ассоциированный с развитием синдрома Опица, тип 1 (Opitz GBBB syndrome, type I; OMIM 300000). У матери пациента была равновероятная ХСІ. В 2 случаях материнского происхождения CNV мутация была выявлена у мальчиков с УО: у пациента 5 выявлена дупликация Xq24-q25, у пациента 4 – делеция Xq24. При анализе ХСІ фенотипически здоровых матерей этих пациентов мы выявили 100 % sХСІ. По нашим данным, для пациентов с умственной отсталостью частота асимметричной инактивации X-хромосомы у матери и носительства унаследованных CNV составляет 40 %. При CNV *de novo* у матерей пациентов равновероятная инактивация, но при CNV материнского происхождения у матерей пациентов было выявлено смещение инактивации X-хромосомы. Вероятнее всего, то, что матери пациентов с CNV материнского происхождения фенотипически здоровы, можно объяснить преимущественной инактивацией X-хромосомы.

Таким образом, нами показано, что у женщин с sХСІ есть X-сцепленные CNV, обогащенные генами, мутации которых связаны с нарушением интеллектуального развития. Для женщин с невынашиванием беременности и с sХСІ ≥ 90 % частота носительства CNV составила 33,3 %. У мальчиков или у девочек с равновероятной инактивацией X-сцепленные CNV приводят к задержке развития и умственной отсталости. Эмбриолетальность зародышей / плодов у женщин со смещением ХСІ можно объяснить тем, что гены X-сцепленных CNV также участвуют в процессах, контролирующих жизнеспособность различных типов клеток, и мутации в них могут привести к селективной гибели пула клеток с активной мутантной X-хромосомой.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 18-015-00437.

Таблица 1

Частота асимметричной X-инактивации в группах женщин с невынашиванием беременности

Женщины с невынашиванием беременности	Случаи смещения XCI	% sXCI	Контрольная группа	Случаи смещения XCI	%	Критерий Фишера, p
$\geq 80\%$						
313	58	18,5	135	8	5,9	<0,01
$\geq 90\%$						
313	21	6,7	135	3	2,2	0,019

Таблица 2

Происхождение CNV в семьях с умственной отсталостью и исследование инактивации X-хромосомы у женщин в этих семьях

	XCI у пробанда	Выявленная CNV	Происхождение CNV	XCI у матери пробанда
Пациент 1	73 %	Частичная моносомия Xp22.33-p22.2	de novo	
Пациент 2	58 %	Частичная тетраомия Xq13.1	de novo	
Пациент 3	Гемизигота	Нуллисомия Xp22.2	de novo	61 %
Пациент 4	Гемизигота	Частичная нуллисомия Xq24	Материнского происхождения	100 %
Пациент 5	Гемизигота	Дупликация Xq24-q25	Материнского происхождения	100 %

ЛИТЕРАТУРА

1. Iyer J., Girirajan S. Gene discovery and functional assessment of rare copy-number variants in neurodevelopmental disorders. *Brief Funct Genomics*. 2015 Sep; 14(5): 315–28. doi: 10.1093/bfpg/ely018.
2. Lubs H.A., Stevenson R.E., Schwartz C.E. Fragile X and X-linked intellectual disability: four decades of discovery. *Am J. Hum Genet*. 2012 Apr 6; 90(4): 579–90. doi: 10.1016/j.ajhg.2012.02.018.
3. Sierra I., Anguera M.C. Enjoy the silence: X-chromosome inactivation diversity in somatic cells. *Curr Opin Genet Dev*. 2019 Apr; 55: 26–31. doi: 10.1016/j.gde.2019.04.012.

КАРДИОЛОГИЯ

ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ И КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ ПРИ СОЧЕТАНИИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА И ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

К.С. Алейникова

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород, Россия

Аннотация

В настоящее время диагностика хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) у больных с ишемической болезнью сердца (ИБС) затруднена из-за схожести клинических симптомов, которые недооцениваются практикующими врачами. На сегодня отсутствуют четкие алгоритмы ранней диагностики ХОБЛ у лиц с ИБС и недостаточно изучены возможности исследования функции внешнего дыхания (ФВД) у данного контингента пациентов. Поэтому целью исследования было повысить эффективность диагностики ХОБЛ у лиц со стабильной ИБС на основании клинико-функционального обследования показателей сердечно-сосудистой, дыхательной систем и параметров качества жизни. Для достижения поставленной цели использовали общеклиническое обследование с определением основных показателей сердечно-сосудистой и дыхательной систем; анкетирование с целью выявления симптомов ХОБЛ у пациентов со стабильной ИБС; анкетирование по определению тяжести одышки и опросник для определения параметров качества жизни (КЖ). Инструментальные методы исследования включали электрокардиографию (ЭКГ), компьютерную спирографию и эхокардиографию (ЭхоКГ). Частота сочетания ИБС и ХОБЛ у пациентов, находящихся на стационарном лечении по поводу ИБС, по данным ретроспективного анализа, составляла 12,6 % от всей выборки больных ИБС. Диагноз ХОБЛ базировался на данных предварительной медицинской документации и наличии клинических симптомов (94,5 %); сведения по выполнению спирографии присутствуют в 4,6 % медицинских карт. Частота недиагностированной ХОБЛ у пациентов со стабильной ИБС, которые отрицали наличие хронических неспецифических заболеваний легких в анамнезе, по данным проспективного обследования, составляла 26,8 %. У пациентов с сочетанием ИБС и ХОБЛ, по данным суточного мониторирования ЭКГ, чаще возникают желудочковые экстрасистолы (ЖЭ) высоких градаций, а именно у 27 (71,0 %), тогда как среди пациентов с ИБС – у 22 (46,8 %, $p = 0,008$), у лиц с ХОБЛ – у 12 (33,3 %, $p < 0,001$). Таким образом, пациентам со стабильной ИБС старше 40 лет, имеющим одышку и анамнез курения, рекомендуется проводить ежегодное скрининговое обследование на предмет наличия ХОБЛ с целью раннего выявления и своевременного назначения базисной терапии.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, ишемическая болезнь сердца, коморбидная патология, диагностика.

FEATURES OF DIAGNOSIS AND CLINICAL COURSE WITH A COMBINATION OF CORONARY HEART DISEASE AND CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

K.S. Aleinikova

Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

Abstract

The diagnosis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in patients with coronary heart disease (CHD) is currently difficult due to the similarity of clinical symptoms that are underestimated by practitioners. To date, there are no clear algorithms for the early diagnosis of COPD in patients with coronary artery disease and the possibilities of studying the function of external respiration (VFD) in this group of patients have not been sufficiently studied. Therefore, the aim of the study was to increase the effectiveness of the diagnosis of COPD in patients with stable coronary artery disease based on a clinical and functional examination of indicators of the cardiovascular, respiratory systems and quality of life parameters. To achieve this goal, a general clinical

examination was used to determine the main indicators of the cardiovascular and respiratory systems; a questionnaire to identify symptoms of COPD in patients with stable coronary artery disease; a questionnaire to determine the severity of shortness of breath and a questionnaire to determine the parameters of quality of life (QOL); instrumental research methods included electrocardiography (ECG), computed spirometry and echocardiography (EchoCG). The frequency of the combination of IHD and COPD in patients undergoing inpatient treatment for IHD, according to a retrospective analysis, was 12.6 % of the total sample of IHD patients. The diagnosis of COPD was based on preliminary medical documentation and the presence of clinical symptoms (94.5 %); information on spirometry is present in 4.6 % of medical records. The incidence of undiagnosed COPD in patients with stable coronary artery disease who denied a history of chronic non-specific lung diseases was 26.8 %, according to a prospective study. In patients with a combination of coronary heart disease and COPD, high-grade ZhEs more often appear according to daily ECG monitoring, namely in 27 (71.0 %), while among patients with coronary artery disease – in 22 (46.8 %, $p = 0.008$), persons with COPD – in 12 (33.3 %, $p < 0.001$). Thus, patients with stable coronary artery disease over 40 years old, with shortness of breath and a history of smoking, are advised to conduct an annual screening examination for the presence of COPD with the aim of early detection and timely appointment of basic therapy.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, coronary heart disease, comorbid pathology, diagnosis.

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) обуславливают стойкую утрату трудоспособности и смертность значительной части пациентов во всем мире. Несмотря на развитие медицинской науки, показатели распространенности данных патологий в России продолжают расти.

Известно, что среди пациентов с ИБС частота диагностики ХОБЛ выше, чем в общей популяции, что обусловлено общими факторами риска и патогенетическими факторами [1, 2]. При условии сочетания данных патологий риск сердечно-сосудистых осложнений, в частности инфаркта миокарда (ИМ), возрастает [3,4].

В то же время в исследованиях говорится о гиподиагностике ХОБЛ у пациентов с ИБС вследствие сходства клинических симптомов, которые недооцениваются практикующими врачами [5–7]. На сегодня отсутствуют четкие алгоритмы ранней диагностики ХОБЛ у лиц с ИБС и недостаточно изучены возможности исследования функции внешнего дыхания (ФВД) у данного контингента пациентов.

Поэтому целью исследования было повысить эффективность диагностики ХОБЛ у лиц со стабильной ИБС на основании клинико-функционального обследования показателей сердечно-сосудистой, дыхательной систем и параметров качества жизни.

Для достижения поставленной цели использовали следующие методы исследования: общеклиническое обследование с определением основных показателей сердечно-сосудистой и дыхательной систем; анкетирование по оригинальной анкете – с целью выявления симптомов ХОБЛ у пациентов со стабильной ИБС; анкетирование по модифицированной шкале тяжести одышки медицинского исследовательского совета (мМИС) и тестом по оценке ХОБЛ (ТОХ); международный опросник Medical Outcomes Study Short Form (MOS SF-36) – для определения параметров качества жизни (КЖ); инструментальные методы: электрокардиография (ЭКГ) в 12 отведениях, компьютерная спирография – для определения показателей ФВД, эхокардиография (ЭхоКГ) – с целью изучения структурно-геометрических изменений сердца, суточное мониторирование ЭКГ – для оценки нарушений сердечного ритма и проводимости; статистические методы (описательная статистика, параметрические и непараметрические, логистический регрессионный анализ с расчетом коэффициентов регрессии, дискриминантный анализ).

Обследование пациентов с ИБС, ХОБЛ и их сочетанием было выполнено в кардиологическом и пульмонологическом отделениях 2-й горбольницы г. Белгорода.

В результате проведенного исследования установлено, что, по данным медицинской документации, среди пациентов с ИБС 12,6 % имели сопутствующую ХОБЛ. Среди лиц с сочетанием ИБС и ХОБЛ, которые лечились стационарно, преобладали мужчины – 74,5 %, тогда как женщин было только 25,5 %. Пациенты с сочетанием ИБС и ХОБЛ, по данным ретроспективного анализа, в большинстве случаев имели сопутствующую патологию, а именно гипертоническую болезнь (ГБ) (76,2 %), ожирение (43,1 %), фибрилляцию предсердий (ФП) (26,3 %), сахарный диабет (СД) (20,4 %), заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (18,9 %).

Лица с сочетанием ИБС и ХОБЛ требовали более длительного стационарного лечения в специализированном кардиологическом отделении, чем пациенты с ИБС без сопутствующего ХОБЛ – ($11,3 \pm 0,31$) и ($9,9 \pm 0,42$) койко-дней соответственно, $p < 0,05$.

По результатам проспективного обследования пациенты со стабильной ИБС в 26,8 % случаев имели недиагностированные ХОБЛ. Среди лиц с ИБС и впервые диагностированной ХОБЛ преобладали мужчины (87,4 %), в данной группе по сравнению с пациентами с ИБС без сопутствующей ХОБЛ отмечается высокий индекс курения – $(35,8 \pm 3,7)$ против $(12,6 \pm 2,5)$ пачко-лет ($p < 0,001$) и большее количество курящих – 81,2 % против 57,3 % ($p < 0,001$).

Пациенты со стабильной ИБС и впервые диагностированной ХОБЛ чаще имели повторный ИМ в анамнезе (16,4 %), чем пациенты с ИБС без ХОБЛ (5,2 %) ($p = 0,014$), и диффузное поражение КА (47,3 % против 24,9 %, $p = 0,026$) по результатам коронарографии.

Наиболее типичными симптомами при сочетанной патологии были: постоянный кашель, который определялся у 32 (84,2 %) опрошенных и только у 6 (12,8 %) пациентов с ИБС без ХОБЛ ($p < 0,001$), и выделение мокроты – имелось у 15 (39,5 %) опрошенных с коморбидной патологией и у 2 (4,2 %) пациентов второй группы ($p < 0,001$). В то же время жалоба на одышку часто определялась как среди лиц с ИБС – у 39 (83 %) пациентов, так и среди лиц с ИБС и ХОБЛ – у 35 (92,1 %) ($p > 0,05$).

С помощью логистической регрессии были разработаны уравнения и рассчитана вероятность ХОБЛ у пациентов со стабильной ИБС по данным анкетирования: в случае положительного ответа всего на 1 вопрос анкеты вероятность ХОБЛ составила до 6,9 %, при наличии кашля и курения ХОБЛ – 67,4 %, при условии комбинации трех признаков – от 64,5 % до 93 %, при положительных ответах на все вопросы анкеты вероятность обнаружения ХОБЛ составляла 99,1 %.

Установлено, что среди пациентов с сочетанием ИБС и ХОБЛ на фоне гипертонической болезни достоверно преобладали лица с более выраженными признаками ремоделирования левого желудочка (ЛЖ). Концентрическая гипертрофия ЛЖ диагностирована достоверно чаще среди пациентов с сочетанной патологией – у 8 (21,05 %) человек и с одинаковой частотой в группах изолированного течения ИБС и ХОБЛ – у 6 (12,8 %) и 5 (13,9 %) пациентов соответственно ($p_{1-2} = 0,016$, $p_{1-3} = 0,05$, $p_{2-3} = 0,52$). Эксцентричную гипертрофию также выявляли чаще среди пациентов с сочетанием ИБС и ХОБЛ, чем в группах сравнения, а именно у 9 (23,7 %) обследованных, тогда как среди лиц с ИБС – у 7 (14,9 %), в группе ХОБЛ только у 2 (5,5 %) пациентов ($p_{1-2} = 0,037$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{2-3} = 0,025$). Диастолическая дисфункция (ДД) левого желудочка по второму типу была диагностирована чаще в группе сочетанной патологии – у 11 (28,9 %) человек, тогда как среди пациентов с изолированной ИБС – у 3 (6,4 %) ($p_{1-2} = 0,02$) и среди лиц с ХОБЛ – у 3 (8,3 %) ($p_{1-3} = 0,01$).

Установлено, что пациенты с сочетанием ИБС и ХОБЛ характеризовались изменениями правых отделов сердца, отличающими их от пациентов с изолированным течением ХОБЛ, а именно достоверно большим размером правого предсердия (ПП) ($p = 0,01$) и увеличением количества лиц с признаками перегрузки правого желудочка (ПЖ) давлением и объемом (78,4 %, против 60,2 %, $p = 0,01$).

Достоверно больше в группе сочетанной патологии было количество пациентов с желудочковой экстрасистолой (ЖЭ) по сравнению с группами обследованных с изолированным течением ИБС или ХОБЛ: с ранней ЖЭ ($p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$), парной ЖЭ ($p_{1-2} = 0,042$, $p_{1-3} < 0,001$), сериями ЖЭ ($p_{1-2} = 0,01$, $p_{1-3} = 0,043$). Установлено, что совмещенное течение ИБС и ХОБЛ ассоциировалось со снижением как физического, так и психического компонента качества жизни. Суммарные показатели физического и психического статуса были самыми низкими у лиц с сочетанием ИБС и ХОБЛ – $(36,3 \pm 1,5)$ баллов и $(24,1 \pm 1,9)$ баллов соответственно ($p < 0,001$).

Таким образом, частота сочетания ИБС и ХОБЛ у пациентов, находящихся на стационарном лечении по поводу ИБС, по данным ретроспективного анализа, составляла 12,6 % от всей выборки больных ИБС. Диагноз ХОБЛ базировался на данных предварительной медицинской документации и наличии клинических симптомов (94,5 %); сведения по выполнению спирографии присутствуют в 4,6 % медицинских карт. Частота недиагностированной ХОБЛ у пациентов со стабильной ИБС, которые отрицали наличие хронических неспецифических заболеваний легких в анамнезе, составляла 26,8 %. У пациентов с сочетанием ИБС и ХОБЛ чаще возникают ЖЭ высоких градаций по данным суточного мониторирования ЭКГ, а именно у 27 (71,0 %), тогда как среди пациентов с ИБС – у 22 (46,8 %, $p = 0,008$), у лиц с ХОБЛ – у 12 (33,3 %, $p < 0,001$). Пароксизмальные нарушения ритма диагностируются чаще среди лиц с сочетанной патологией – у 11 (28,9 %) человек, в то время как среди пациентов с ИБС – у 9 (19,1 %), среди пациентов с ХОБЛ – у 3 (8,3 %, $p = 0,018$).

Исследование показало, что пациентам со стабильной ИБС старше 40 лет, имеющим одышку и анамнез курения, рекомендуется проводить ежегодное скрининговое обследование

на предмет наличия ХОБЛ с целью раннего выявления и своевременного назначения базисной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ospanova T.S., Semidotskaya Zh.D., Chernyakova I.O., Avdeyeva O.V., Pionova O.M., Tryfonova N.S. To the problem of comorbidity and synthropy in chronic obstructive pulmonary disease. Journal of V. N. Karazin` KhNU. Series «Medicine». 2018; 35: 46–56.
2. Авдеев С.Н. ХОБЛ и сердечно-сосудистые заболевания: механизмы ассоциации. Пульмонология. 2008; 1: 5–13.
3. Горелик Л.П., Калманова Е.Н., Айсанов З.Р. Функционально-структурные изменения сердца при хронической обструктивной болезни легких при сочетании с ишемической болезнью сердца. Пульмонология. 2010; 1: 100–105.
4. Roversi S., Fabbri L.M., Sin D.D., Hawkins N.M., Agustí A. Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Cardiac Diseases. An Urgent Need for Integrated Care. Am J Respir Crit Care Med. 2016 Dec 1; 194(11): 1319–1336. doi: 10.1164/rccm.201604-0690SO.
5. André S., Conde B., Fragoso E., Boléo-Tomé J.P., Areias V., Cardoso J.; GI DPOC-Grupo de Interesse na Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica. COPD and Cardiovascular Disease. Pulmonology. 2019 May-Jun; 25(3):168–176. doi: 10.1016/j.pulmoe.2018.09.006.
6. Campo G., Pavasini R., Malagù M., Mascetti S., Biscaglia S., Ceconi C., Papi A., Contoli M. Chronic obstructive pulmonary disease and ischemic heart disease comorbidity: overview of mechanisms and clinical management. Cardiovascular Drugs and Therapy. 2015; 29(2): 147–157.
7. Houben-Wilke S., Triest F.J.J., Franssen F.M.E., Janssen D.J.A., Wouters E.F.M., Vanfleteren L.E.G.W. Revealing Methodological Challenges in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Studies Assessing Comorbidities: A Narrative Review. Chronic Obstr Pulm Dis. 2019 Apr 9; 6(2):166–177. doi: 10.15326/jcopdf.6.2.2018.0145.

РОЛЬ VASA VASORUM И МАКРОФАГАЛЬНЫХ СКОПЛЕНИЙ В РАЗВИТИИ СОСУДИСТОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ ТРИГГЕРА ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ

Л.А. Богданов, А.Г. Кутихин

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

Аннотация

В последнее время vasa vasorum и скопления иммунокомпетентных клеток в адвентиции и периваскулярной ткани рассматриваются как суррогатный маркер сосудистого воспаления. Целью данной работы было оценить патологическую значимость vasa vasorum и скоплений иммунокомпетентных клеток в развитии сосудистого воспаления при курсовом внутривенном введении КФБ крысам Wistar. В работе использовали две модели развития сосудистого воспаления на примере брюшной аорты крыс: с предварительным повреждением посредством баллонной ангиопластики и без механического повреждения (интактная нисходящая аорта тех же животных выше раздувания баллона). Искусственно синтезированные КФБ вводили в хвостовую вену один раз в сутки в течение 5 дней после ангиопластики. Вывод животных из эксперимента производили через 5 недель. Для визуализации микроstructures vasa vasorum использовали оригинальную методику окрашивания и заключения в эпоксидную смолу с последующей сканирующей электронной микроскопией в обратно-рассеянных электронах. Параллельно производили иммуногистохимическое окрашивание различными маркерами иммунокомпетентных клеток и лимфатического эндотелия. Внутривенное введение КФБ крысам приводило к увеличению vasa vasorum и скоплений активных макрофагов в адвентиции и периваскулярной жировой ткани, свидетельствуя об усилении связанного с дисфункцией эндотелия сосудистого воспаления.

Ключевые слова: vasa vasorum, кальций-фосфатные бионы, ангиопластика, адвентиция, периваскулярная жировая ткань.

THE ROLE OF VASA VASORUM AND MACROPHAGE CLUSTERS IN THE DEVELOPMENT OF VASCULAR INFLAMMATION WITH INTRAVENOUS ADMINISTRATION OF A TRIGGER FOR ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

L.A. Bogdanov, A.G. Kutikhin

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

Abstract

Currently, vasa vasorum and immune cell foci in adventitia and perivascular tissue are considered as surrogate markers of vascular inflammation. Here we attempted to evaluate the pathological significance of vasa vasorum and immune cell foci in the development of vascular inflammation induced by the intravenous administration of CPB to Wistar rats. Both balloon-injured and intact aortas have been analysed. Artificially synthesised CPB have been injected into the tail vein daily during 5 days upon the angioplasty. Animals were sacrificed after 5 weeks. Vasa vasorum were analyzed employing our original technique of tissue processing followed by backscattered scanning electron microscopy. In addition, we performed immunohistochemical staining demonstrating various immune cell populations. To conclude, intravenous administration of CPB to rats led to an increase in amount and area of vasa vasorum and macrophage foci in the adventitia and perivascular adipose tissue.

Key words: vasa vasorum, calcium phosphate bions, angioplasty, adventitia, perivascular adipose tissue.

Актуальность

Многочисленные эксперименты зарубежных и отечественных исследователей указывают на то, что vasa vasorum играют вероятную патогенетическую роль в процессе воспаления [1, 2]. На разных экспериментальных моделях животных было выявлено, что увеличение количества vasa vasorum в адвентиции и периваскулярной жировой ткани коррелирует с выраженностью воспаления [1, 3]. Помимо vasa vasorum, в адвентиции и периваскулярной ткани различными авторами описываются скопления иммунокомпетентных клеток, которые также коррелируют с процессами воспаления [2, 4]. Таким образом, vasa vasorum и скопления иммунокомпетентных клеток в адвентиции и периваскулярной жировой ткани рассматриваются как суррогатный маркер сосудистого воспаления, однако при этом остается неясным, происходит ли увеличение их количества и площади при индуцированной дисфункции эндотелия [1, 5].

Новизна

В качестве триггера эндотелиальной дисфункции использованы кальций-фосфатные бионы (КФБ), связывающие хроническую болезнь почек с развитием атеросклероза, влияние которых на развитие сосудистого воспаления до настоящего времени не изучалось.

Цель – оценить патогенетическую значимость vasa vasorum и макрофагальных скоплений в развитии сосудистого воспаления при курсовом внутривенном введении КФБ крысам Wistar.

Материал и методы

В работе использовали две модели развития сосудистого воспаления на примере брюшной аорты крыс: с предварительным повреждением посредством баллонной ангиопластики и без механического повреждения (интактная нисходящая аорта тех же животных выше раздувания баллона). Искусственно синтезированные КФБ вводили в хвостовую вену один раз в сутки в течение 5 дней после ангиопластики. Вывод животных из эксперимента производили через 5 недель. Полученные образцы фиксировали и заключали в эпоксидную смолу по оригинальной методике с контрастированием тетраоксидом осмия, уранилацетатом и цитратом свинца для последующей сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах. Параллельно производили забор сосудистых сегментов для иммуногистохимического окрашивания. Биоптаты немедленно замораживали в металлической цилиндрической форме в криосреде (Tissue-Tek, Sakura) путем погружения формы в сосуд Дьюара с жидким азотом. Далее производили серийную резку (10 равномерно распределенных по всей длине биоптата срезов на стекло) на криотоме (MicromHM 525, ThermoScientific). Иммуногистохимическое окрашивание выполняли с использованием антител к макрофагам (F4/80, CD68), маркеру активности макрофагов и нейтрофилов миелопероксидазе (МПО), антитела к Т-лимфоцитам (CD3), панлейкоцитарного антитела CD45, а также антител к маркерам лимфатического эндотелия (VEGFR3, LYVE1). Связь количества и площади vasa vasorum с аналогичными характеристиками скоплений иммунокомпетентных клеток и объемом неинтимы проводили с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты

При помощи иммуногистохимического окрашивания была выявлена макрофагальная природа происхождения детектированных иммунных скоплений, которые отчетливо дифференцировались от vasa vasorum, окружающей адвентиции и периваскулярной жировой ткани при помощи окрашивания на маркер макрофагальной дифференцировки F4/80 и маркер функциональной активности макрофагов и нейтрофилов МПО. Окрашивание на

панлейкоцитарный маркер CD45 выявило равномерно распределенные по периваскулярной жировой ткани лейкоциты, также детектируемые в выявленных иммунных скоплениях, однако совершенно не специфичные для них. Отдельные иммунные скопления дифференцировались при помощи окрашивания на маркер Т-лимфоцитов CD3, однако в большинстве своем CD3-положительных клеток не содержали и также не окрашивались на маркеры лимфатического эндотелия VEGFR3 и LYVE1. Внутривенное введение КФБ независимо от экспериментальной модели приводило к увеличению площади и количества vasa vasorum и макрофагальных скоплений в адвентиции и периваскулярной жировой ткани в сравнении с контрольной группой, которая получала вместо КФБ безвредные магний-фосфатные бионы (МФБ).

Выводы

Индукцированная дисфункция эндотелия (на примере курсового внутривенного введения КФБ) вызывает воспаление адвентиции и периваскулярной жировой ткани, отражаемое в том числе увеличением количества и площади vasa vasorum и макрофагальных скоплений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sedding D.G., Boyle E.C., Demandt J.A.F., Sluimer J.C., Dutzmann J., Haverich A., Bauersachs J. Vasa Vasorum Angiogenesis: Key Player in the Initiation and Progression of Atherosclerosis and Potential Target for the Treatment of Cardiovascular Disease. *Front Immunol.* 2018; 9: 706. doi: 10.3389/fimmu.2018.00706.
2. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med.* 2003; 9(6): 653–60. doi: 10.1038/nm0603-653.
3. Maiellaro K., Taylor W.R. The role of the adventitia in vascular inflammation. *Cardiovasc Res.* 2007; 75(4): 640–8. doi: 10.1016/j.cardiores.2007.06.023.
4. Шишкова Д.К., Великанова Е.А., Кривкина Е.О., Миронов А.В., Кудрявцева Ю.А., Кутихин А.Г. Токсическое действие кальций-фосфатных бионов на адвентицию брюшной аорты крыс. *Атеросклероз и дислипидемии.* 2018; 3(32): 37–43.
5. Musil V., Sach J., Kachlik D., Patzelt M., Stingl J. Vasa vasorum: an old term with new problems. *Surg Radiol Anat.* 2018; 40(10): 1159–1164. doi: 10.1007/s00276-018-2068-3.

ОЦЕНКА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

С.Э. Вейсалов

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород, Россия

Аннотация

Роль сосудистого эндотелия в прогрессировании хронического пиелонефрита при ренокардиальном синдроме изучена в настоящее время недостаточно. Целью работы явилась оценка эндотелиальной дисфункции у пациентов с хроническим пиелонефритом в зависимости от течения заболевания. Проведено динамическое клиническое и лабораторно-инструментальное обследование 112 больных хроническим пиелонефритом (ХП). Было выделено три группы: первую группу (42 пациента) составили больные с рецидивирующим течением ХП, обострениями 3 и более раз за год (ХПр); вторую (36 больных) – больные с активной фазой пиелонефрита (ХПк), имеющие коморбидную сердечно-сосудистую патологию (стабильную ишемическую болезнь сердца (ИБС) с ХСН I–II функциональный класс); третью контрольную группу (34 пациента) составили больные с неактивной фазой заболевания (ХП), имеющие в анамнезе пиелонефрит не менее 5 лет, редкие обострения – не чаще 1 раза в год. В ходе исследования всем больным исследовали эндотелийзависимую вазодилатацию (ЭЗВД), изменения в магистральных сосудах пациентов с ХП с помощью ультразвука. Оценка структурно-функционального состояния магистральных сосудов у пациентов с хроническим пиелонефритом, особенно при рецидивирующем и коморбидном течении, показала достоверную ассоциацию воспалительного процесса в почках и эндотелиальной дисфункции. Установлено, что у пациентов как группы ХПр, так и группы ХПк изменения в сосудистой стенке проявлялись увеличением толщины комплекса интима-медиа (ТИМ), скорости пульсовой волны (СПВ) в сонной артерии (СПВ СА) и брюшной аорте (СПВ БА), а также снижением степени ЭЗВД, что достоверно ($p < 0,001$) отличало эти группы от контрольной группы больных ХП. Установленные изменения можно объяснить активацией медиаторов симпатоадреналовой и ренин-ангиотензиновой систем, что приводит к повреждению эндотелия, утолщению комплекса интима-медиа, перестройке архитектоники медиа и адвентиция, увеличению ригидности сосудистой стенки, сопровождающемуся ускорением пульсовой волны.

Ключевые слова: ренокардиальный синдром, хронический пиелонефрит, ригидность сосудистой стенки, эндотелийзависимая вазодилатация.

EVALUATION OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH CHRONIC PYELONEPHRITIS DEPENDING ON THE COURSE OF THE DISEASE

S.E. Veysalov

Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

Abstract

The role of vascular endothelium in the progression of chronic pyelonephritis in renocardial syndrome has not been studied sufficiently. The aim of the work was to assess endothelial dysfunction in patients with chronic pyelonephritis depending on the course of the disease. A dynamic clinical and laboratory-instrumental examination of 112 patients with chronic pyelonephritis (CP) was carried out. Three groups were distinguished: the first group (42 patients) - consisted of patients with a recurring course of CP, exacerbations of 3 or more times per year (CPr); the second (36 patients) - patients with an active phase of pyelonephritis (CPk), having comorbid cardiovascular disease (stable coronary heart disease (CHD) with heart failure I-II functional class); the third control group (34 patients) consisted of patients with an inactive phase of the disease (CP) who had a history of pyelonephritis for at least 5 years, rare exacerbations - not more than 1 time per year. During the study, all patients were examined for endothelium-dependent vasodilation (EDVD), changes in the major vessels of patients with CP using ultrasound. Assessment of the structural and functional state of the main vessels in patients with chronic pyelonephritis, especially in relapsing and comorbid course, showed a reliable association of the inflammatory process in the kidneys and endothelial dysfunction. It was found that in patients of both the CPr group and the CPk group, changes in the vascular wall were manifested by an increase in the thickness of the intima-media complex (TIM), pulse wave velocity in the carotid artery (VPW SA) and abdominal aorta (VPW BA), as well as a decrease in the degree of EDVD, which significantly ($p < 0.001$) distinguished these groups from the control group of patients with CP. The established changes can be explained by the activation of mediators of the sympathoadrenal and renin-angiotensin systems, which leads to damage to the endothelium, a thickening of the intima-media complex, restructuring of the architectonics of media and adventitia, an increase in the rigidity of the vascular wall, accompanied by an acceleration of the pulse wave.

Key words: renocardial syndrome, chronic pyelonephritis, stiffness of the vascular wall, endothelium-dependent vasodilation.

Сосудистый эндотелий в норме представляет собой многофункциональный барьер, полупроницаемый на макромолекулярном уровне, формирующий русло для тока крови и обеспечивающий антитромбогенный потенциал для поддержания ее текучести. Сосудистый эндотелий сердечно-сосудистой системы является постоянным объектом для различных механических нагрузок, возникающих при пульсирующем кровотоке. Находясь в прямом контакте с кровью, эндотелий особенно чувствует фрикционную составляющую нагрузки (сдвижной стресс стенки), которая возникает при течении вязкой жидкости [1].

Структурные и функциональные свойства сосудистого эндотелия динамично реагируют на локальные и системные стимулы, а его фенотипические преобразования в дисфункциональном состоянии могут быть патогенным фактором риска сосудистых нарушений. В условиях физиологической нормы доминирующим является освобождение релаксирующих факторов. Но при некоторых состояниях сосудистой системы способность эндотелиальных клеток освобождать релаксирующие факторы может уменьшаться, тогда как способность образования сосудосуживающих факторов сохраняется неизменной или увеличивается, что приводит к формированию состояния, которое классифицируется как эндотелиальная дисфункция (ЭД). В норме при изменении скорости кровотока меняется диаметр крупных артерий: при увеличении кровотока артерии расширяются, а при понижении – сужаются. Считается, что регуляция просвета артерий является локальной реакцией [2].

Тем не менее, при воспалительных хронических процессах со стороны внутренних органов также развивается эндотелиальная дисфункция, влияющая на организм в целом. Уже считается доказанным, что у больных с хронической болезнью почек (ХБП) часто сопутствующей патологией является сердечно-сосудистая патология [3–6]. Однако роль сосудистого эндотелия в прогрессировании хронического пиелонефрита изучена в настоящее время недостаточно.

Поэтому **целью работы** явилась оценка эндотелиальной дисфункции у пациентов с хроническим пиелонефритом в зависимости от течения заболевания.

Проведено динамическое клиническое и лабораторно-инструментальное обследование 112 больных хроническим пиелонефритом (ХП) без явлений обструкции мочевыводящих путей, которым бы требовалось хирургическое вмешательство, в возрасте от 29 до 67 лет, находившихся на стационарном и амбулаторном лечении в нефрологическом отделении Белгородской областной клинической больницы. Среди обследованных было выделено три группы: первую группу (42 пациента) составили больные с рецидивирующим течением ХП, обострениями 3 и более раз за год (ХПр); вторую (36 больных) – больные с активной фазой пиелонефрита (ХПк), имеющие коморбидную сердечно-сосудистую патологию (стабильную ишемическую болезнь сердца (ИБС) с ХСН I–II ФК); третью контрольную группу (34 пациента) составили больные с неактивной фазой заболевания (ХП), имеющие в анамнезе пиелонефрит не менее 5 лет, редкие обострения – не чаще 1 раза в год. Группы были репрезентативны по возрасту.

Среди обследованных больных было 45 мужчин и 67 женщин, т.е. большинство больных хроническим пиелонефритом составили женщины (59,8 %). Преобладала длительность заболевания от 4 до 15 лет, средняя продолжительность хронического пиелонефрита составила $8,6 \pm 3,4$ года. У 41 (36,6 %) пациента хронический пиелонефрит был первичным, в 63,4 % – вторичным, причиной которого чаще всего были мочекаменная болезнь, пороки развития и положения почек. Тяжелое клиническое течение заболевания выявлено у 32,1 % лиц, умеренное и легкое – у 76 (67,8 %) пациентов. Все больные были с сохраненной функцией почек. Критериями постановки диагноза хронического пиелонефрита были: наличие болевого, интоксикационного, дизурического, мочевого синдромов и характерные изменения на экскреторных урограммах и при ультразвуковом исследовании (УЗИ) почек.

В ходе работы исследовали эндотелийзависимую вазодилатацию (ЭЗВД) с помощью пробы с реактивной гиперемией, разработанной Celermajer D.S. и соавт. [5]. Также были оценены изменения в магистральных сосудах пациентов с ХП с помощью ультразвука высокого разрешения в В-режиме. Рассчитывали процент изменения диаметра плечевой артерии (% D), который на данный момент имеет наибольшую диагностическую значимость в оценке функционального состояния эндотелия и в норме должен быть не менее 10 %.

Полученные результаты обрабатывались методами вариационной статистики с использованием компьютерной программы Statistica 6.0. Данные представлены в общепринятом виде ($M \pm m$), где M – среднее арифметическое, а m – ошибка среднего арифметического. Результаты считались статистически значимыми при вероятности ошибки менее пяти процентов ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Проведенные результаты демонстрируют стремительное снижение значения показателя % D в исследуемой группе больных ХП. Если в группе больных ХП медиана показателя составляла 14,7 % с ИКР $13,6 \div 20,3$ %, в группе больных ХПр медиана составила 12,7 %, а ИКР был в пределах $11,4 \div 17,9$ %, то в группе больных ХПк медиана снижалась более чем вдвое по отношению к группе здоровых (6,9 %), а ИКР стремился в сторону значений меньше критического уровня на 10 % и составил $3,9 \div 8,5$ %. Для групп ХПр и ХПк медианы составляли 6,7 % и 3,5 % соответственно ($p < 0,05$).

Оценка структурно-функционального состояния магистральных сосудов у пациентов с хроническим пиелонефритом в стадии обострения дает представление об ассоциации воспалительного процесса и ЭД, которые являются неотъемлемыми компонентами указанной патологии.

Установлено, что у пациентов как группы ХПр, так и группы ХПк изменения в сосудистой стенке проявлялись увеличением толщины комплекса интима-медиа (ТИМ), скорости пульсовой волны (СПВ) в сонной артерии (СПВ СА) и брюшной аорте (СПВ БА), а также снижением степени ЭЗВД, что достоверно ($p < 0,001$) отличало эти группы от контрольной группы больных ХП. Установленные изменения можно объяснить активацией медиаторов симпатoadреналовой и ренин-ангиотензиновой систем, что приводит к повреждению эндотелия, утолщению комплекса интима-медиа, перестройке архитектоники медиа и адвентиция, увеличению ригидности сосудистой стенки, сопровождающемуся ускорением пульсовой волны [6, 7].

Отличительной особенностью группы пациентов с ХПр по сравнению с группой больных ХПк (табл. 1) были достоверно большие значения ТИМ, СПВ СА и СПВ БА при достоверно меньшей величине ЭЗВД ($p < 0,001$). Указанные изменения, наблюдаемые у пациентов с ХПр, можно объяснить воспалительным процессом, который связан с постоянной стимуляцией синтеза липидов в артериальной стенке и пролиферацией гладкомышечных клеток сосудистой стенки.

Итак, состояние вазорегулирующих функций эндотелия артерий является важным функциональным тестом у больных хроническим пиелонефритом. При рецидивирующем и коморбидном течении пиелонефрита наблюдается выраженная дисфункция эндотелия.

Таблица 1

Структурно-функциональное состояние магистральных сосудов у обследованных пациентов

Показатели	Группа ХПр, n=42	Группа ХПк, n=36	Группа ХП, n=34
ТИМ, мм	0,92 ± 0,017*	0,82 ± 0,009***°	0,61 ± 0,020
СПВ СА, м/с	8,42 ± 0,059*	7,61 ± 0,074***°	5,78 ± 0,127
СПВ БА, м/с	8,76 ± 0,085*	8,11 ± 0,065***°	6,21 ± 0,109
ЭЗВД, %	6,42 ± 0,042*	8,91 ± 0,121***°	14,02 ± 0,213

Примечание: * – статистически значимые различия между группами ХП и ХПр; ** – статистически значимые различия между группой ХПк и ХПр; ° – статистически значимые различия между группой ХП и ХПк.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боровкова Н.Ю., Боровков Н.Н., Теплова Н.О. Состояние вазодилатирующей функции эндотелия при артериальной гипертензии у больных хроническим гломерулонефритом с сохранной функцией почек. Человек и его здоровье. 2009; 4: 59–63.
2. Курапова М.В. Клинико-диагностическое значение эндотелиальной дисфункции у больных хронической болезнью почек [автореф. дис. ... канд. мед. наук]. Самара, 2015. 22 с.
3. Кобалава Ж.Д., Котовская Ю.В., Виллевалде С.В., Соловьева А.Е., Амирбегишвили И.М. Артериальная жесткость и хроническая болезнь почек: причины и последствия. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2014; 10(1): 83–91.
4. Полякова И.В., Боровкова Н.Ю., Маслова Т.И., Максимова И.Ю., Зубова С.Ю., Соловьянова Е.Н. Взгляд на жесткость сосудистой стенки и сердечно-сосудистый риск у больных хроническим гломерулонефритом. Терапия. 2019; 2 (28): 89–94.
5. Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M., Spiegelhalter D.J., Miller O.I., Sullivan I.D., Lloyd J.K., Deanfield J.E. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet, 1992; 340: 1111–15. doi: 10.1016/0140-6736(92)93147-f.
6. Розогина Л.А., Лимарева Л.В., Осадчук А.М., Золотовская И.А., Давыдкин И.Л. Нарушение функции эндотелия у пациентов с почечным трансплантатом. Терапия. 2019; 52(28): 36–41.
7. Zhang J., Bian L., Ma F.Z., Jia Y., Lin P. Patients with primary membranous nephropathy are at high risk of cardiovascular events. Kidney Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2018 Nov; 22(22): 8021–8029. doi: 10.26355/eurrev_201811_16431.

КАРДИОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ АДАПТАЦИИ К ХОЛОДУ

Н.С. Воронков, С.Ю. Цибульников

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

Аннотация

Феномен перекрёстной резистентности заключается в том, что после стрессорного воздействия возникает устойчивость не только к фактору, вызвавшему это состояние, но и к другим чрезмерным по силе раздражителям. Показано, что после адаптации организма к различным экстремальным воздействиям появляется перекрёстная резистентность к патогенному действию ишемии и реперфузии миокарда. Однако не было известно, оказывает ли кардиопротекторный эффект непрерывная адаптация к холоду. Исследование проводили на крысах-самцах линии *Wistar*, которых подвергали непрерывному холодному воздействию (+4 °С, 4 недели). Через сутки после окончания воздействия крысам проводили коронароокклюзию (45 мин) и реперфузию (120 мин) сердца. После чего изготавливали и окрашивали срезы миокарда. Планиметрическим методом оценивали отношение площади зоны некроза миокарда к области риска (гипоперфузии). Также оценивали нарушения ритма сердца на ЭКГ, изменение массы органов, измерение уровня кортизола и кортикостерона. Установлено, что непрерывное воздействие холода вызывает двукратное увеличение массы бурого жира у крыс, что является показателем адаптации к холоду. При этом уровни кортизола и кортикостерона не увеличились, не наблюдалось инволюции тимуса и изменений массы селезёнки. Это говорит о том, что такая адаптация не является хроническим стрессом. У крыс, подвергнутых непрерывному холодному воздействию, индекс зона некроза/область риска снижался на 30 % по сравнению с контрольной группой. Таким образом, непрерывная адаптация к холоду оказывает инфаркт-лимитирующий эффект.

Ключевые слова: ишемия, сердце, адаптация, холод, стресс.

CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF COLD ADAPTATION

N.S. Voronkov, S.Y. Tsibul'nikov

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

Abstract

The phenomenon of cross-resistance lies in the fact that after stress exposure there is resistance not only to the factor that caused this condition, but also to other irritants that are excessive in strength. It is shown that after the body adapts to various extreme influences, cross-resistance to the pathogenic effect of ischemia and myocardial reperfusion appears. However, it was not known whether the cardioprotective effect has continuous adaptation to cold. The study was performed on male Wistar rats, which were subjected to continuous cold exposure (+4 °C, 4 weeks). A day after the end of the exposure, the rats underwent coronary occlusion (45 min) and reperfusion (120 min) of the heart. After that, myocardial sections were made and stained. The planimetric method was used to evaluate the ratio of the area of the myocardial necrosis zone to the risk area (hypoperfusion). Heart rhythm disturbances on an ECG, changes in organ mass, and measurement of cortisol and corticosterone levels were also evaluated. It was found that continuous exposure to cold causes a twofold increase in the mass of brown fat in rats, which is an indicator of adaptation to cold. At the same time, the levels of cortisol and corticosterone did not increase, there was no involution of the thymus and changes in the mass of the spleen. This suggests that such an adaptation is not chronic stress. In rats subjected to continuous cold exposure, the necrosis zone/risk area index decreased by 30 % compared with the control group. Thus, continuous adaptation to cold has an infarct-limiting effect.

Key words: ischemia, heart, adaptation, cold, stress.

Актуальность

Феномен перекрёстной резистентности заключается в том, что после стрессорного воздействия возникает устойчивость не только к фактору, вызвавшему это состояние, но и к другим чрезмерным по силе раздражителям. Показано, что после адаптации организма к различным экстремальным воздействиям появляется перекрёстная резистентность к патогенному действию ишемии и реперфузии миокарда [1]. Однако не было известно, оказывает ли кардиопротекторный эффект непрерывная адаптация к холоду.

Цель работы: оценить инфаркт-лимитирующий эффект адаптации к холодovому воздействию.

Материал и методы

Исследование выполнено на 53 крысах-самцах линии Wistar массой 200–220 г. Группа из 12 крыс круглосуточно содержалась в холодильной камере при +4 °C в течение 4 недель [2]. В группу контроля включено 15 животных, содержащихся в стандартных условиях вивария. Через 24 часа после окончания холодovого воздействия крысам проводили коронароокклюзию (45 мин) и реперфузию (120 мин), для чего крыс наркотизировали α -хлоралозой (50 мг/кг, внутривентрально) и подключали к аппарату искусственной вентиляции легких. Оклюзию левой нисходящей коронарной артерии проводили на 2 мм ниже её отхождения от аорты. После ишемии лигатуру ослабляли и восстановление кровотока подтверждали появлением эпикардиальной гиперемии.

Выявление зоны некроза (ЗН) и области риска (ОР) проводили по методу J. Neckar и соавт. [3]. Областью риска принято называть миокард, подвергшийся ишемии-реперфузии. После реперфузии сердце извлекали из грудной клетки и промывали через аорту физиологическим раствором. Для определения области риска лигатуру вновь затягивали и миокард окрашивали струйно через аорту 5 % перманганатом калия. После чего изготавливали срезы миокарда левого желудочка толщиной в 1 мм перпендикулярно к продольной оси. Зона некроза выделялась из зоны риска путем окрашивания 1 % раствором 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (30 минут, 37 °C), являющегося индикатором жизнеспособных клеток и тканей. Срезы помещали в 10 % раствор формальдегида на сутки, после чего сканировали с обеих сторон. Размер области риска и зоны некроза определяли компьютеризированным планметрическим методом. Размер зоны некроза выражается в процентах от размера области риска, как соотношение ЗН/ОР.

В отдельную серию экспериментов было включено 12 адаптированных и 14 контрольных крыс, у которых определяли уровень гормонов, массу надпочечников, селезенки, тимуса.

Одним из показателей адаптации к холоду у животных является относительное увеличение массы бурого жира [4], поэтому у адаптированных животных взвешивали межлопаточный бурый жир. После декапитации у крыс забирали кровь и центрифугировали (15 мин, 3000 об/мин). Измерение уровня кортикостерона проводили иммуноферментным методом, а измерение уровня кортизола радиоиммунным методом.

Количественные значения выражали как среднее арифметическое (M) $\pm$ стандартная ошибка среднего. Критерий Манна-Уитни использовали для определения достоверности влияния адаптации к холоду на соотношение ЗН/ОР, уровень гормонов, массу тела крыс и массу бурого жира.

Результаты

Установлено, что непрерывное воздействие холода (+4 °C, 4 недели) вызывает двукратное увеличение массы бурого жира в сравнении с интактными животными (табл. 1). Как известно, бурый жир играет важную роль в термогенезе и акклиматизации к холоду, а увеличение массы бурой жировой ткани является показателем адаптации к холодovому воздействию. Мы обнаружили, что при непрерывном воздействии холода масса надпочечников увеличилась на 40 % по сравнению с интактными животными. Уровни кортизола и кортикостерона в сыворотке крови при этом не изменились, инволюции тимуса и изменений массы селезенки и сердца не наблюдалось (табл. 1). Наши данные свидетельствуют, что у крыс действительно формируется адаптация к холоду, и длительное холодovое воздействие не является хроническим стрессом. Как можно видеть на графике (рис. 1), у крыс, подвергнутых холодovому воздействию, индекс ЗН/ОР был достоверно ниже на 30 % по сравнению с контрольной группой. Следовательно, адаптация к непрерывному воздействию холода оказывает инфаркт-лимитирующий эффект.

Заключение

Таким образом, нами было установлено, что непрерывное воздействие холода (+4 °C, 4 недели) вызывает адаптацию к холоду, оказывает инфаркт-лимитирующий эффект и не является хроническим стрессом. Однако механизм кардиопротекторного действия адаптации к холоду остаётся неизвестным. Мы предполагаем, что он может быть связан с увеличением плотности β_3 -адренорецепторов в миокарде в ответ на длительное непрерывное холодovое воздействие. Действительно, имеются данные о том, что введение адреномиметиков подопытным животным перед коронароокклюзией может оказывать инфаркт-лимитирующий эффект [5].

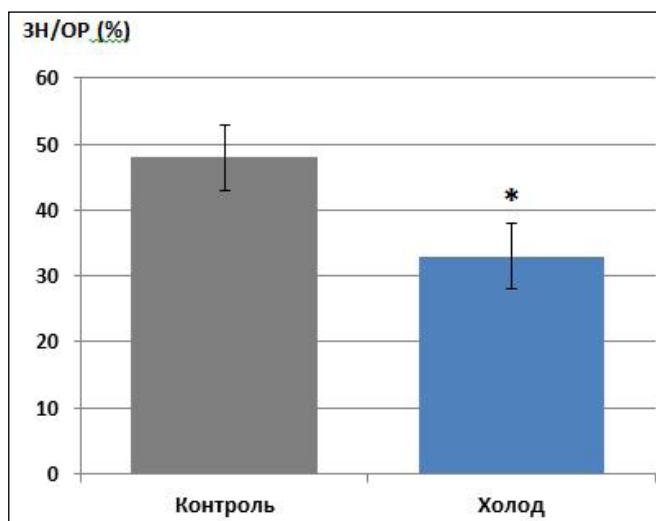


Рис. 1. Влияние холодovого адаптации на соотношение зоны некроза к области риска в миокарде крыс ($p < 0,05$).

По оси ординат – отношение зоны некроза (ЗН) миокарда к области риска (ОР), выраженное в процентах (%).

* – статистически значимые различия по сравнению с группой контроля (при $p < 0,01$)

Таблица 1

Морфологические показатели стресс-реакции у крыс

Группы крыс	Масса крыс, г	Масса тимуса, мг	Масса надпочечников, мг	Масса селезенки, мг	Кортикостерон, нМоль/л	Кортизол, нМоль/л	Масса бурого жира, мг
Контроль (n=14)	282,6±9,3	240,5±13,2	35,6±2,1	1059,5±96,1	2568,5±93,3	58,3±12,2	300,4±38,2
Холод (n=12)	264,8±3,6	217±12,9	49,7±2*	933,8±45,2	2587,3±91,4	47,1±6,1	764,6±30,5*

Примечания: n – количество животных в группе; * – статистически значимые различия по сравнению с группой контроля (при p<0,01).

ЛИТЕРАТУРА

1. Meerson F.Z., Pozharov V.P., Minyailenko T.D., Golubeva L.Y. Adaptation to stress can enhance animal resistance to sublethal hypoxia to a greater extent than adaptation to hypoxia // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 116(6): 1467–1471.
2. Kvetnansky R., Ugropec J., Laukova M., Manz B., Pacak K., Vargovic P. Stress stimulates production of catecholamines in rat adipocytes // Cell Mol Neurobiol. 2012. Jul; 32(5): 801–13. doi: 10.1007/s10571-012-9822-6.
3. Neckár J., Szárszoi O., Herget J., Ostádal B., Kolár F. Cardioprotective effect of chronic hypoxia is blunted by concomitant hypercapnia // Physiol Res. 2003; 52(2): 171–5.
4. Lim S., Honek J., Xue Y., Seki T., Cao Z., Andersson P., Yang X., Hosaka K., Cao Y. Cold-induced activation of brown adipose tissue and adipose angiogenesis in mice // Nat Protoc. 2012 Mar. 1; 7(3): 606–15. doi: 10.1038/nprot.2012.013.
5. Khalilulin I., Halestrap A.P., Suleiman M.S. Temperature preconditioning is optimal at 26°C and confers additional protection to hypothermic cardioplegic ischemic arrest // Exp. Biol. Med. (Maywood). 2011. Jun 1; 236(6): 736–45. doi: 10.1258/ebm.2011.010357.

ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ С ГЕНЕТИЧЕСКИМ ПОЛИМОРФИЗМОМ У ПАЦИЕНТОВ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА

Р.А. Джоджуа¹, Н.Ю. Паниева¹, К.А. Ступакова², Ю.А. Брова¹, Д.С. Паниев¹, А.А. Федорченко¹

ГООВПО «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького», г. Донецк, ДНР¹
Донецкое клиническое территориальное медицинское объединение, г. Донецк, ДНР²

Аннотация

Среди гипертензивных лиц молодого возраста с генетическим полиморфизмом преобладают мужчины. Течение гипертензивного синдрома у больных, ассоциированных с генетическим полиморфизмом, характеризуется более ранним началом гипертензии и более быстрыми темпами ее прогрессирования. Преобладающими полиморфными генами являются ген ангиотензиногена 704 T>C, цитохром 11b2, альдостеронсинтаза 344 C>T, синтаза окиси азота 894 G>T. Течение гипертензивного синдрома характеризуется более высокой частотой осложненных и неосложненных гипертензивных кризов, большим числом госпитализаций, более длинным периодом подбора оптимальной антигипертензивной терапии, более низкой частотой достижения целевого уровня давления и большим количеством одновременно принимаемых антигипертензивных средств.

Ключевые слова: особенности клинических проявлений, гипертоническая болезнь, генетический полиморфизм, лица молодого возраста.

FEATURES OF CLINICAL MANIFESTATIONS IN PATIENTS WITH HYPERTENSIVE DISEASE WITH GENETIC POLYMORPHISM IN YOUNG PATIENTS

R.A. Jojua¹, N.Yu. Panieva¹, K.A. Stupakova², Yu.A. Brova¹, D.S. Paniev¹, A.A. Fedorchenko¹

GOOVPO «Donetsk National Medical University after Gorky», Donetsk¹
Donetsk Clinical Territorial Medical Association, Donetsk²

Abstract

Among hypertensive young people with genetic polymorphism, men predominate. The course of hypertensive syndrome in patients associated with genetic polymorphism is characterized by an earlier onset of hypertension and a faster rate of its progression. The predominant polymorphic genes are the angiotensinogen gene 704 T>C, cytochrome 11b2, aldosterone synthase 344 C>T, nitric oxide synthase 894 G>T. The course of hypertensive syndrome is characterized by a higher frequency of complicated and uncomplicated hypertensive crises, a greater number of hospitalizations, a longer period for selecting the optimal antihypertensive therapy, a worse frequency of reaching the target pressure level and a large number of simultaneously taken antihypertensive drugs.

Key words: features of clinical manifestations, hypertension, genetic polymorphism, young people.

Актуальность

Спектр генов-кандидатов, принимающих участие в реализации гипертонической болезни (ГБ), достаточно широк и включает группы генов, контролирующих различные метаболические и гомеостатические системы, нарушения которых вовлечены в патогенез сердечно-сосудистых заболеваний [1]. Неудачные попытки целого ряда исследователей связать развитие АГ с полиморфизмом какого-либо одного гена привели к пониманию важной роли различных ген-генных ассоциаций в формировании наследственной предрасположенности к этому заболеванию [2]. Генетический полиморфизм – это результат мутации, предполагающий замену одного нуклеотида на другой, так называемые точечные однонуклеотидные полиморфизмы. Считается, что примерно 30 % генов, кодирующих белки, полиморфны.

Ряд исследований показывает полиморфность маркеров генов ангиотензиногена (AGT), ангиотензинпревращающего фермента (ACE), ангиотензиновых рецепторов 1-го типа (AGTR1), альдостеронсинтазы (CYP11B2) с наследственной отягощенностью при ГБ, в том числе у лиц молодого возраста [3].

Продолжается поиск генетических маркеров гипертензивного синдрома у лиц молодого возраста и новых направлений лечения такого контингента больных, отличающегося явно низкой приверженностью к лечению.

Целью настоящего исследования явилась оценка характера течения генетически индуцированного гипертензивного синдрома у людей молодого возраста.

Материал и методы

35 пациентов с установленным генетическим полиморфизмом включены в основную группу наблюдения. 52 пациента без генетического полиморфизма вошли в группу сравнения.

В исследование включались пациенты, которые соответствовали следующим критериям: возраст от 18 до 45 лет; верифицированный диагноз ГБ 1–2 стадии и 1–2 степени; лица европеоидной расы, не состоящие в родстве; письменное информированное согласие больного на участие в исследовании.

При помощи детектирующих амплификаторов «ДТ-96» и «ДТпрайм» (Россия) проведены генетические исследования полиморфизма генов ADD1 (альфа-аддуктина 1378 G>T), AGT (ангиотензиногена 704 T>C), AGT (ангиотензиногена 521 C>T), AGTR1 (рецептор 1-го типа для ангиотензина 2 1166 A>C), AGTR2 (рецептор 2 типа для ангиотензина 2 1675 G>A), CYP11B2 (цитохром 11b2, альдостеронсинтаза 344 C>T), GNB3 (бета 3 субъединица G-белка) – гуанин-связывающий белок 825 C>T, NOS3 (синтаза окиси азота 786 T>C), NOS3 (синтаза окиси азота 894 G>T).

Статистическая обработка данных проводилась на персональном компьютере с использованием пакета программы для статистического анализа «Statistica 6.0». Нормальность распределения анализировали в тесте Колмогоров-Смирнова. Для сопоставления количественных параметров использовали критерий Стьюдента (t) при нормальном типе распределения. За уровень значимости (p) принимали величину $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Среди пациентов с генетическим полиморфизмом преобладали мужчины (в основной группе их отношение к женщинам равнялось 22 к 13, а в группе сравнения 27 к 25 соответственно).

Следует отметить, что у 62,8 % пациентов этой группы была 1 стадия, а у 54,3 % лиц – 1 степень ГБ. Длительность ГБ не превышала 3,5 года. Напротив, в группе сравнения средний возраст пациентов был в среднем на 5 лет больше, а соотношение мужчин и женщин приближалось к 1:1. В этой группе, в отличие от группы с полиморфизмом генов-кандидатов, преобладала 1 стадия и 1 степень ГБ, что указывает на более легкое течение гипертензив-

ного синдрома у лиц с негативными генетическими результатами. Средний возраст начала заболевания и, соответственно, возраст дебюта заболевания статистически достоверно превосходил группу генетически ассоциированными вариантами заболевания ($45,9 \pm 0,9$ и $45,9 \pm 0,9$ лет соответственно).

Наиболее часто зарегистрированы гены: ангиотензиногена 704 T>C (68,6 %), рецептора 1 типа для ангиотензина 2 1166 A>C (45,7 %), цитохрома 11b2, альдостеронсинтазы 344 C>T (80,0 %), синтазы окиси азота 786 T>C и 894 G>T (94,3 и 74,3 % соответственно). Среднее количество одновременно идентифицированных генов-кандидатов составило 7,6. Это указывает, с одной стороны, на сложность и многокомпонентность генов и механизмов, которые они кодируют, а, следовательно, и патогенетических механизмов, участвующих в инициации и развитии ГБ, а, с другой стороны, демонстрирует наиболее глобальные из них, участвующие в патогенетических построениях генетически ассоциированного гипертензивного синдрома.

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что частота гипертензивных кризов без обращения в лечебное учреждение в группе сравнения была достоверно ниже, чем в основной группе.

Частота вызова бригады скорой помощи по причине неосложненного гипертензивного криза в группе сравнения была достоверно меньше, чем в группе генетически ассоциированного течения ГБ. При анализе частоты экстренных госпитализаций в основной группе оказалось, что лидирующими причинами были кровотечения и нарушения ритма сердца (17,1 %). В группе сравнения такие осложнения наблюдались редко либо их не было вообще (аритмии).

Частота среднего числа госпитализаций из расчета на одного больного оказалась статистически достоверной между основной группой и группой сравнения.

Важным элементом, отражающим эффективность лечения гипертензивного синдрома, является частота достижения целевых значений АД. Наивысшие значения были получены в группе сравнения (76,9 %), в то время как в основной аналогичный показатель равнялся 54,3 %.

Выводы

Среди гипертензивных лиц молодого возраста с генетическим полиморфизмом преобладают мужчины.

Течение гипертензивного синдрома у гипертензивных больных, ассоциированных с генетическим полиморфизмом, характеризуется более ранним началом АГ и более быстрыми темпами его прогрессирования.

Средняя частота одновременно выявленных генетических мутаций равняется 7,7.

Преобладающими полиморфными генами являются: ген ангиотензиногена 704 T>C, цитохром 11b2, альдостеронсинтаза 344 C>T, синтаза окиси азота 894 G>T.

Течение гипертензивного синдрома у больных молодого возраста с АГ, ассоциированной с генетическим полиморфизмом, характеризуется более высокой частотой осложненных и неосложненных гипертензивных кризов, достоверно большим числом госпитализаций, более длинным периодом подбора оптимальной антигипертензивной терапии, более низкой частотой достижения целевого уровня АД и достоверно большим количеством одновременно принимаемых лекарственных средств.

Таблица 1

Различия клинических проявлений и течения гипертензивного синдрома у больных с и без генетического полиморфизма

Показатели	Больные с генетическим полиморфизмом (n=35)	Больные без генетического полиморфизма (n=52)
Частота неосложненных гипертензивных кризов в течение года без обращения в лечебное учреждение с использованием самопомощи	7(20,0 %)	2(3,8 %)*
Частота вызовов бригады скорой помощи в течение года, обусловленных неосложненным гипертензивным кризом	6(17,1 %)	2(3,8 %)*

Окончание таблицы 1

Частота экстренных госпитализаций в течение года, обусловленных осложненным гипертензивным кризом:		
- кровотечения (в т.ч. и носовые)	6(17,1 %)	1(1,9 %)*
- отек легких	1(2,9 %)	—
- инфаркт миокарда	1(2,9 %)	—
- ишемический инсульт/ТИА	2(5,7 %)	—
- нарушения сердечного ритма	5(14,3 %)	—
Средняя длительность периода подбора/титрования терапии до достижения целевых цифр АД, сутки	14,2±0,2	6,6±0,1*
Частота достижения оптимальных цифр АД через год	19(54,3 %)	40(76,9 %)*

Примечание: * — различия между аналогичными показателями в подгруппе А и группе сравнения статистически достоверны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дробот Н.В., Арутюнян Л.В., Пирожено А.А. Роль определения генетического полиморфизма в патогенезе артериальной гипертензии с целью индивидуализации медикаментозной терапии. Consilium Medicum. 2017; 19(5): 26–30.
2. Минушкина Л.О., Асейчева О.Ю., Кочкина М.С., Никитин А.Г., Затеищikov Д.А. Генетический полиморфизм генов цитокинов системы воспаления и состояние сосудистой стенки у больных артериальной гипертензией. Артериальная гипертензия. 2017; 2: 17–19.
3. Хохлов А.Л., Лилеева Е.Г., Рыбачкова Ю.В., Сироткина А.М., Воронина Е.А. Значение определения полиморфизмов генов, отвечающих за активность ангиотензинпревращающего фермента у больных с артериальной гипертензией и хронической сердечной недостаточностью, для оптимизации стандартов лечения больных артериальной гипертензией. Проблемы стандартизации в здравоохранении. 2012; 3–4: 41–44.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЯДЕРНОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ ЛИМФОЦИТАРНОГО ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА FOX P3 С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СТАТУСОМ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

И.В. Кологривова, О.А. Трубачева, М.А. Сиротина

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

Аннотация

Показана роль FoxP3+ Т-регуляторных лимфоцитов (Treg) в развитии воспаления у пациентов с коронарной патологией. Целью данного исследования стало изучение содержания FoxP3+ Treg в циркуляции у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС) в зависимости от наличия сахарного диабета (СД) 2 типа, а также оценка взаимосвязи ядерной транслокации FoxP3 с клинико-метаболическими характеристиками пациентов. В исследование вошли 11 пациентов со стабильной ИБС с наличием и отсутствием СД 2 типа. Материалом исследования служили мононуклеарные лейкоциты периферической крови. Методом проточной цитометрии с визуализацией оценивали содержание FoxP3+ Treg и ядерную транслокацию FoxP3. Мы не выявили статистически значимых различий в отношении содержания FoxP3+ Treg-лимфоцитов у пациентов с ИБС в зависимости от наличия СД. Однако в группе пациентов с неудовлетворительным контролем гликемии при СД (n=6) мы обнаружили положительную корреляционную связь количества Treg с внутриядерной локацией FoxP3 и возрастом пациентов ($R_s=0,882$; $p=0,020$), и отрицательную связь с толщиной эпикардиальной жировой ткани ($R_s=-0,870$; $p=0,024$) и индексом массы тела ($R_s=-0,812$; $p=0,050$). У пациентов без СД (n=5) количество Treg с внутриядерной транслокацией FoxP3 коррелировало с содержанием липопротеинов высокой плотности ($R_s=0,900$; $p=0,037$). Таким образом, закономерности взаимосвязи ядерной транслокации транскрипционного фактора FoxP3 с наиболее значимыми клинико-метаболическими параметрами различаются у пациентов с ИБС в зависимости от наличия СД 2 типа, что может иметь важное патогенетическое значение при развитии хронического субклинического воспаления в данной группе пациентов. Ядерная транслокация FoxP3 может рассматриваться как новый перспективный маркер наличия метаболических нарушений у пациентов со стабильной ИБС.

Ключевые слова: FoxP3+ Т-регуляторные лимфоциты, ишемическая болезнь сердца, ядерная транслокация, сахарный диабет 2 типа.

RELATIONSHIPS BETWEEN NUCLEAR TRANSLOCATION OF LYMPHOCYTE TRANSCRIPTION FACTOR FOXP3 AND METABOLIC STATUS IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

I.V. Kologrivova, O.A. Trubacheva, M.A. Sirotina

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

Abstract

FoxP3+ Tregulatory lymphocytes (Treg) were shown to play the role in development of inflammation in patient with coronary pathology. The aim of the present study was evaluation of FoxP3+ Treg numbers in patients with stable coronary artery disease (CAD) depending on the presence of diabetes mellitus (DM) type 2, and evaluation of the relationships between FoxP3 nuclear translocation and clinical and metabolic characteristics in patients. In total 11 patients with stable CAD with and without DM2 have been recruited in the study. Peripheral blood mononuclear leukocytes of the peripheral blood served as a material of the study. Numbers of FoxP3+ Treg and nuclear translocation of FoxP3 were evaluated by imaging flow cytometry. We did not reveal any significant differences in numbers of FoxP3+ Treg-lymphocytes in CAD patients depending on the presence of DM. However, DM2 patients with insufficient glycemic control we revealed positive correlation between numbers of Tregs with nuclear translocation of FoxP3 and age ($R_s=0.882$; $p=0.020$), and negative correlation with epicardial adipose tissue thickness ($R_s=-0.870$; $p=0.024$) and body mass index ($R_s=-0.812$; $p=0.050$). In patients without DM2 frequency of Treg with nuclear FoxP3 translocation correlated with concentration of low-density lipoproteins ($R_s=0.900$; $p=0.037$). Thus, pattern of relationships between FoxP3 nuclear translocation and major metabolic parameters differs in CAD patients depending on the presence of DM2, which may be of high pathophysiological significance during the development of chronic subclinical inflammation in this group of patients. FoxP3 nuclear translocation may be regarded as a promising new marker of metabolic disturbances in patients with stable CAD.

Key words: FoxP3+ T-regulatory lymphocytes, ischemic heart disease, nuclear translocation, type 2 diabetes mellitus.

Актуальность

Важную роль в развитии хронического субклинического воспаления у пациентов с коронарной патологией играют FoxP3+ T-регуляторные лимфоциты (Treg) [1]. В то же время известно, что наличие сахарного диабета (СД) 2 типа ассоциируется у кардиологических пациентов с усилением хронического субклинического воспаления [2]. Ряд клинко-метаболических факторов, таких как липидный дисбаланс и более выраженное висцеральное ожирение, может оказывать влияние на количество и функциональную активность Treg при СД. Причем зачастую выявляется не изменение абсолютного количества Treg, а экспрессия различных молекул Treg, опосредующих их функциональную активность [3]. Транскрипционный фактор FoxP3 является важным модулятором развития и активности Treg. Причем было показано, что его субклеточная локализация может различаться, и его экспорт в ядро является неотъемлемым атрибутом нормальной активности Treg [4]. В настоящее время данные о взаимосвязи лимфоцитарной ядерной транслокации FoxP3 с клинко-метаболическими показателями при нарушениях углеводного обмена у пациентов с ИБС отсутствуют.

Цель исследования – изучить содержание FoxP3+ Treg в циркуляции у пациентов со стабильной ИБС в зависимости от наличия сахарного диабета (СД) 2 типа и оценить взаимосвязь ядерной транслокации FoxP3 с клинко-метаболическими характеристиками пациентов.

Материал и методы

В исследование вошли 11 пациентов со стабильной ИБС и документированным коронарным атеросклерозом различной выраженности по данным коронароангиографии. При этом 6 пациентов характеризовались наличием сахарного диабета (СД) 2 типа и неудовлетворительным контролем гликемии; у 5 пациентов нарушения углеводного обмена отсутствовали. Оценивали толщину эпикардальной жировой ткани методом эхокардиографии в В-режиме [5]. Мононуклеарные лейкоциты выделяли из гепаринизированной крови путем центрифугирования на градиенте плотности Histopaque 1077 (Sigma-Aldrich, США). Во фракции мононуклеаров оценивали содержание FoxP3+ Treg-лимфоцитов и количество клеток с внутриядерной транслокацией транскрипционного фактора FoxP3 методом проточной цитометрии с визуализацией (AmnisFlowSight, Luminex, США). Также оценивали содержание

CD4+CD25^{lo}FoxP3⁺-лимфоцитов, представляющих собой конвенционные (нерегуляторные) Т-клетки-хелперы на одном из этапов активации (Tconv) [4], и ядерную транслокацию FoxP3 в них. В сыворотке крови оценивали параметры углеводного и липидного обменов. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0.

Результаты

Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Мы не выявили статистически значимых различий в отношении содержания FoxP3⁺ Treg-и FoxP3⁺ Tconv-лимфоцитов у пациентов с ИБС в зависимости от наличия СД (рис. 1).

Однако в группе пациентов с неудовлетворительным контролем гликемии при СД мы обнаружили положительную корреляционную связь количества Treg с внутриядерной локацией FoxP3 и возрастом пациентов ($R_s=0,882$; $p=0,020$) и отрицательную связь с толщиной эпикардиальной жировой ткани ($R_s=-0,870$; $p=0,024$) и индексом массы тела ($R_s=-0,812$; $p=0,050$). У пациентов без СД количество Treg с внутриядерной транслокацией FoxP3 коррелировало с содержанием липопротеинов высокой плотности ($R_s=0,900$; $p=0,037$) (рис. 1). Вероятно, при СД 2-го типа функционирование Treg находится в тесной зависимости от дисфункции висцеральной жировой ткани, в то время как при нормальном метаболическом профиле пациентов активность Treg модулируется антиатерогенной фракцией ХС-ЛВП, что может вносить вклад в развитие осложнений у пациентов с ИБС.

Выводы

Закономерности взаимосвязи ядерной транслокации транскрипционного фактора FoxP3 с наиболее значимыми клинико-метаболическими параметрами различаются у пациентов с ИБС в зависимости от наличия СД 2-го типа, что может иметь важное патогенетическое значение при развитии хронического субклинического воспаления в данной группе пациентов. Ядерная транслокация FoxP3 может рассматриваться как новый перспективный маркер наличия метаболических нарушений у пациентов со стабильной ИБС.

Таблица 1

Клиническая характеристика включенных в исследование пациентов (n=11)

Показатель	Пациенты с ИБС (n=5)	Пациенты с ИБС+СД 2 (n=6)	p
Пол (мужчины/женщины)	3/2	3/3	0,608
Возраст, лет	67,0 (66,5; 68,0)	67,0 (57,0; 69,0)	0,914
Систолическое АД, мм рт. ст.	135,0 (131,0; 144,0)	117,0 (105,0; 149,0)	0,662
Диастолическое АД, мм рт.ст.	77,0 (76,0; 84,0)	65,0 (59,0; 77,0)	0,126
Gensini Score	13,8 (5,0; 23,5)	20,8 (11,0; 44,0)	0,476
Индекс массы тела, кг/м ²	32,0 (25,0; 32,8)	29,5 (26,0; 32,0)	0,930
Окружность талии, см	100,0 (83,5; 110,5)	100,0 (96,0; 113,0)	0,609
Индекс висцерального ожирения	1,47 (0,99; 1,55)	1,93 (1,79; 3,21)	0,250
ОХС, мМ	3,28 (3,18; 3,35)	3,29 (2,69; 4,53)	0,662
ТГ, мМ	1,15 (0,77; 1,47)	1,44 (1,09; 1,95)	0,537
ХС-ЛНП, мМ	1,41 (1,40; 1,75)	1,55 (0,76; 2,83)	0,792
ХС-ЛВП, мМ	1,27 (1,18; 1,51)	1,14 (0,98; 1,35)	0,329
Глюкоза натощак, мМ	5,16 (4,83; 5,25)	6,6 (6,05; 7,3)	0,004
Постприандиальная глюкоза, мМ	6,60 (6,30; 6,90)	11,2 (8,9; 13,6)	0,133
Инсулин натощак, мкМЕ/мл	6,14 (1,85; 13,78)	5,01 (3,92; 7,11)	0,857
Постприандиальный инсулин, мкМЕ/мл	9,14 (7,81; 10,46)	17,32 (8,31; 34,78)	0,533
Индекс НОМА	1,25 (0,40; 3,16)	1,46 (1,20; 1,90)	0,857
HbA1c, %	5,5 (5,4; 5,6)	7,35 (6,35; 8,25)	<0,001

Примечание: АД – артериальное давление; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ОХС – общий холестерин; ТГ – триглицериды; ХС-ЛНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; ХС-ЛВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; НОМА – homeostatic model assessment (индекс резистентности к инсулину).

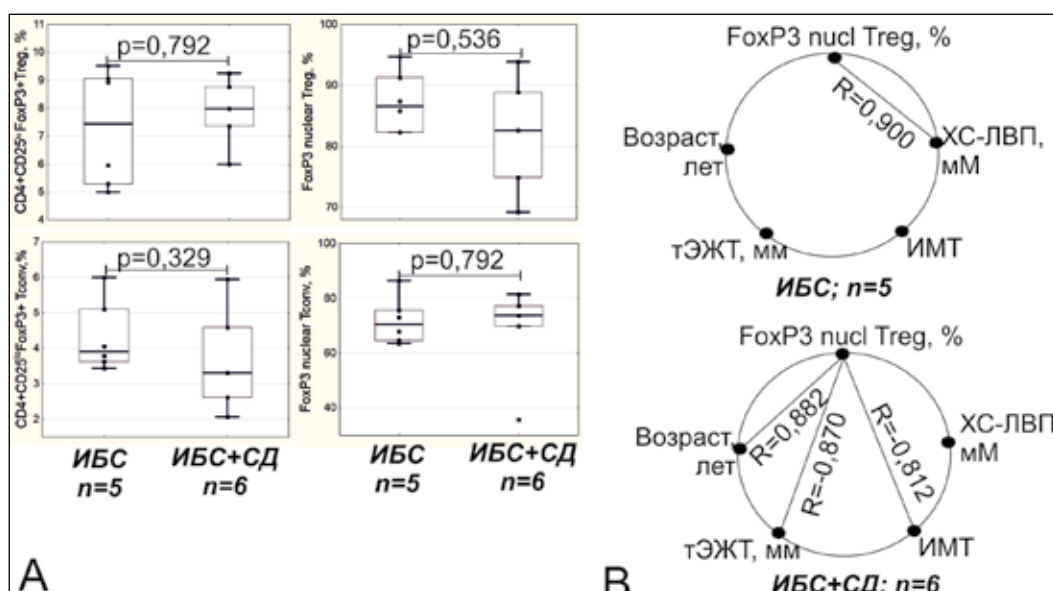


Рис. 1. FoxP3⁺Т-лимфоциты и ядерная транслокация FoxP3 у пациентов с ишемической болезнью сердца. А. Содержание FoxP3⁺ Т-лимфоцитов и ядерная транслокация FoxP3 у пациентов с ИБС в зависимости от наличия сахарного диабета (СД) 2-го типа; В. Различные взаимосвязи между Тreg-лимфоцитами с ядерной транслокацией FoxP3 и клинико-метаболическими характеристиками пациентов в зависимости от наличия СД 2-го типа; Тreg – Т-регуляторные лимфоциты; Tconv – Т-конфенционные лимфоциты; FoxP3 nuclTreg – Т-регуляторные лимфоциты с ядерной транслокацией FoxP3; тЭЖТ – толщина эпикардиальной жировой ткани; ИМТ – индекс массы тела

ЛИТЕРАТУРА

1. Foks A.C., Lichtman A.H., Kuiper J. Treating atherosclerosis with regulatory T cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015 Feb; 35(2): 280–7. doi: 10.1161/ATVBAHA.114.303568.
2. Колодзиева И.В., Суслова Т.Е., Кошельская О.А., Винницкая И.В., Трубочева О.А. Система матричных металлопротеиназ и секреция цитокинов при сахарном диабете 2-го типа и нарушении толерантности к углеводам, ассоциированных с артериальной гипертензией. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2013; 156(11): 578–581.
3. Xia C., Rao X., Zhong J. Role of T Lymphocytes in Type 2 Diabetes and Diabetes-Associated Inflammation. *J Diabetes Res.* 2017; 2017: 6494795. doi: 10.1155/2017/6494795.
4. Magg T., Mannert J., Ellwart J.W., Schmid L., Albert M.H. Subcellular localization of FOXP3 in human regulatory and nonregulatory T cells. *Eur J Immunol.* 2012; 42(6): 1627–1638.
5. Iacobellis G., Assael F., Ribaudo M.C., Zappaterreno A., Alessi G., Di Mario U., Leonetti F. Epicardial fat from echocardiography: a new method for visceral adipose tissue prediction. *Obes Res.* 2003 Feb; 11(2): 304–10. doi: 10.1038/oby.2003.45

ОЦЕНКА РАЗВИТИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ СИСТЕМНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ РАКА ЖЕЛУДКА

Е.В. Кононова, Н.В. Шапутько

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Одну из лидирующих позиций среди злокачественных опухолей по распространенности занимает рак желудка. По данным за 2018 г., в РФ рак желудка находится на шестом месте в структуре онкологической заболеваемости и на втором месте в структуре смертности от злокачественных новообразований у обоих полов [1]. Согласно общим принципам проведения системной химиотерапии (ХТ) сохранным больным в удовлетворительном общем состоянии (статус ECOG=0–1) могут быть назначены трехкомпонентные режимы, такие как FLOT и ECF [2]. По данным мультицентрового исследования, проведение химиотерапии по схеме FLOT до и после оперативного лечения привело к достоверному увеличению общей выживаемости по сравнению с периоперационной химиотерапией ECF [3]. Однако по сравнению с комбинациями производных платины и фторпиримидинов режимы с включением трех химиопрепаратов – доцетаксела, производных платины и фторурацила – ассоциированы с большей

токсичностью, в том числе с кардиотоксичностью [4–6]. Оксалиплатин вызывает эндотелиальную дисфункцию, обладает прокоагулянтным эффектом, предрасполагает к развитию тромбозов и ишемии миокарда. 5-фторурацил – второй после антрациклинов наиболее распространенный химиопрепарат, вызывающий кардиотоксичность [7]. В первую очередь он вызывает эндотелиальную дисфункцию, что приводит к вазоконстрикции и спазму коронарных артерий [8]. В ряде случаев клиническими проявлениями кардиотоксичности 5-ФУ являются стенокардия, инфаркт миокарда, сердечная недостаточность, частота развития которых по разным данным варьирует от 1 до 19 % [9]. Влияние третьего препарата схемы FLOT, доцетаксела, характеризуется развитием нарушений ритма и проводимости сердца: отмечается клинически не значимая синусовая брадикардия – до 30 % случаев. Более редко могут развиваться АВ-блокады, предсердные, реже – жизнеугрожающие желудочковые аритмии [10, 11]. Таким образом, все три компонента FLOT-режима имеют потенциально кардиотоксичное действие. В литературе описаны единичные клинические случаи кардиотоксичности, развившейся на фоне химиотерапии FLOT, однако клинические исследования не проводились.

Ключевые слова: кардиоонкология, кардиотоксичность, рак желудка.

ASSESSMENT OF CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS OF GASTRIC CANCER SYSTEMIC CHEMOTHERAPY

E.V. Kononova, N.V. Shaputko

P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

Gastric cancer is one of the most prevalent malignant diseases. According to the data for 2018 in the Russian Federation, stomach cancer is the sixth leading cause of oncological morbidity and second leading cause of mortality from malignant neoplasms in both sexes [1]. According to the general principles of conducting systemic chemotherapy, patients in a satisfactory general condition (ECOG status = 0–1) can be assigned three-component modes, such as FLOT and ECF [2]. The multicenter study shows that the chemotherapy protocol FLOT before and after surgical treatment led to a significant increase in overall survival compared with perioperative chemotherapy ECF [3]. Compared to combinations of platinum derivatives and fluoropyrimidines, ternary regimes with the inclusion of three chemotherapeutic agents – docetaxel, platinum derivatives and fluorouracil are associated with higher toxicity [4–6]. Oxaliplatin causes endothelial dysfunction, which leads to the procoagulant effect, predisposes to the development of thrombosis and myocardial ischemia. 5-fluorouracil is the second most common chemotherapy drug that causes cardiotoxicity after anthracyclines [7]. First, it causes endothelial dysfunction, which leads to vasoconstriction and coronary spasm [8]. In some cases, the clinical manifestations of 5-FU cardiotoxicity are angina pectoris, myocardial infarction, heart failure; the frequency of development according to various sources varies from one to 19 % [9]. Docetaxel can cause rhythm and cardiac conduction disturbances: up to 30 % of cases are noted as clinically insignificant sinus bradycardia. More rarely can develop AV blockages, atrial, less often life-threatening ventricular arrhythmias [10, 11]. Thus, all three components of the FLOT regime have a potentially cardiotoxic effect. The literature describes isolated clinical cases of cardiotoxicity during FLOT chemotherapy, but no clinical studies have been conducted.

Key words: cardio-oncology, cardiotoxicity, gastric cancer.

Актуальность

Одной из рекомендованных схем химиотерапии при раке желудка и гастроэзофагеального перехода является FLOT. По сравнению с комбинациями производных платины и фторпиримидинов трехкомпонентные режимы (DCF, mDCF, FLOT) с включением доцетаксела, производных платины и 5-фторурацила (5-ФУ) приводят к улучшению общей выживаемости, но ассоциированы с большей токсичностью. Известны единичные клинические случаи кардиотоксичности, развившейся на фоне протокола FLOT, однако исследования динамики ранних маркеров кардиотоксичности, таких как высокочувствительный тропонин I и NT-pro-BNP, не проводились.

Цель исследования – оценка уровня кардиотоксичности системной ХТ по схеме FLOT у больных раком желудка.

Материал и методы

В исследование включено 25 пациентов, проходящих ХТ в режиме FLOT. Согласно протоколу FLOT каждые две недели производилось введение следующих препаратов: доцетак-

сел 50 мг/м² в/в капельно в день 1 + оксалиплатин 85 мг/м² в день 1 + лейковорин 200мг/м² 2-часа в/в инфузия в день 1 + 5-ФУ 2600 мг/м² в/в инфузия 24-часа.

Исследование включает следующие первичные конечные точки:

- повышения уровня биомаркеров плазмы – высокочувствительный тропонин I и NT-ProBNP (иммунохемилюминесцентный анализатор Pathfast);
- изменения фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ, biplan), изменения диастолической функции (по TDI), оценка локальной сократимости миокарда по данным двухмерной эхокардиографии (TerasonECHOUltrasoundssystem);
- развитие нарушений ритма – мерцательной аритмии, изменения интервала QTc по данным суточного мониторингирования ЭКГ (SpyderECGMonitoringSystem) и ЭКГ покоя;
- изменения сердечно-лодыжечного сосудистого (CAVI) и лодыжечно-плечевого индекса (ABI) по данным объемной сфигмографии (VaSeraVS-1500N).

Вторичными конечными точками являются развитие неблагоприятных сердечно-сосудистых событий во время ХТ и в течение 6 мес после ее завершения.

Измерения лабораторных и инструментальных показателей производились за день до и после каждого из курсов ХТ.

Результаты

Представлены данные за период проведения первых четырех курсов FLOT.

Значимых отрицательных изменений в ФВ ЛЖ, нарушений ритма и проводимости, изменений интервала QTc, уровня высокочувствительного тропонина I выявлено не было. Показатели артериальной жесткости возрастали после каждого из курсов химиотерапии на 11,5–16,6 % (табл. 1). Мы наблюдали прогрессирующее достоверное возрастание уровня NT-proBNP в процессе ХТ, не сопровождающееся при этом снижением глобальной и локальной сократимости миокарда, а также появлением или усугублением степени диастолической дисфункции. Медиана значений в период с первого до четвертого курса ХТ возросла с 65,5 до 265,1 пг/мл. При этом между курсами ХТ нормализации уровня NT-proBNP не происходило. За время наблюдения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (острый инфаркт миокарда, инсульт, тромбоэмболия, смерть от сердечно-сосудистых причин) зарегистрировано не было.

Выводы

Проведение ХТ препаратами платины, таксанами и 5-ФУ по схеме FLOT сопровождается субклиническими проявлениями кардиотоксичности в виде повышения уровня NT-proBNP и увеличения артериальной жесткости. Регистрация данных и последующее наблюдение за исходами продолжается.

Таблица 1

Динамика сердечных биомаркеров и CAVI в течение 4 курсов FLOT

Показатель	до 1 курса	после 1 курса	до 2 курса	после 2 курса	до 3 курса	после 3 курса	до 4 курса	после 4 курса
NT-proBNP, пг/мл*	65,5 (56,6;67,1)	49,5 (26,05;85) p=0,035	98,8 (72,8;123) p=0,03	208 (66,15;260,5) p=0,02	120,15 (70,225;174,25) p=0,03	661 (497; 869) p=0,04	264 (154,95; 341,5) p=0,02	265,1 (156,15;374,05) p=0,02
CAVI**	7,35 p=0,047	7,6	7,35 p=0,047	7,55	7,65 p=0,045	8,15	7,1	7,9 p=0,045

Примечание: Данные представлены в виде медианы, 1-й и 3-й квартили. *– сравнение производилось с исходными данными; **– сравнение производилось с данными, полученными до каждого из курсов ХТ. Достоверность оценивалась по критерию Wilkoxson.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Рак желудка, злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М., 2018. 250 с.
2. Al-Batran S.E. Perioperative chemotherapy with fluorouracil plus leucovorin, oxaliplatin and docetaxel versus fluorouracil or capecitabine plus cisplatin and epirubicin for locally advanced, resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4): a randomised, phase 2/3 trial. Lancet. 2019; 393(10184): 1948–1957.
3. Shah M.A., Janjigian Y.Y., Stoller R., Shibata S., Kemeny M., Krishnamurthi S., Su Y.B., Ocean A., Capanu M., Mehrotra B., Ritch P., Henderson C., Kelsen D.P. Randomized Multicenter Phase II Study of Modified Docetaxel, Cisplatin, and Fluorouracil (DCF) Versus DCF Plus Growth Factor Support in Patients With Metastatic Gastric Adenocarcinoma: A Study of the US Gastric Cancer Consortium. J Clin Oncol. 2015 Nov 20; 33(33): 3874–9. doi: 10.1200/JCO.2015.60.7465.
4. Van Cutsem E., Boni C., Tabernero J., Massuti B., Middleton G., Dane F., Reichardt P., Pimentel F.L., Cohn A., Follana P., Clemens M., Zaniboni A., Moiseyenko V., Harrison M., Richards D.A., Prenen H., Pernot S., Ecstein-Fraisse E., Hitier S., Rougier P. Docetaxel plus oxaliplatin with or without fluorouracil or capecitabine in metastatic or locally recurrent gastric cancer: a randomized phase II study. Ann Oncol. 2015 Jan; 26(1): 149–56. doi: 10.1093/annonc/mdl496.

5. Ajani J.A., Moiseyenko V.M., Tjulandin S., Majlis A., Constenla M., Boni C., Rodrigues A., Fodor M., Chao Y., Voznyi E., Marabotti C., Van Cutsem E.; V-325 Study Group. Clinical benefit with docetaxel plus fluorouracil and cisplatin compared with cisplatin and fluorouracil in a phase III trial of advanced gastric or gastroesophageal cancer adenocarcinoma: the V-325 Study Group. *J Clin Oncol*. 2007 Aug 1; 25(22): 32059. doi: 10.1200/JCO.2006.10.4968.
6. Saif W., Banchs J., Kohne C. Fluoropyrimidine-associated cardiotoxicity: Incidence, clinical manifestations, mechanisms, and management. *Med Chem*. 2006; 4:1–5.
7. Alter P., Herzum M., Soufi M., Schaefer J.R., Maisch B. Cardiotoxicity of 5-fluorouracil. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2006 Jan; 4(1): 1–5. doi: 10.2174/187152506775268785.
8. Albin A., Pennesi G., Donatelli F., Cammarota R., De Flora S., Noonan D.M. Cardiotoxicity of anticancer drugs: the need for cardio-oncology and cardio-oncological prevention. *J Natl Cancer Inst*. 2010 Jan 6; 102(1): 14–25. doi: 10.1093/jnci/djp440.
9. Madeddu C., Deidda M., Piras A., Cadeddu C., Demurtas L., Puzzoni M., Piscopo G., Scartozzi M., Mercurio G. Pathophysiology of cardiotoxicity induced by nonanthracycline chemotherapy. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2016 May; 17 Suppl 1 Special issue on Cardiotoxicity from Antitubercular Drugs and Cardioprotection:e12e18. doi: 10.2459/JCM.0000000000000376.
- 10 Van der Hooft C.S., Heeringa J., Van Herpen G., Kors J.A., Kingma J.H., Stricker B.H. Drug-induced atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Dec 7; 44(11): 2117–24. doi: 10.1016/j.jacc.2004.08.053.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК СОСТАВНОГО КАРКАСНОГО КСЕНОПЕРИКАРДИАЛЬНОГО БИОПРОТЕЗА В АОРТАЛЬНОЙ ПОЗИЦИИ ДО И ПОСЛЕ МОДИФИКАЦИИ

Е.А. Косовских

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

Аннотация

Цель – сравнить гемодинамические показатели модифицированного и немодифицированного биологического протеза клапана сердца «Мединж-БИО» производства ЗАО НПП «МедИнж», г. Пенза, Россия в аортальной позиции.

Материал и методы. Проведен сравнительный анализ результатов хирургического лечения 115 пациентов с дегенеративными пороками аортального клапана, которым в период с октября 2016 г. по январь 2020 г. в клиниках ФГНБУ НИИ кардиологии Томского НИМЦ СО РАН (г. Томск) выполнена имплантация биологического клапана «Мединж-БИО» в аортальную позицию. В период с октября 2016 г. по декабрь 2018 г. немодифицированный протез «МедИнж-БИО» был имплантирован 80 пациентам. С января 2019 г. по январь 2020 г. протез «МедИнж-БИО» в аортальную позицию установлен 35 пациентам. Группы сравнения были сопоставимы по полу, возрасту, патологии и сопутствующим вмешательствам. Всем пациентам проводилась эхокардиографическая оценка гемодинамических показателей аортального клапана до операции и через 10 дней после имплантации биопротеза. В группе немодифицированных протезов пиковый градиент до операции был повышен до $85,8 \pm 29,6$ мм рт.ст., средний – до $50,1 \pm 18,7$ мм рт.ст., эффективная площадь открытия клапана, индексированная к площади поверхности тела (иЭПО), до операции составила $0,38 \pm 0,2$ см²/м². В группе с модифицированными протезами пиковый градиент до операции был повышен до $77,1 \pm 23,3$ мм рт.ст., средний до $44,0 \pm 15,3$ мм рт.ст., эффективная площадь открытия клапана, индексированная к площади поверхности тела (иЭПО), до операции составила $0,39 \pm 0,1$ см²/м².

Результаты. После операции пиковый градиент снизился до $42,9 \pm 13,2$ мм рт.ст. и $35,1 \pm 10,0$ мм рт.ст. в первой и второй группе соответственно ($p=0,001$). Средний градиент составил $22,6 \pm 7,9$ мм рт.ст. в группе до модификации и $17,4 \pm 5,3$ мм рт.ст. в группе после модификации ($p=0,001$).

Выводы. В аортальной позиции модифицированные составные каркасные ксеноперикардальные биопротезы «Мединж-БИО» лучше корректируют гемодинамику левых отделов сердца.

Ключевые слова: биопротез, аортальный клапан, протезирование аортального клапана, ксеноперикардальный протез, дегенеративный стеноз аортального клапана.

COMPARATIVE ANALYSIS OF HEMODYNAMIC CHARACTERISTICS OF A COMPOSITE XENOPARICARDIAL BIOPROSTHESIS IN THE AORTIC POSITION BEFORE AND AFTER MODIFICATION

E.A. Kosovskikh

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

Abstract

The aim of the study was to compare hemodynamic parameters of the modified and unmodified biological heart valve prosthesis «Meding-BIO» produced by NPP MedInzh, Penza, Russia in the aortic position. **Methods.** A comparative analysis of the results of surgical treatment of 115 patients with degenerative defects of the aortic valve, who from October 2016 to January 2020 who performed the implantation of the biological valve «Meding-BIO» into the aortic valve position. In the period from October 2016 to December 2018, an unmodified MedInzh-BIO prosthesis was implanted in 80 patients. From January 2019 to January 2020, the MedInzh-BIO prosthesis was installed in the aortic position for 35 patients. Comparison groups were comparable by gender, age, pathology, and concomitant interventions. All patients underwent echocardiographic evaluation of the hemodynamic parameters of the aortic valve before surgery and 10 days after implantation of the bioprosthesis. In the group of unmodified prostheses, the peak gradient before surgery was increased to 85.8 ± 29.6 mm Hg, average to 50.1 ± 18.7 mm Hg, effective valve opening area indexed to body surface area (IEPO) before surgery was 0.38 ± 0.2 cm²/m². In the group with modified prostheses, the peak gradient before surgery was increased to 77.1 ± 23.3 mm Hg, average to 44.0 ± 15.3 mm Hg, effective valve opening area indexed to body surface area (IEPO) before surgery was 0.39 ± 0.1 cm²/m². **Results.** After the operation, the peak gradient decreased to 42.9 ± 13.2 mm Hg. and 35.1 ± 10.0 mmHg. Art., in the first and second group, respectively ($p=0.001$). The average gradient was 22.6 ± 7.9 mm Hg. in the group before modification and 17.4 ± 5.3 mm RT. Art. in the group after modification ($p=0.001$). **Conclusions.** In the aortic position, the modified composite frame xenopericardial bioprostheses of the «Medium-BIO» better correct the hemodynamics of the left heart.

Key words: bioprosthesis, aortic valve, aortic valve prosthetics, xenopericardial prosthesis, degenerative stenosis of the aortic valve.

Актуальность

Дегенеративный аортальный стеноз – наиболее распространенный приобретенный порок сердца. Частота его встречаемости в популяции колеблется от 3 до 7 %, по данным разных авторов [1,2]. Количество ревматических поражений аортального клапана в развитых странах в последнее время значительно снизилось. Однако это не привело к уменьшению числа пациентов, требующих коррекции порока аортального клапана [3]. При этом доля распространенности дегенеративного порока аортального клапана увеличивается в старшей возрастной группе. В настоящее время в старшей возрастной группе предпочтение должно отдаваться биопротезам. Общая смертность с биопротезами аортального клапана у пациентов в возрасте старше 55 лет не отличается от смертности пациентов с механическими протезами аортального клапана [4]. С учетом увеличения продолжительности жизни населения, улучшения медицинских технологий все больше операций проводят пациентам старше 65 лет, что ведет к потребности в большем числе биопротезов.

Золотым стандартом лечения аортальных стенозов является протезирование клапана. Основными направлениями в создании протезов является стремление максимально приблизить их по гемодинамическим показателям к нативному клапану, снизить риски дегенерации и уменьшить периоперационные риски при повторных вмешательствах. Разработанный ЗАО НПП «МедИнж» биологический протез «МедИнж-БИО» с системой «easy change» имеет все преимущества биопротезов.

Цель – сравнить гемодинамические показатели модифицированного и немодифицированного биологического протеза клапана сердца «МедИнж-БИО» производства ЗАО НПП «МедИнж», г. Пенза, Россия в аортальной позиции.

Материал и методы

Проведен сравнительный анализ результатов хирургического лечения 115 пациентов с дегенеративными пороками аортального клапана, которым в период с октября 2016 г. по

январь 2020 г. в клиниках ФГНБУ НИИ кардиологии Томского НИМЦ СО РАН (г. Томск) выполнена имплантация биологического клапана «Мединж-БИО» в аортальную позицию.

С января 2019 г. биологический протез «МедИнж-БИО» поставляется в модифицированной версии. В период с октября 2016 г. по декабрь 2018 г. немодифицированный протез «МедИнж-БИО» был имплантирован 80 пациентам. С января 2019 г. по январь 2020 г. в аортальную позицию установлен 35 пациентам. Группы сравнения были сопоставимы по полу, возрасту, патологии и сопутствующим вмешательствам. Всем пациентам проводилась эхокардиографическая оценка гемодинамических показателей аортального клапана до операции и через 10 дней после имплантации биопротеза. В группе немодифицированных протезов пиковый градиент до операции был повышен до $85,8 \pm 29,6$ мм рт.ст., средний – до $50,1 \pm 18,7$ мм рт.ст., эффективная площадь открытия клапана, индексированная к площади поверхности тела (иЭПО), до операции составила $0,38 \pm 0,2$ см²/м². В группе с модифицированными протезами пиковый градиент до операции был повышен до $77,1 \pm 23,3$ мм рт.ст., средний – до $44,0 \pm 15,3$ мм рт.ст., эффективная площадь открытия клапана, индексированная к площади поверхности тела (иЭПО), до операции составила $0,39 \pm 0,1$ см²/м². Подробная характеристика представлена в табл. 1.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы STATISTICA 10.0 for Windows. Нормальность закона распределения количественных показателей проверена с помощью критерия Shapiro-Wilks. В случае нормального закона распределения для проверки статистической значимости различий количественных показателей в сравниваемых группах использовался t-критерий Стьюдента для зависимых групп; критерий Вилкоксона – в случае отсутствия нормального закона распределения и для ранговых показателей. Для проверки статистической разницы по показателям, не поддающимся нормальному закону распределения между группами, использовался критерий Манна-Уитни и t-критерий Стьюдента для независимых групп (при равенстве дисперсий).

Результаты

После операции пиковый градиент снизился до $42,9 \pm 13,2$ мм рт.ст. и $35,1 \pm 10,0$ мм рт.ст. в первой и второй группе соответственно ($p=0,001$). Средний градиент составил $22,6 \pm 7,9$ мм рт.ст. в группе до модификации и $17,4 \pm 5,3$ мм рт.ст. в группе после модификации ($p=0,001$), иЭПО в группе с протезами без модификации составила $0,49 \pm 0,3$ см²/м², в группе с модифицированным протезом – $0,63 \pm 0,1$ см²/м² ($p=0,01$). Подробная гемодинамическая характеристика представлена в табл. 2.

Выводы

В аортальной позиции модифицированные составные ксеноперикардальные биопротезы «Мединж-БИО» в сравнении с протезом «Мединж-БИО» до модификации лучше корригируют гемодинамику левых отделов сердца. Для формулирования окончательных и статистически значимых выводов об эффективности и целесообразности использования данной хирургической технологии необходимо увеличение объема и периода наблюдений.

Таблица 1

Характеристика пациентов до операции

Характеристика	Группа 1 (до модификации)	Группа 2 (после модификации)	P
Пол (мужчины/женщины)	35:46	16:18	0,6
Средний возраст, лет	$70,35 \pm 4,6$	$69,8 \pm 3,5$	0,8
Средняя площадь поверхности тела, м ²	$1,84 \pm 0,2$	$1,81 \pm 0,2$	0,6
Функциональный класс сердечной недостаточности по NYHA	3 (2;3)	3 (2;3)	0,9
Сочетанные вмешательства			
Коронарное шунтирование, n	27	14	
Протезирование восходящей аорты, n	7	2	
Вмешательства на митральном клапане, n	2	2	
Расширение корня аорты, n	5	2	
Эффективная площадь отверстия аортального клапана, см ²	$0,7 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,2$	0,85
Индексированная площадь отверстия аортального клапана, см ² /м ²	$0,38 \pm 0,2$	$0,39 \pm 0,1$	0,43
Пиковый градиент, мм рт.ст.	$85,8 \pm 29,6$	$77,1 \pm 23,3$	0,1
Средний градиент, мм рт.ст.	$50,1 \pm 18,7$	$44,1 \pm 15,3$	0,08

Таблица 2

Гемодинамические показатели клапана после имплантации

Характеристика	Группа 1 (до модификации)	Группа 2 (после модификации)	p
Пиковый градиент, мм рт. ст.	42,9±13,2	35,1±10,0	0,002
Средний градиент, мм рт. ст.	22,6±7,9	17,4±5,3	0,001
ЭПО, см ²	1,2±0,5	1,2±0,3	0,86
иЭПО, см ² /м ²	0,49±0,3	0,66±0,1	0,01

ЛИТЕРАТУРА

1. Хубулава Г.Г., Гуляев Н.И., Кравчук В.Н., Любимов А.И., Волков А.М., Сизенко В.В., Абдулаев З.М. Место дегенеративного стеноза клапана аорты в структуре приобретённых пороков. Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. 2018; 60(1): 28–35. doi: 10.24022/0236–2791–2018–60–1–28–35.
2. Карпова Н.Ю., Рашид М.А., Казакова Т.В., Шостак Н.А. Аортальный стеноз. Русский медицинский журнал. 2014; 22(2): 162–5.
3. Boudoulas K.D., Ravi Y., Garcia D., Saini U., Sofowora G.G., Gumina R.J., Sai-Sudhakar C.B. Type of valvular heart disease requiring surgery in the 21st century: mortality and length-of-stay related to surgery. Open Cardiovasc Med J. 2013 Sep 4; 7: 104–9. doi: 10.2174/1874192420130902001.
4. Goldstone A.B., Chiu P., Baiocchi M., Lingala B., Patrick W.L., Fischbein M.P., Woo Y.J. Mechanical or biologic prostheses for aortic-valve and mitral-valve replacement. N Engl J Med. 2017 Nov 9; 377(19): 1847–1857. doi: 10.1056/NEJMoa1613792.

ВЛИЯНИЕ ПРЕДОПЕРАЦИОННЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК НА НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Д.С. Куприянова, Е.Г. Моськин

ФГБНУ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово, Россия

Аннотация

Введение. Профилактика послеоперационной когнитивной дисфункции (ПОКД) является важной задачей в периоперационном сопровождении пациентов, перенесших кардиохирургическое вмешательство. **Целью работы** стало изучение влияния предоперационных физических тренировок на нейрофизиологические показатели пациентов после коронарного шунтирования (КШ). **Материал и методы.** В исследовании участвовали 49 пациентов-мужчин, отобранных на проведение КШ, в возрасте от 45 до 75 лет. Все пациенты были разделены на две группы: основная группа (n=22) в предоперационном периоде проходила короткий курс аэробных физических тренировок. Группа контроля (n=27) получала стандартную предоперационную подготовку. До операции и на 7–10-й день после КШ пациенты прошли нейропсихологическое и электроэнцефалографическое (ЭЭГ) исследование. Программа Statistica 10.0 была использована для всех типов статистического анализа данных. **Результаты.** На 7–10-й день после КШ у пациентов, не прошедших предоперационные физические тренировки, были более выражены признаки корковой дисфункции в виде увеличения мощности биопотенциалов тета (4–6 Гц) и бета1 (13–20 Гц) ритмов. У пациентов, прошедших курс тренировок, были лучше показатели исполнительных функций, внимания и кратковременной памяти по сравнению с пациентами без тренировок. У 74 % пациентов, не прошедших тренировки, развилась ПОКД, тогда как в группе с тренировками – только у 44 % пациентов. Относительный риск развития ПОКД в группе пациентов с предоперационной физической подготовкой составил: OR=0,24, 95 % CI: 0,07–0,81, Z=2,297, p=0,02. **Заключение.** Пациенты, прошедшие предоперационные физические тренировки, продемонстрировали лучшие результаты нейропсихологических тестов и меньшую выраженность корковой дисфункции по данным ЭЭГ, чем пациенты группы сравнения. Физические тренировки перед операцией позволяют снизить частоту развития и выраженность послеоперационных когнитивных расстройств у кардиохирургических пациентов.

Ключевые слова: коронарное шунтирование, когнитивные расстройства, электроэнцефалография, послеоперационная когнитивная дисфункция, реабилитация, аэробные тренировки.

THE EFFECT OF PREOPERATIVE PHYSICAL TRAINING ON THE NEUROPHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF PATIENTS AFTER CORONARY BYPASS SURGERY

D.S. Kupriyanova, E.G. Moskin

Federal State Budgetary Institution «Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases», Kemerovo, Russia

Abstract

Background and aim: the prevention of postoperative cognitive dysfunction (POCD) in patients after cardiac surgery is especially relevant nowadays. The aim of this study was to evaluate the effect of preoperative physical training on the neurophysiological parameters in patients after coronary artery bypass grafting (CABG). **Materials and Methods.** The study included 49 male patients elected for CABG, aged 45 to 75 years. All the patients were divided into two groups: the main group (n=22) underwent a short course of aerobic physical training in the preoperative period. The control group (n=27) received standard preoperative preparation. Neuropsychological and electroencephalographic (EEG) studies were performed before surgery and at the 7–10 days after CABG. The Statistica 10.0 was used for all types of statistical data analysis. **Results.** It was found that the patients without preoperative physical training showed more pronounced EEG signs of cortical dysfunction as a form of theta (4–6 Hz) and beta1 (13–20 Hz) power increase at the 7–10 days after CABG. The patients with physical training had better indicators of executive function, attention and short-term memory compared to patients without training. The POCD developed in patients without training in 74 % of cases, while in the training group only in 44 % of cases. The relative risk of POCD developing in the group of patients with preoperative physical training was: OR = 0.24, 95 % CI: 0.07–0.81, Z=2.297, p=0.02. **Conclusion.** The group of patients with preoperative physical training showed better results of neuropsychological tests and a lower severity of cortical dysfunction according to EEG data compared with the control group. Thus, physical training before surgery can reduce the incidence and severity of POCD in cardiac patients.

Key words: coronary artery bypass grafting, cognitive disorders, electroencephalography, postoperative cognitive dysfunction, rehabilitation, aerobic training.

Актуальность

В настоящее время доказано, что кардиохирургические вмешательства сопровождаются высоким риском развития послеоперационных когнитивных расстройств [1,2]. Подготовка пациентов к кардиохирургическому вмешательству с помощью физических аэробных тренировок может иметь важное значение для разработки персонализированного подхода к восстановлению нарушенных когнитивных функций у данной категории пациентов. В литературе имеются данные о положительном влиянии аэробных тренировок на состояние нейрофизиологических процессов у лиц среднего и пожилого возраста [3]. В последние годы для восстановления нарушенного когнитивного статуса у пожилых людей, а также пациентов с инсультами и черепно-мозговыми травмами все чаще применяются комплексные программы [4,5]. Ранее также показано, что физические аэробные упражнения могут способствовать снижению послеоперационного когнитивного дефицита [6].

Цель исследования – изучение влияния предоперационных физических тренировок на нейрофизиологические показатели после коронарного шунтирования (КШ).

Материал и методы

В исследовании приняли участие 49 пациентов, готовящихся к плановой операции КШ, давших письменное информированное согласие на участие в нем. Критерии включения были: возраст от 45 до 75 лет, мужской пол. Исключались пациенты старше 75 лет, имевшие опасные для жизни нарушения ритма, хроническую сердечную недостаточность III, IV функционального класса, тяжелые сопутствующие заболевания. Основную группу составили 22 пациента мужского пола, медиана возраста – 58,5 [54,5; 63,0] года, которым при предоперационной подготовке назначали короткий (5–7 дней) курс аэробных физических тренировок. В группу контроля вошли 27 пациентов (59,0 [54,5; 62,0] лет), получившие стандартную подготовку к операции. Пациенты двух групп были сопоставимы по клинико-анамнестическим и периоперационным характеристикам. Перед операцией и на 7–10-й день после КШ все пациенты прошли нейропсихологическое и ЭЭГ исследование. Предоперационные нейропсихологические и ЭЭГ показатели не различались между группами. После

КШ был проведен индивидуальный анализ изменений нейропсихологических показателей по формуле: $((\text{начальное значение} - \text{значение послеоперационного показателя}) / \text{начальное значение}) \times 100 \%$. Наличие ПОКД было диагностировано при ухудшении послеоперационных параметров на 20 % по сравнению с предоперационными в 20 % тестов всей тестовой батареи. Статистический пакет программ Statistica 10.0 был использован для всех типов статистического анализа полученных переменных, также анализировалась частота случаев ПОКД с расчетом относительного риска (OddRatio).

Результаты

Обнаружено, что на 7–10-й день после операции у всех больных, прошедших и не прошедших предоперационные физические тренировки, отмечались ЭЭГ-признаки корковой дисфункции в виде увеличения мощности биопотенциалов тета (4–6 Гц) и бета1 (13–20 Гц) ритмов (рис. 1), а также отрицательная динамика показателей нейропсихологических тестов.

Тем не менее, основная группа продемонстрировала меньший процент послеоперационного увеличения по сравнению с предоперационными показателями тета и бета1 активности (табл. 1).

Показатели когнитивных функций также были лучше в основной группе: меньше ошибок в тестах исполнительных функций, больше обработанных букв при выполнении теста Бурдона, а также запоминание большого количества цифр в тесте кратковременной памяти по сравнению с пациентами без тренировок (табл. 2). Кроме того, у пациентов без тренировок в 74 % случаев развилась ПОКД, тогда как в основной группе – только у 44 % пациентов. Относительный риск развития ПОКД в группе пациентов с предоперационной физической подготовкой составил: OR = 0,24, 95 % CI: 0,07–0,81, Z = 2,297, p = 0,02.

Выводы

Результаты настоящего исследования показывают, что у всех пациентов, подвергшихся КШ, в раннем послеоперационном периоде наблюдается ухудшение нейрофизиологических показателей. Однако пациенты, которые прошли предоперационный курс физических тренировок, продемонстрировали лучшее восстановление показателей нейропсихологических тестов и меньшую выраженность корковой дисфункции по данным ЭЭГ по сравнению с пациентами без аэробных нагрузок. Таким образом, физический компонент при предоперационной подготовке пациентов позволяет снизить частоту развития и выраженность послеоперационных когнитивных расстройств у пациентов после КШ в условиях искусственного кровообращения.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Администрации Кемеровской области в рамках научного проекта № 20–415–420005 p_a.

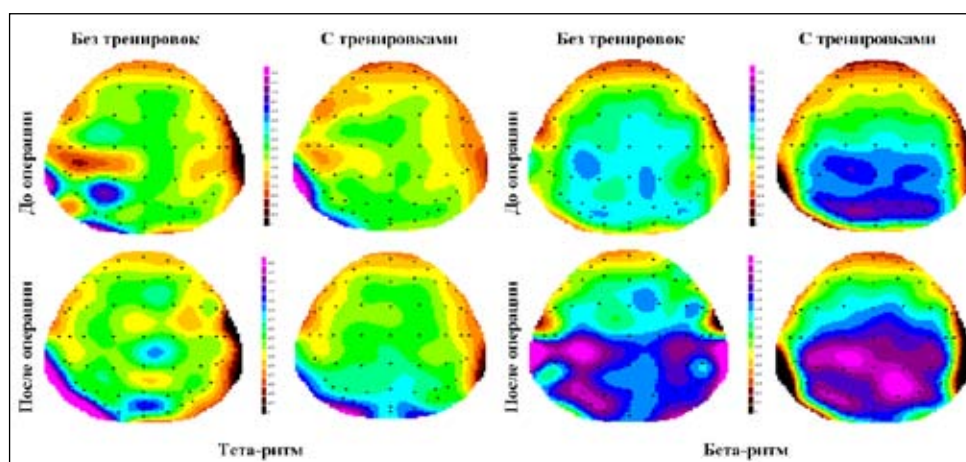


Рис. 1. Спектрограммы ЭЭГ ритмов в госпитальном периоде коронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения

Таблица 1

Процент прироста мощности биопотенциалов ЭЭГ в послеоперационном периоде (7–10-е сутки) коронарного шунтирования у пациентов с наличием или отсутствием предоперационных физических тренировок

ЭЭГ ритм (% прироста на 7–10-е сутки после операции по сравнению с дооперационным уровнем)	Физические тренировки, n=22	Без тренировок, n=22	p-value
Тета 1 (4–6 Гц)	-39.3	-63.1	0.1
Бета 1 (13–20 Гц)	-26.3	-66.9	0.05

Таблица 2

Показатели когнитивных функций у пациентов с наличием или отсутствием предоперационных физических тренировок

Когнитивные тесты	Физические тренировки, n=22		Без тренировок, n=27		p-value ²⁻⁴
	До операции (1)	7–10-е сутки после операции (2)	До операции (3)	7–10-е сутки после операции (4)	
Сложная зрительно-моторная реакция: Количество ошибок, n	0.95±0.89	0.83±0.78	2.96±3.48	2.00±1.23	0.002
Корректирующая проба Бурдона, Количество обработанных символов, n на 1-й минуте	83.1±25.45	102.0±33.5	72.58±24.1	78.8±26.4	0.03
Тест «запоминания 10 чисел», n	5.5±1.89	5.0±1.66	4.5±1.6	4.1±1.43	0.045

ЛИТЕРАТУРА

1. Тарасова И.В., Трубникова О.А., Кухарева И.Н., Барбараиш О.Л., Барбараиш Л.С. Годовая динамика нейрофизиологических показателей у пациентов, перенесших коронарное шунтирование с искусственным кровообращением. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2015; (1): 18–24. doi: 10.17802/2306-1278-2015-1-18-24.
2. Yuan S.M., Lin H. Postoperative cognitive dysfunction after coronary artery bypass grafting. Braz J Cardiovasc Surg. 2019 Jan-Feb; 34(1): 76–84. doi: 10.21470/1678-9741-2018-0165.
3. Hotting K., Schauenburg G., Röder B. Long-term effects of physical exercise on verbal learning and memory in middle-aged adults: results of a one-year follow-up study. Brain Sci. 2012; 2: 332–346. doi: 10.3390/brainsci2030332.
4. Lussier M., Brouillard P., Bherer L. Limited benefits of heterogeneous dual-task training on transfer effects in older adults. J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci. 2017; 72(5): 801–812. doi: 10.1093/geronb/gbv105.
5. Teuschl Y., Ihle-Hansen H., Matz K., Dachenhausen A., Ratajczak P., Tuomilehto J., Ursin M.H., Hagberg G., Thommessen B., Oksengard A.R., Brainin M. Multidomain intervention for the prevention of cognitive decline after stroke – a pooled patient-level data analysis. Eur J Neurol. 2018; 25(9): 1182–1188. doi: 10.1111/ene.13684.
6. Аргунова Ю.А., Трубникова О.А., Помешкина С.А., Казан Е.С., Барбараиш О.Л. Эффективность велотренировок в реабилитации пациентов с послеоперационной когнитивной дисфункцией после коронарного шунтирования. Cardio. Соматика. 2017; 8(1): 11.

РОЛЬ АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ ПРИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ СЕРДЦА

Б.К. Курбатов, А.П. Никифоров

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

Аннотация

Синдром такотсубо – заболевание, сопровождаемое ремоделированием левого желудочка сердца по дилатационному типу, сократительной дисфункцией, умеренным повышением маркеров некроза миокарда, нарушением микроциркуляторного русла. Причиной развития данного заболевания часто

является сильный эмоциональный или физический стресс. Лекарственная терапия данного синдрома остается малоэффективной, а смертность сопоставима с летальностью при остром инфаркте миокарда. На данный момент этиология и патогенез данного заболевания остаются малоизученными. Так, одной из главенствующих гипотез развития синдрома такотсубо является кардиотоксичное действие катехоламинов. На данный момент нет ясности в вопросе, какие адренорецепторы участвуют в реализации стресс-индуцированного повреждения сердца. Таким образом, целью данной работы являлось изучение роли активации адренорецепторов в реализации стресс-индуцированного повреждения сердца. Исследование было проведено на 144 самках крыс линии вистар. Для моделирования стресса использовали 24-часовую иммобилизацию. Количественную оценку проводили по аккумуляции радиофармпрепарата ^{99m}Tc -пирофосфата (^{99m}Tc -ПФ). В ходе исследования было установлено, что истощение запасов эндогенных катехоламинов способствует повышению толерантности сердца к действию иммобилизации животных. α_1 -адренорецепторы не играют существенной роли в патогенезе СИПС. Установлено, что блокада α_2 -адренорецепторов способствует усилению СИПС. Показано, что активация β_1 -адренорецепторов играет важную роль в СИПС. Блокада β_2 -адренорецепторов способствует усилению СИПС. β_3 -адренорецепторы не играют существенной роли в СИПС. Следовательно, симпатoadrenalовая система, в частности β_1 -адренорецепторы, играет существенную роль в реализации повреждающего действия стресса на сердце.

Ключевые слова: синдром такотсубо; адренорецепторы; иммобилизационный стресс; стресс-индуцированное повреждение сердца.

ROLE OF ADRENERGIC RECEPTORS IN STRESS-INDUCED HEART INJURY

B.K. Kurbatov, A.P. Nikiforov

CardiologyResearchInstitute, TomskNationalResearchMedicalCenter,
RussianAcademyofSciences, Tomsk, Russia

Abstract

Takotsubo syndrome is a disease accompanied by remodeling of the left ventricle of the heart according to the dilatation type, contractile dysfunction, a moderate increase in markers of myocardial necrosis, and a violation of the microvasculature. The development of this disease is often a case of severe emotional or physical stress. Drug therapy of this syndrome remains ineffective, and mortality comparable with acute myocardial infarction. Now, the etiology and pathogenesis of this disease remain poorly understood. The one of the dominant hypotheses for the development of takotsubo syndrome is the cardiotoxic effect of catecholamines. Now, it is not clear which adrenergic receptors are involved in the implementation of stress-induced heart damage. Thus, the goal of this work was to study the role of activation of adrenergic receptors in the implementation of stress-induced heart damage. The study was conducted on 144 female Wistar rats. To simulate stress, 24-hour immobilization was used. Quantitative assessment was carried out by accumulation of a radiopharmaceutical ^{99m}Tc -pyrophosphate (^{99m}Tc -PF). The study found that depletion of endogenous catecholamines contributes to an increase in the tolerance of the heart to the effect of immobilization. α_1 -adrenergic receptors do not play a significant role in the pathogenesis of stress-induced heart injury (SIHI). It was found that blockade of α_2 -adrenergic receptors increased stress-induced heart injury (SIHI). It was shown that activation of β_1 -adrenergic receptors plays an important role in SIHI. Blockade of β_2 -adrenergic receptors contribute to the strengthening of SIHI. β_3 -adrenergic receptors do not play a significant role in SIHI. Therefore, the sympathoadrenal system, and β_1 -adrenergic receptors, play a significant role in the implementation of the damaging effects of stress on the heart.

Key words: takotsubo syndrome; adrenoceptors; immobilization stress; stress-induced heart injury.

Актуальность

Н. Sato и соавт. описали стресс-индуцированное повреждение миокарда у человека как кардиомиопатию [1]. Позднее было показано, что для данного синдрома характерны не только ремоделирование миокарда по дилатационному типу, но и сократительная дисфункция, умеренное повышение содержания в крови маркеров некроза миокарда, подъем или депрессия сегмента ST, инверсия зубца T, удлинение интервала QTc [2,3] и нарушения микроциркуляторного русла, которые связывают с действием катехоламинов [4]. Важно отметить, что у пациентов с СТ не выявляется значимая обструкция коронарных сосудов, вызванная атеросклерозом [4]. Лекарственная терапия синдрома такотсубо остается малоэффективной,

а смертность при этом заболевании сопоставима с летальностью при остром инфаркте миокарда [5]. Наиболее частой причиной СТ является физический или эмоциональный стресс, поэтому заболевание часто называют стрессорной кардиомиопатией [6–8]. В экспериментальных исследованиях получены отдельные данные, позволяющие предполагать участие катехоламинов в развитии стрессорного повреждения сердца. Так, обнаружено, что антагонисты β -адренорецепторов предупреждают возникновение сократительной дисфункции миокарда, вызванной иммобилизационным стрессом или введением высоких доз адреналина [9,10]. Вместе с тем, в некоторых клинических исследованиях не удалось выявить разницы по 30-дневной смертности между группами пациентов с СТ, получавшими и не получавшими β -блокаторы [11]. Не удалось обнаружить достоверной разницы между пациентами с СТ, получавшими антагонисты β_1 -АР (атенолол, метопролол) и не получавшими β -блокаторы, по уровню маркеров некроза миокарда, фракции выброса левого желудочка, конечному диастолическому давлению в левом желудочке [12]. Таким образом, предположение об участии катехоламинов и адренорецепторов в формировании повреждения миокарда при стрессе нуждается в дополнительном фактическом обосновании.

Цель исследования – изучить роль активации адренорецепторов в реализации стресс-индуцированного повреждения сердца.

Материал и методы

Исследование было одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ. Исследование проводилось в соответствии с 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Исследование проводили на 144 крысах-самках линии Вистар. В качестве контроля были использованы интактные особи, содержащиеся в стандартных условиях вивария. За 16 часов до иммобилизации крыс опытной и контрольной групп лишили доступа к пище. Моделирование стресса осуществлялось с помощью иммобилизации животных на спине в течение 24 ч. Крысы были зафиксированы пластиковыми стандартными хомутами АО «ДКС» (Тверь, Россия) за верхние и нижние конечности, что ограничило их движение. Количественную оценку стрессорного повреждения сердца осуществляли по аккумуляции радиофармпрепарата ^{99m}Tc -пирофосфата (^{99m}Tc -ПФ) в миокарде по методу, предложенному D.G. Miller и S. Mallov [13]. Раствор ^{99m}Tc -ПФ готовили непосредственно перед применением из элюата технеция (генератор технеция ТЕКСИС, Франция) и препарата Пирфотех ^{99m}Tc (ООО Диамед, Россия), вводили внутривенно под эфирным наркозом в дозе 100 МБк/кг через 30 мин после прекращения иммобилизации. Через 100 минут после инъекции ^{99m}Tc -ПФ крыс декапитировали. Сердце извлекали из грудной клетки, промывали от крови, перфузируя 10 мл холодного (+10°C) физиологического раствора через аорту и измеряли радиоактивность миокарда на гамма-камере «Philips Forte», Philips (Нидерланды). Включение ^{99m}Tc -ПФ в ткань миокарда рассчитывалось в процентах от введенной дозы на 1 г ткани. Химическую симпатэктомию вызывали с помощью введения гуанетидина. Гуанетидин (50 мг/кг) вводили подкожно раз в день в течение трех дней, последнюю инъекцию делали за 24 ч до иммобилизации. Эффект мобилизации эндогенных катехоламинов оценивался с помощью совместного применения клоргиллина (2 мг/кг) и тирамина. Тирамин вызывает мобилизацию эндогенных катехоламинов, его вводили в дозе 10 мг/кг. Клоргиллин является избирательным ингибитором МАО. Большинство антагонистов адренергических рецепторов вводили внутрибрюшинно 2 раза: за 30 мин до иммобилизации и через 12 ч после иммобилизации, за исключением антагониста β_2 -АР ICI 118,551, который применяли в дозе 0,3 мг/кг 3 раза с интервалом в 8 ч. Для блокады α -адренорецепторов (АР) использовали феноксibenзамин в дозе 1 мг/кг. Празозин (2 мг/кг) использовали для блокады α_1 -АР. Йохимбин, антагонист α_2 -АР, вводили в дозе 2 мг/кг. Селективный антагонист β_1 -АР атенолол использовали в дозе 1 мг/кг. Селективный антагонист β_1 -АР небиволол использовали в дозе 1,2 мг/кг. Селективный антагонист β_3 -АР L-748337 вводили в дозе 0,1 мг/кг.

Результаты

При истощении эндогенных катехоламинов в сердце трехдневным введением гуанетидина наблюдается снижение степени аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ на 36 % по сравнению с контрольными животными. При мобилизации эндогенных катехоламинов с помощью тирамина и клоргиллина наблюдается усиление аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ на 26 % по сравнению с контрольными животными (табл. 1). При блокаде альфа2-АР йохимбином у стрессированных животных увеличивается степень аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ в сердце в 2 раза по сравнению с интактными животными (табл. 1), что, по всей видимости, и приводит к увеличению повреждений сердца (табл. 1). Блокада альфа1-АР не оказала эффекта на аккумуляцию ^{99m}Tc -ПФ (табл. 1).

Блокада бета1-АР атенололом уменьшила степень аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ в миокарде в 2 раза. Блокада бета1-АР небивололом вызвала снижение аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ до уровня интактных животных (табл. 1). При блокаде бета2-АР селективным блокатором ICI 118,551 происходит увеличение степени аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ на 55 (табл. 1). Блокада бета3-АР не оказала эффекта на степень аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ (табл. 1).

Выводы

В ходе исследования было установлено, что истощение запасов эндогенных катехоламинов способствует повышению толерантности сердца к действию иммобилизационного стресса. Мобилизация эндогенных катехоламинов с помощью введения тирамина и клоргиллина вызывает повреждение сердца. α 1-адренорецепторы не играют существенной роли в патогенезе стресс-индуцированного повреждения сердца. Установлено, что блокада α 2-адренорецепторов способствует усилению СИПС, по всей видимости, за счёт ингибирования пресинаптических α 2-АР. β 1-адренорецепторы играют важную роль в СИПС. β 2-адренорецепторы оказывают кардиопротективное действие при СИПС. β 3-адренорецепторы не играют существенной роли в СИПС. Следовательно, симпатoadrenalовая система и, в частности, β 1-адренорецепторы играет существенную роль в реализации повреждающего действия стресса на сердце.

Таблица 1

Влияние препаратов на степень аккумуляции ^{99m}Tc -пирофосфата в миокарде крыс (M $\pm$ SEM)

Группа/препарат	Удельное включение ^{99m}Tc , CPM/г (% от введенной дозы)
Интактные, n=12	0,0503 $\pm$ 0,0045*
Стресс 24 ч, n=12	0,1253 $\pm$ 0,0163#
Стресс 24 + симпатолитик гуанетидин, n=12	0,0754 $\pm$ 0,001#*
Клоргилин (селективный ингибитор МАО) + тирамин (мобилизатор эндогенных катехоламинов), n=12	0,0676 $\pm$ 0,0005#*
Стресс 24 + α 1-блокатор празозин, n=12	0,1301 $\pm$ 0,0027#
Стресс 24 + α 2-блокатор йохимбин, n=12	0,2854 $\pm$ 0,0061#*
Стресс 24 + α 2-агонист ST-91, n=12	0,1156 $\pm$ 0,0018
Стресс 24 + β 1-блокатор небиволол, n=12	0,0491 $\pm$ 0,0008#*
Стресс 24 + β 1-блокатор атенолол, n=12	0,0619 $\pm$ 0,0004#*
Стресс 24 + β 2-блокатор ICI 118,551, n=12	0,1687 $\pm$ 0,0017#*
Стресс 24 + β 3-блокатор L-748337, n=12	0,1269 $\pm$ 0,0019#

ЛИТЕРАТУРА

1. Sato H.T.H.U.T. Tako-tsubo-like left ventricular dysfunction due to multivessel coronary spasm. Clinical aspects of myocardial injury : From ischemia to heart failure. 1990; 56–64.
2. Santoro F., Stiermaier T., Tarantino N., Guastafierro F., Graf T., Möller C., Di Martino L.F.M., Thiele H., Di Biase M., Eitel I., Brunetti N.D. Impact of persistent ST elevation on outcome in patients with Takotsubo syndrome. Results from the GERman Italian STress Cardiomyopathy (GEIST) registry. International Journal of Cardiology 2018; 255: 140–4.
3. Rosu D., Askandar S., Khouzam R.N. Why Is Reverse Takotsubo «Reverse»? South Med J. 2017 May;110(5):381–385. doi: 10.14423/SMJ.0000000000000652.
4. Vitale C., Rosano G.M., Kaski J.C. Role of coronary microvascular dysfunction in Takotsubo cardiomyopathy. Circ J. 2016; 80(2): 299–305. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1364.
5. Stiermaier T., Möller C., Graf T., Eitel C., Desch S., Thiele H., Eitel I. Prognostic Usefulness of the Ballooning Pattern in Patients With Takotsubo Cardiomyopathy. Am J Cardiol. 2016 Dec 1; 118(11): 1737–1741. doi: 10.1016/j.amjcard.2016.08.055.
6. Sharkey S.W., Maron B.J. Survival After Takotsubo, Revisited. J Am Coll Cardiol. 2018 Aug 21; 72(8): 883–884. doi: 10.1016/j.jacc.2018.06.022.
7. Konstantinos G., El-Battrawy I., Schramm K., Uzair A., Hoffmann U., Martin B., Ibrahim A. Comparison and Outcome Analysis of Patients with Takotsubo Cardiomyopathy Triggered by Emotional Stress or Physical Stress Front Psychol. 2017 Apr 27; 8: 527. doi: 10.3389/fpsyg.2017.00527.
8. Sobue Y., Watanabe E., Ichikawa T., Koshikawa M., Yamamoto M., Harada M., Ozaki Y. Physically triggered Takotsubo cardiomyopathy has a higher in-hospital mortality rate. International Journal of Cardiology. 2017; 235: 87–93.
9. Ishikura F., Takano Y., Ueyama T. Acute effects of beta-blocker with intrinsic sympathomimetic activity on stress-induced cardiac dysfunction in rats. Journal of Cardiology 2012; 60(6): 470–4.
10. Takano Y., Ueyama T., Ishikura F. Azelnidipine, unique calcium channel blocker could prevent stress-induced cardiac dysfunction like α - β blocker. Journal of Cardiology. 2012; 60(1): 18–22.
11. Isogai T., Matsui H., Tanaka H., Fushimi K., Yasunaga H. Early β -blocker use and in-hospital mortality in patients with Takotsubo cardiomyopathy. Heart. 2016; 102(13): 1029–35.
12. Palla A.R., Dande A.S., Petrini J., Wasserman H.S., Warshofsky M.K. Pretreatment with low-dose β -adrenergic antagonist therapy does not affect severity of takotsubo cardiomyopathy. Clinical cardiology. 2012; 35(8): 478–481.
13. Miller D.G., Mallov S. Quantitative determination of stress-induced myocardial damage in rats. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 1977; 7(2): 139–45.

КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ СОСУДИСТЫХ НАРУШЕНИЙ И ОБОСНОВАНИЕ ИХ КОРРЕКЦИИ ПРИ ХСН СО СНИЖЕННОЙ ФРАКЦИЕЙ ВЫБРОСА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

Д.Д. Кухарова

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»), г. Белгород, Россия

Аннотация

Актуальность проблемы сердечно-сосудистых патологий остается высокой в течение долгих лет. Фактически данная тема продолжает сохранять за собой статус поистине неисчерпаемой. Такие нарушения, как хроническая сердечная недостаточность, во врачебной практике встречаются практически на регулярной основе. По данным российских эпидемиологических исследований, распространенность ХСН в общей популяции составила 7 %, в том числе клинически выраженная – 4,5 %, увеличиваясь от 0,3 % в возрастной группе от 20 до 29 лет до 70 % у лиц старше 90 лет [1–3]. Спектр же сосудистых нарушений при этом является чрезвычайно широким как в клиническом и этиологическом, так и в прогностическом и диагностическом плане. Ухудшение состояния сосудов сетчатки очень часто наблюдаются при различных сердечно-сосудистых заболеваниях, во многих случаях осложняя их течение, утяжеляя прогноз, ухудшая качество жизни больных. В настоящее время в лечении хронической сердечной недостаточности достигнуты значительные успехи. Тем не менее, эта патология занимает одно из ведущих мест по распространенности у взрослого населения. Результаты различных методов лечения впечатляют, а также постоянно увеличивается арсенал лекарственных препаратов. Однако эти достижения не уменьшают сложности проблемы. На сегодняшний день недостаточно изучено влияние препаратов на различные органы и системы при сочетанной патологии сосудистых нарушений. Так, применение пациентами большого количества лекарственных средств, относящихся к разным группам, приводит к развитию побочных явлений, а также к негативному отношению к ним как со стороны больных, так и врачей. Поэтому одной из первостепенных задач в данной области является выявление патогенетических механизмов возникновения сосудистых нарушений у пациентов с хронической сердечной недостаточностью.

Ключевые слова: ХСН, ретинопатия, глазное дно, офтальмоскопия, сетчатка, инфаркт, стенокардия, ИБС, окклюзия сосудов сетчатки.

CLINICAL AND PATHOGENETIC PREDICTORS OF VASCULAR DISORDERS AND JUSTIFICATION FOR THEIR CORRECTION IN CHF WITH A REDUCED LEFT VENTRICULAR EJECTION FRACTION

D.D. Kukharova

Federal state Autonomous educational institution of higher education «Belgorod state national research University», Belgorod, Russia

Аннотация

The relevance of the problem of cardiovascular diseases remains high for many years. In fact, this topic continues to maintain its status as truly inexhaustible. Such disorders as chronic heart failure occur almost on a regular basis in medical practice. According to Russian epidemiological studies, the prevalence of CHF in the General population was 7 %, including clinically expressed 4.5 %, increasing from 0.3 % in the age group from 20 to 29 years to 70 % in people older than 90 years [1–3]. The spectrum of vascular disorders in this case is extremely wide both in clinical and etiological, as well as in prognostic and diagnostic terms. Deterioration of the retinal vessels is very often observed in various cardiovascular diseases, in many cases complicating their course, weighing down the prognosis, and worsening the quality of life of patients. Currently, significant progress has been made in the treatment of chronic heart failure. The results of various treatment methods are impressive, and the Arsenal of medicines is constantly increasing. Over the past few years, significant

progress has been made in the prevention and treatment of CHF. Nevertheless, this pathology occupies one of the leading places in the adult population. The results of various treatment methods are impressive, and the Arsenal of medicines is constantly increasing. However, these achievements do not reduce the complexity of the problem. To date, the effect of drugs on various organs and systems in combined pathology of vascular disorders has not been sufficiently studied. Therefore, the use of a large number of drugs by patients belonging to different groups leads to the development of side effects, as well as to a negative attitude to them both from patients and doctors. Therefore, one of the primary tasks in this area is to identify the pathogenetic mechanisms of vascular disorders in patients with chronic heart failure.

Key words: CHF, retinopathy, ocular fundus, ophthalmoscopy, retina, heart attack, angina, coronary artery disease, occlusion of retinal vessels.

Актуальность

Актуальность проблемы сердечно-сосудистых патологий остается высокой в течение долгих лет. Фактически данная тема продолжает сохранять за собой статус поистине неисчерпаемой.

ХСН является одной из ведущих медико-социальных проблем во всем мире, так как в значительной мере определяет высокую смертность лиц трудоспособного возраста и инвалидность от сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний [4].

На всех стадиях ХСН вызывает острые и хронические нарушения кровообращения в сосудистых сетях различных органов. Среди них сосуды глазного дна занимают особое место, так как патологические изменения гемодинамики в них могут приводить к ухудшению остроты зрения и слепоте [5].

Часто хроническая цереброваскулярная патология является основным фоном заболевания при поражениях сосудов сетчатки. В последние годы отмечается рост ишемических заболеваний глаз, что связано с распространением атеросклероза, гипертонической болезни, ишемической болезни сердца и т.д. [6–11].

За последние несколько лет были достигнуты значительные успехи в профилактике и лечении ХСН. Тем не менее, эта патология занимает одно из ведущих мест по распространенности у взрослого населения. Поэтому одной из первоочередных задач в данной области является выявление патогенетических механизмов возникновения сосудистых нарушений у пациентов с хронической сердечной недостаточностью.

Разумеется, мы понимаем, что не можем на 100 % повлиять на судьбу пациента, поскольку круг нашего влияния ограничен культурой и отношением к своему здоровью нашего подопечного, а также его социально-экономическим уровнем жизни, фоновыми соматическими заболеваниями и некоторыми другими причинами. И все же настроить пациента на понимание важности профилактических усилий, доверие к врачу и комплаентность к лечению являются залогом нашего совместного успеха в борьбе с любой болезнью.

Целью исследования является изучение сосудистых нарушений (изменение сосудов сетчатки) у больных при хронической сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса левого желудочка.

Тесное сотрудничество между офтальмологами и врачами общей практики необходимо для выявления и лечения таких пациентов. Своевременное врачебное вмешательство у этих пациентов может снизить риск осложнений как угрожающих зрению, так и системных.

В соответствии с поставленной целью сформулированы следующие задачи:

проанализировать взаимосвязь развития сосудистых изменений сетчатки при хронической сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса левого желудочка на основе изучения лабораторных клинических, биохимических и инструментальных исследований, определения жесткости сосудов;

у больных с ХСН со сниженной фракцией выброса левого желудочка исследовать взаимосвязи между функциональным состоянием сосудов сетчатки и показателями гемостаза, определить показатели, имеющие наибольшую информационную ценность;

изучить влияние препарата ивабрадина гидрохлорида (кораксана) и препарата невотенза (небиволола) на изменение сосудов;

исследовать состояние сосудов сетчатки у больных при ХСН со сниженной фракцией выброса левого желудочка;

выявить наиболее значимые предикторы сосудистых изменений сетчатки у больных при ХСН со сниженной фракцией выброса левого желудочка.

Материал и методы

Планируется отобрать 130–140 пациентов с ХСН со сниженной фракцией выброса левого желудочка, в ОГБУЗ Городская больница № 2 г. Белгорода. Контрольную группу составят пациенты без нарушений. В ходе работы планируется использовать лабораторные и инструментальные методы исследования. Будет проведен системный подход к изучению параметров гемостаза, функционального состояния сосудов сетчатки, структурно-функционального состояния сердечно-сосудистой системы у больных при ХСН. Статистическую обработку материала будем проводить с помощью пакета программ «Statistica 6.0». При создании базы данных будем использовать редактор электронных таблиц Microsoft Excel, 2007. Результаты будут выражаться как среднее (М) и его стандартное отклонение (σ) для непрерывных величин, коэффициент достоверности (p) и как доля (процентное отношение) для категориальных переменных (т.е. переменных, описывающих качественные признаки). Отличия будем считать достоверными при $p < 0,05$. Сравнительный статистический анализ проведем параметрическими (множественное сравнение по Стьюденту с использованием поправки Бонферони, обычный корреляционный анализ, регрессионный анализ) методами.

Выводы

Раннее выявление гипертонического повреждения органа-мишени играет огромную роль для глобальной оценки риска сердечно-сосудистых заболеваний. Важным аспектом является выявление наиболее значимых предикторов сосудистых изменений сетчатки у больных при ХСН со сниженной фракцией выброса левого желудочка [12].

ЛИТЕРАТУРА

1. Беленков Ю.Н., Фомин И.В., Мареев В.Ю. Первые результаты Российского эпидемиологического исследования по ХСН. Журнал Сердечная Недостаточность. 2003; 4(1): 17–18.
2. Агеев Ф.Т., Даниелян М.О., Мареев В.Ю. Больные с хронической сердечной недостаточностью в российской амбулаторной практике: особенности контингента, диагностики и лечения (по материалам исследования ЭПОХА–О–ХСН). Журнал Сердечная Недостаточность. 2004; 5(1): 4–7.
3. Фомин И.В. Распространенность хронической сердечной недостаточности в европейской части Российской Федерации – данные ЭПОХА–ХСН. Журнал Сердечная Недостаточность. 2006; 7(3): 112–115.
4. Ащеулова Т.В., Амбросова Т.Н., Смирнова В.И. Основные симптомы и синдромы при гипертонической болезни и симптоматических артериальных гипертензиях. Методические указания для студентов. Харьков. ХНМУ. 2016. 32 с.
5. HypertensJ. European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. Guidelines Committee. 2003; 21(6): 1011–1053.
6. Киселева Т.Н., Кравчук Е.А. Особенности глазного и церебрального кровотока при атрофии зрительного нерва: Материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Федоровские чтения – 2009».
7. Маккаева С.М., Рамазанова Л.Ш. Влияние нейрометаболических препаратов на зрительные функции больных хронической ишемической нейропатией: Материалы научно-практической конференции «Фармакотерапия заболеваний органа зрения». Киров, 2009.
8. Морозова Л.Н., Шамишинова А.М., Стулин И.Д. Клинико-функциональная характеристика ишемического синдрома поражения зрительной сенсорной системы при патологии сонных артерий: Материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Федоровские чтения – 2009».
9. Hazin R., Daoud Y.J., Khan F. Ocularis chemic syndrome: recent trends in medical management. Current Opinion in Ophthalmology. 2009; 20(6): 430–433.
10. Mendrinos E., Machinis T.G., Pournaras C.J. Ocularis chemic syndrome. Surv Ophthalmol. 2010 Jan-Feb; 55 (1): 2–34. doi: 10.1016/j.survophthal.2009.02.024.
11. Terelak-Borys B., Skonieczna K., Grabska-Liberek I. Ocularis chemic syndrome – asystematic review. Med Sci Monit. 2012 Aug; 18(8): RA138–144. doi: 10.12659/msm.883260.
12. Triantafyllou A., Anyfanti P., Zabulis X., Gavrilaki E., Karamaounas P., Gkaliagkousi E., Petidis K., Pyrpaopoulou A., Girasis C., Aslanidis S., Douma S. Accumulation of microvascular target organ damage in newly diagnosed hypertensive patients. J Am Soc Hypertens. 2014 Aug; 8(8): 542–9. doi: 10.1016/j.jash.2014.04.008.

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИОКАРДИАЛЬНОГО КРОВОТОКА И КОРОНАРНОГО РЕЗЕРВА У ПАЦИЕНТОВ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА БЕЗ ОБСТРУКТИВНОГО ПОРАЖЕНИЯ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

А.Н. Мальцева, Д.А. Воробьева, А.В. Мочула

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

Аннотация

Инфаркт миокарда без обструктивного поражения коронарных артерий (MINOCA) в настоящее время является предметом пристального изучения в связи с гетерогенностью этиологических причин и вари-

бельностью патофизиологических процессов. Поиск взаимоотношений скintiграфических индексов перфузии, миокардиального кровотока и коронарного резерва с другими клиническими, лабораторными и инструментальными данными позволил бы разработать правильный подход к диагностике и дальнейшему лечению данной группы больных. А также открывает возможности для проведения крупных многоцентровых исследований по прогнозу и риску развития неблагоприятных сердечных событий.

Ключевые слова: MINOCA, инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца, динамическая однофотонная эмиссионная компьютерная томография, перфузионная скintiграфия миокарда, миокардиальный кровоток, коронарный резерв.

MODERN POSSIBILITIES OF DETERMINING MYOCARDIAL BLOOD FLOW AND CORONARY FLOW RESERVE IN PATIENTS WITH MYOCARDIAL INFARCTION WITH NONOBSTRUCTIVE CORONARY ARTERIES

A.N. Maltseva, D.A. Vorobyeva, A.V. Mochula

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

Abstract

Myocardial infarction with nonobstructive coronary arteries (MINOCA) is currently the subject of scientific study because it has heterogeneous etiological causes and variability of pathophysiological processes. The research for the relationship of scintiographic indices of perfusion, myocardial blood flow and coronary reserve with other clinical, laboratory and instrumental dates would improve the diagnosis and treatment this patients. This opens up opportunities for large multi-center studies on the prognosis and risk of adverse heart events.

Key words: MINOCA, myocardial infarction, coronary arteries disease, dynamic single-photon emission computed tomography, myocardial perfusion imaging, myocardial blood flow, coronary reserve.

Актуальность

Инфаркт миокарда без обструктивного поражения коронарных артерий (MINOCA) в настоящее время является предметом пристального изучения в связи с гетерогенностью этиологических причин и вариабельностью патофизиологических процессов [1,2]. При этом MINOCA требует проведения целого ряда инвазивных и неинвазивных исследований для установления окончательного диагноза [3]. Перфузионная скintiграфия миокарда (ПСМ) относится к ведущим диагностическим методам визуализации ишемической болезни сердца (ИБС), однако она не позволяет оценить миокардиальный кровоток (МК) и коронарный резерв (КР) в количественном выражении, в отличие от динамической однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ), что в настоящее время является актуальной задачей научных исследований. Оценка возможностей метода динамической ОФЭКТ для определения МК и КР у таких групп пациентов, как MINOCA, в сравнении с пациентами с инфарктом миокарда (ИМ) на фоне обструкции коронарных артерий (КА) и стабильной ИБС без значимого стенозирования КА позволило бы обозначить перспективы данного метода для дальнейших фундаментальных исследований.

Цель исследования – оценить возможности метода динамической ОФЭКТ миокарда в определении МК и КР у пациентов с MINOCA, ИМ на фоне обструкции КА и со стабильной ИБС без обструкции КА. Оценить корреляционные взаимосвязи скintiграфических показателей динамической ОФЭКТ со специфическими биомаркерами повреждения миокарда.

Материал и методы

В исследование включены пациенты, поступающие в отделение неотложной кардиологии Научно-исследовательского института кардиологии в порядке скорой медицинской помощи с подозрением на острый коронарный синдром (ОКС). При наличии изменений при электрокардиографии и повышении уровня специфических биомаркеров повреждения миокарда пациентам выполняли инвазивную коронарографию, по результатам которой были сформированы группы без обструктивного поражения КА (<50 %) и с обструкцией КА (≥50 %), первая и вторая группы соответственно. Из базы данных лаборатории радионуклидных методов исследования Научно-исследовательского института кардиологии

была сформирована третья группа, или группа сравнения – пациенты со стабильной ИБС и стенозами КА <50 %. Критериями включения для первой и второй группы являлись: отсутствие в анамнезе ИМ и реваскуляризации до настоящей госпитализации, отсутствие противопоказаний к введению аденозинтрифосфата (АТФ), отсутствие аллергии на йодсодержащие контрастные вещества. Критериями включения для третьей группы являлись: отсутствие ОКС, ИМ и реваскуляризации миокарда в анамнезе, отсутствие противопоказаний к введению АТФ, отсутствие аллергии на йодсодержащие контрастные вещества. Все больные подписали информированное согласие на участие в исследовании. Через 24 часа после поступления в стационар пациентам первой и второй групп был определен уровень специфических биомаркеров повреждения миокарда – креатинфосфокиназы-МВ (КФК-МВ) и тропонина I (TnI). На 7–10-е сутки госпитализации всем пациентам была проведена динамическая ОФЭКТ с определением МК и КР с ^{99m}Tc -метоксиизобутилизонитрилом по двухдневному протоколу покой/нагрузка. В качестве нагрузочной пробы был использован фармакологический стресс-тест с внутривенным введением АТФ в дозе 140 мг/кг/мин [4,5]. Все исследования были выполнены на гибридном однофотонно-эмиссионном и рентгеновском компьютерном томографе GEDiscovery NM/CT 570c (GEHealthcare, Milwaukee, WI, USA). По данным ОФЭКТ определяли стандартные индексы нарушения миокардиальной перфузии (SSS, SRS, SDS), показатели МК в состоянии покоя (rest-MBF), на фоне стресс-теста (stress-MBF) и коронарный резерв (CFR) [6–8]. Статистический анализ был выполнен в программе Statistica 10.0 (StatSoft. Inc. USA). Статистическую значимость межгрупповых различий ($p < 0,05$) оценивали при помощи непараметрических критериев Kruskal-Wallis и MannWhitney, корреляция по критерию Spearman.

Результаты

Первую группу составили 11 пациентов с рабочим диагнозом MINOCA (6 мужчин, средний возраст $64,9 \pm 12,6$ лет). Во вторую группу вошли 17 больных (12 мужчин, средний возраст $61,6 \pm 9,1$ лет) с ИМ на фоне обструктивного поражения КА. В третьей группе были рассмотрены 12 пациентов (9 мужчин, средний возраст $62,9 \pm 9,8$ лет), проходившие лечение по поводу стабильной ИБС. Стандартные индексы нарушения миокардиальной перфузии во всех группах достоверно различались (кроме SDS между первой и второй групп): SSS 5,0 (3,0;6,0) и SDS 2,0 (1,0;3,0); SSS 9,0 (5,0;13,0) и SDS 3,0 (2,0;5,0); SSS 1,5 (0,5;2,0) и SDS 0,0 (0,0;2,0), соответственно. Также имелись достоверно значимые различия в показателях МК и КР между группами: stress-MBF 1,2 (0,8;1,7) и CFR 2,0 (1,2;2,4); stress-MBF 0,7 (0,6;1,0) и CFR 1,2 (1,1;1,5); stress-MBF 2,2 (2,1;2,3) и CFR 2,6 (2,5;2,8). Из этого следует, что stress-MBF и SSS были в наибольшей степени снижены у пациентов второй группы с ИМ на фоне обструкции КА. При этом указанные показатели были статистически ниже у пациентов с MINOCA по сравнению с больными стабильной ИБС без обструкции КА. По результатам лабораторного определения уровня специфических биомаркеров повреждения миокарда были получены следующие значения: КФК-МВ 21,5 (13,7;45,0) и 94,4 (53,1;217,0), TnI 0,5 (0,1;3,3) и 9,8 (2,0;23,0) в первой и во второй группах соответственно. При проведении корреляционного анализа между вышеуказанными сцинтиграфическими показателями и уровнем специфических биомаркеров повреждения миокарда были установлены значимые взаимосвязи КФК-МВ с stress-MBF ($\rho = -0,48$); CFR ($\rho = -0,55$) и SSS ($\rho = 0,65$); TnI с CFR ($\rho = -0,46$) и SSS ($\rho = 0,46$). Ранее были получены данные, что пациенты с MINOCA не отличаются по показателям заболеваемости и смертности от таковых с ИМ на фоне обструкции КА [3]. Также известно, что размер дефекта перфузии, по данным ПСМ, обладает прогностической значимостью [9] в аспекте неблагоприятных сердечных событий. Вероятнее всего, эти данные показывают, что решающее значение во влиянии на клинический статус и прогноз таких пациентов оказывает не столько факт наличия обструктивного процесса в КА, сколько ряд других факторов, реализующих свое действие на уровне микроциркуляции. Кроме того, данное предположение подтверждается наличием корреляций между уровнем биомаркеров и показателями МК и КР. Поиск таких факторов является в настоящее время предметом изучения, а радионуклидные методы (позитронная эмиссионная компьютерная томография, ОФЭКТ) позволяют оценивать эти изменения и могут быть использованы для оценки тяжести таких пациентов в динамике и для определения прогноза.

Выводы

Метод динамической ОФЭКТ позволяет определять показатели МК и КР и идентифицировать нарушения микроциркуляции миокарда независимо от наличия обструктивного поражения коронарного русла. Значения указанных сцинтиграфических показателей значительно различаются у пациентов, поступивших в клинику с ОКС, от больных со стабильной ИБС, а

также среди групп с инфарктом миокарда с наличием обструктивного поражения КА и без такового. Это свидетельствует о возможности использования метода динамической ОФЭКТ для оценки тяжести нарушения микроциркуляции, а также открывает перспективы для оценки риска развития неблагоприятных сердечных событий в указанных группах пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vidal-Perez R., AbouJokh Casas C., Agra-Bermejo R.M., Alvarez-Alvarez zB., Grapsa J., Fontes-Carvalho R., Rigueiro Veloso P., Garcia Acuña J.M., Gonzalez-Juanatey J.R. Myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries: A comprehensive review and future research directions. *World J Cardiol.* 2019; 11(12): 305–315. doi: 10.4330/wjc.v11.i12.305.
2. Pasupathy S., Tavella R., Beltrame J. The What, When, Who, Why, How and Where of Myocardial Infarction With Non-Obstructive Coronary Arteries (MINOCA). *Circ J.* 2016; 80(1): 11–6. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1096.
3. Buono A., Pedrotti P., Soriano F., Veas N., Oliva F., Oreglia J., Ammirati E. Myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries (MINOCA): diagnosis, pathogenesis, therapy and prognosis. *G Ital Cardiol (Rome).* 2019 Sep; 20(9): 499–511. doi: 10.1714/3207.31839.
4. Мочула А.В., Завадовский К.В., Андреев С.Л., Лишманов Ю.Б. Динамическая однофотонная эмиссионная компьютерная томография миокарда как метод идентификации многососудистого поражения коронарного русла. *Вестник рентгенологии и радиологии.* 2016; 97(5): 289–295. doi: 10.20862/0042-4676-2016-97-5.
5. 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; 160(12): 845–848.
6. Cerqueira M.D., Weissman N.J., Dilsizian V., Jacobs A.K., Kaul S., Laskey W.K., Pennell D.J., Rumberger J.A., Ryan T., Verani M.S.; American Heart Association Writing Group. Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart. A statement for healthcare professionals from the Cardiac Imaging Committee of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association. *Circulation.* 2002 Jan 29; 105(4): 539–42.
7. Prasad M., Slomka P.J., Fish M., Kavanagh P., Gerlach J., Hayes S., Berman D.S., Germano G. Improved quantification and normal limits for myocardial perfusion stress-rest change. *J Nucl Med.* 2010 Feb; 51(2): 204–9. doi: 10.2967/jnumed.109.067736.
8. Ficaro E.P., Lee B.C., Kritzman J.N., Corbett J.R. Corridor 4DM: the Michigan method for quantitative nuclear cardiology. *J Nucl Cardiol.* 2007; 14(4): 455–465. doi:10.1016/j.nuclcard.2007.06.006.
9. Hachamovitch R., Berman D.S., Shaw L.J., Kiat H., Cohen I., Cabico J.A., Friedman J., Diamond G.A. Incremental prognostic value of myocardial perfusion single photon emission computed tomography for the prediction of cardiac death: differential stratification for risk of cardiac death and myocardial infarction. *Circulation.* 1998; 97(6): 535–43. doi: 10.1161/01.cir.97.6.535.

МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ АРГИНИНДЕИМИНАЗЫ НА ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА

Д.Т. Маммедова¹, А.Б. Карасева¹, Д.С. Семёнова², А.В. Соколов¹

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Институт экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия¹

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский

исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения

Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия²

Аннотация

Метаболизм L-аргинина играет важную роль в регуляции функций эндотелия. Активность бактериальной аргининдеиминазы приводит к истощению L-аргинина в микроокружении клеток организма-хозяина. Целью работы было изучение механизмов цитопатического действия аргининдеиминазы *S. pyogenes* в отношении эндотелиальных клеток вены пупочного канатика человека (HUVES). Проводили сравнение эффектов супернатантов разрушенных стрептококков исходного штамма, экспрессирующего аргининдеиминазу (*S. pyogenes* M49–16), и супернатантов его изогенного мутанта с инактивированным геном аргининдеиминазы (M49–16delArcA). В работе оценивали изменение концентрации L-аргинина в надосадках HUVES, уровень продукции оксида азота (NO), интенсивность процессов аутофагии. Было показано, что активность аргининдеиминазы *S. pyogenes* приводит к снижению концентрации L-аргинина в надосадках HUVES, усиливает продукцию NO и процессы аутофагии. Бактериальная аргининдеиминаза изменяет баланс метаболизма L-аргинина в эндотелиальных клетках.

Ключевые слова: эндотелий, L-аргинин, аргининдеиминаза, оксид азота, аутофагия.

MECHANISMS OF THE INFLUENCE OF BACTERIAL ARGININE DEIMINASE ON THE HUMAN ENDOTHELIAL CELLS

J.T. Mammedova¹, A.B. Karaseva¹, D.S. Semenova², A.V. Sokolov¹

Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of Experimental Medicine»,
Saint Petersburg, Russia¹

Federal State Budgetary Institution «Almazov National Medical Research Centre»,
Saint Petersburg, Russia²

Abstract

L-arginine metabolism plays a key role in the regulation of endothelium functions. The activity of bacterial arginine deiminase leads to L-arginine depletion in the microenvironment of host cells. The aim of study was to investigate the mechanisms of *S. pyogenes* arginine deiminase cytopathic action against human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). The effects of the supernatants of destroyed streptococci of the original strain expressing arginine deiminase (*S. pyogenes* M49-16) were compared with the supernatants of its isogenic mutant with the inactivated arginine deiminase gene (M49-16delArcA). The change in the concentration of L-arginine in HUVEC supernatants, the level of nitric oxide (NO) production and the intensity of autophagy were assessed. It was shown that the activity of *S. pyogenes* arginine deiminase decreased of L-arginine concentration in HUVEC supernatants, increased the production of NO and enhanced autophagy. Bacterial arginine deiminase changes the balance of L-arginine metabolism in endothelial cells.

Key words: endothelium, L-arginine, arginine deiminase, nitric oxide, autophagy.

Актуальность

Аргининдеиминаза – бактериальный фермент, который способствует выживанию микроорганизмов в кислой среде микроокружения и фаголизосомах. Данный фермент осуществляет необратимый гидролиз L-аргинина до L-цитруллина и аммиака, что приводит к истощению аминокислоты в микроокружении клеток организма-хозяина [1]. L-аргинин в организме млекопитающих является условно-заменимой протеиногенной аминокислотой, которая служит субстратом для 5 ферментов, среди которых наиболее важными для биологии эндотелия являются аргиназа II и эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS) [2]. Аргиназа II за счет продукции L-пролина и полиаминов стимулирует пролиферацию клеток, ремоделирование и регенерацию тканей. eNOS осуществляет синтез оксида азота (NO) – важнейшей вазопротекторной молекулы, регулирующей тонус сосудов, процессы воспаления и коагуляции. Нарушение активности этих ферментов в эндотелиальных клетках (ЭК) связывают с развитием эндотелиальной дисфункции, которая сопровождается множеством сердечно-сосудистых заболеваний [3]. Ранее нами и другими исследователями было показано, что бактериальная аргининдеиминаза подавляет пролиферацию ЭК [4–6], их миграционную активность [5,7,8], нарушает структуру актинового цитоскелета [8,9] и усиливает экспрессию маркеров воспаления ICAM и VCAM [6]. Однако точные механизмы влияния данного фермента на функциональную активность ЭК не известны.

Цель исследования – изучить механизмы влияния аргининдеиминазы на функциональную активность эндотелиальных клеток человека.

Материал и метод

Для выделения эндотелиальных клеток вены пупочного канатика человека пуповины получали из перинатального центра ФГБУ «НМИЦ им. Алмазова». Клетки были выделены по адаптированной методике и культивировались, как описано ранее [10]. В работе использовали супернатанты разрушенных *S. pyogenes* (CPC) исходного штамма M49–19, экспрессирующего аргининдеиминазу, и его изогенного мутанта с инактивированным геном аргининдеиминазы (M49–16delArcA). Штаммы *S. pyogenes* были любезно предоставлены заведующим отделом молекулярной микробиологии проф., д-ром м.н. А.Н. Суворовым. CPC вносили к клеткам в максимальной нетоксичной концентрации. Оценку концентрации L-аргинина производили модифицированным колориметрическим методом Сукагучи, описанным ранее [11]. Для анализа продукции NO клетки вносили в 12-луночные планшеты (Sarstedt) и культивировали до образования конфлюэнтного монослоя. После этого вносили исследуемые вещества и инкубировали 72 ч при 37° С во влажной атмосфере с 5 % CO₂. По истечении срока инкубации вносили краситель DAF-FMDA (Invitrogen) в концентрации 1 μM и инкубировали 1 ч.

Производили дезинтеграцию монослоя и фиксировали клетки 4 % раствором формальдегида (Sigma). Измерение образцов проводили с помощью проточного цитометра Navios™ (Beckman Coulter). Для оценки процессов аутофагии ЭК вносили в 24-луночные планшеты (Sarstedt) в концентрации 150 тысяч клеток в мл. После чего вносили исследуемые вещества на 48 часов. Производили окраску клеток 20 нМ раствором LysoTrackerDNA-26 Green (Invitrogen). Образцы анализировали с помощью цитометра Navios™ (Beckman Coulter). Анализ и обработку данных производили с помощью программы STATISTICA 5.0 с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты

В стандартных условиях культивирования концентрация L-аргинина в надосадках клеточных культур составляла $137,2 \pm 4,32$ мМ. В присутствии СРС исходного штамма, в разведениях 1/50 и 1/100, концентрация L-аргинина достоверно снижалась по сравнению с контролем до $116,5 \pm 4,90$ мМ и $115,8 \pm 5,07$ мМ соответственно (при $p < 0,01$) (рис. 1а). СРС мутантного штамма не изменял концентрацию L-аргинина в надосадках HUVEC. Концентрация L-аргинина в присутствии СРС исходного штамма в максимальном исследуемом разведении была достоверно ниже, чем концентрация L-аргинина в присутствии СРС его изогенного мутанта в том же разведении $134,7 \pm 4,39$ мМ при ($p < 0,05$).

При инкубации клеток в присутствии СРС исходного штамма продукция NO была достоверно выше по сравнению с продукцией этого метаболита в стандартных условиях культивирования (рис. 1). СРС мутантного штамма не оказывал влияния на этот показатель. Продукция NO клетками в присутствии СРС исходного штамма была достоверно выше по сравнению с продукцией этого метаболита в присутствии мутантного штамма. Внесение добавки L-аргинина в концентрациях 2 и 4 мМ не оказывала значимого влияния на продукцию NO во всех условиях культивирования.

При оценке процессов аутофагии было показано, что СРС исходного штамма, в отличие от СРС мутантного штамма, достоверно повышал количество лизосом в клетке по сравнению с контролем (рис. 2). Количество лизосом в присутствии исходного штамма было достоверно выше, чем в присутствии СРС мутантного штамма.

Полученные результаты показывают, что активность аргининдеиминазы приводит к снижению концентрации L-аргинина в надосадках HUVEC. Это подтверждает результаты *in vitro* полученные на других культурах клеток [11] и результаты *in vivo*, полученные в модели стрептококковой инфекции у мышей [12]. Усиление процессов аутофагии в присутствии СРС исходного штамма, вероятно, происходит из-за истощения L-аргинина в микроокружении клеток [13]. Процессы аутофагии в клетках усиливаются при ингибировании аргинин-зависимого mTOR внутриклеточного сигнального пути [13,14]. Поэтому обнаруженное усиление процессов аутофагии можно также объяснить снижением активации mTOR в условиях дефицита L-аргинина. В ходе реакции гидролиза L-аргинина, который осуществляет аргининдеиминаза, происходит образование L-цитруллина и аммиака [1]. Согласно данным литературы, eNOS для синтеза NO использует преимущественно L-аргинин, ресинтезированный из L-цитруллина, и/или внеклеточный L-аргинин [15]. Усиление продукции NO в присутствии СРС исходного штамма, экспрессирующего аргининдеиминазу, может быть связано с повышением концентрации L-цитруллина в культуральной среде.

Выводы

Бактериальная аргининдеиминаза нарушает баланс метаболизма L-аргинина в ЭК, что может приводить к развитию эндотелиальной дисфункции.

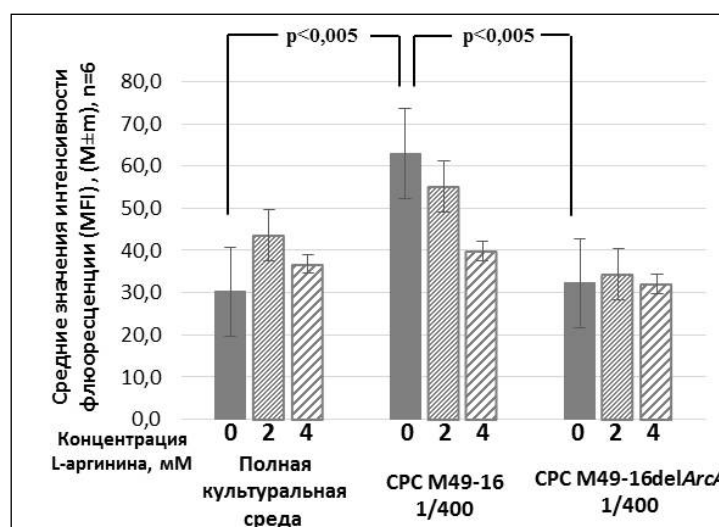


Рис. 1. Влияние супернатантов разрушенных стрептококков на продукцию оксида азота эндотелиальными клетками

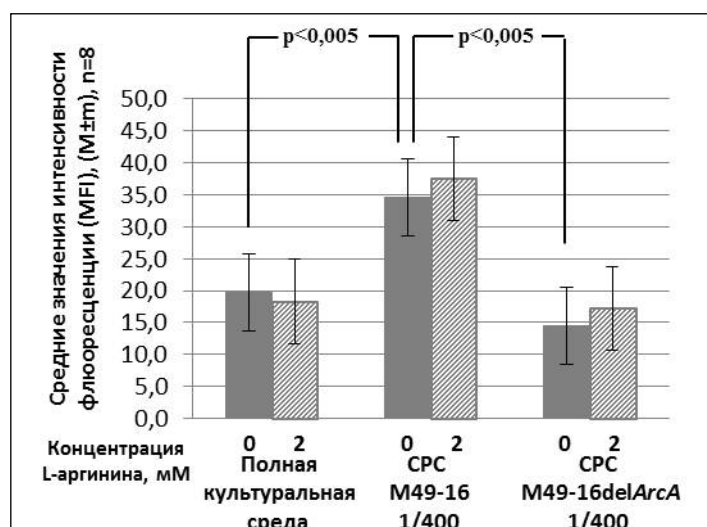


Рис. 2. Влияние супернатантов разрушенных стрептококков на процессы аутофагии

ЛИТЕРАТУРА

1. Cusumano Z.T., Caparon M.G. Citrulline protects *Streptococcus pyogenes* from acid stress using the arginine deiminase pathway and the F1Fo-ATPase. *J Bacteriol.* 2015 Apr; 197(7): 1288–96. doi: 10.1128/JB.02517–14.
2. Chen F., Lucas R., Fulton D. The subcellular compartmentalization of arginine metabolizing enzymes and their role in endothelial dysfunction. *Front Immunol.* 2013 Jul 9; 4: 184. doi: 10.3389/fimmu.2013.00184.
3. Rohlenova K., Veys K., Miranda-Santos I., De Bock K., Carmeliet P. Endothelial Cell Metabolism in Health and Disease. *Trends Cell Biol.* 2018; Mar; 28 (3): 224–236. doi: 10.1016/j.tcb.2017.10.010.
4. Park I.S., Kang S.W., Shin Y.J., Chae K.Y., Park M.O., Kim M.Y., Wheatley D.N., Min B.H. Argininedeiminase: a potential inhibitor of angiogenesis and tumour growth. *Br J Cancer.* 2003; Sep 1; 89(5): 907–14. doi: 10.1038/sj.bjc.6601181.
5. Мамедова Дж.Т., Старикова Э.А., Бурова Л.А., Малашичева А.Б., Семёнова Д.С., Фрейдлин И.С. Влияние аргининдеиминазы *S. pyogenes* на пролиферативную и миграционную активность эндотелиальных клеток вены пупочного канатика человека. *Цитокины и воспаление.* 2017; 3: 48–51.
6. Мамедова Дж.Т., Старикова Э.А., Бурова Л.А., Малашичева А.Б., Семёнова Д.С., Фрейдлин И.С. Влияние аргининдеиминазы *Streptococcus pyogenes* на пролиферативную активность и экспрессию активационных маркеров эндотелиальных клеток вены пупочного канатика человека. *Российский иммунологический журнал.* 2019; 13(23)(3): 1224–1230.
7. Beloussow K., Wang L., Wu J., Ann D., Shen W.C. Recombinant argininedeiminase potential anti-angiogenic agent. *Cancer Lett.* 2002; Sep 26; 183(2): 155–62. doi: 10.1016/s0304-3835(01)00793-5.
8. Старикова Э.А., Мамедова Дж.Т., Бурова Л.А., Соколов А.В., Васильев В.Б., Фрейдлин И.С. Влияние аргининдеиминазы *Streptococcus pyogenes* на миграционную активность и структуру цитоскелета эндотелиальных клеток человека. *Медицинская Иммунология.* 2017; 19: 521–528.
9. Zhuo W., Song X., Zhou H., Luo Y. Arginine deiminase modulates endothelial tip cells via excessive synthesis of reactive oxygen species. *Biochem Soc Trans.* 2011; Oct; 39(5): 1376–81, suppl 2 p following 1382. doi: 10.1042/BST0391376.
10. Baudin B., Bruneel A., Bosselut N., Vaubourdolle M. A protocol for isolation and culture of human umbilical vein endothelial cells. *Nat Protoc.* 2007; 2(3): 481–5. doi: 10.1038/nprot.2007.54.
11. Старикова Э.А., Соколов А.В., Бурова Л.А., Головин А.С., Лебедева А.М., Васильев В.Б., Фрейдлин И.С. Роль аргининдеиминазы пиогенного стрептококка в подавлении синтеза монооксида азота (NO) макрофагами. *Инфекция и иммунитет.* 2018; 8(2): 211–218.
12. Starikova E.A., Golovin A.S., Vasilyev K.A., Karaseva A.B., Serebriakova M.K., Sokolov A.V., Kudryavtsev I.V., Burova L.A., Voynova I.V., Suvorov A.N., Vasilyev V.B., Freidlin I.S. Role of arginine deiminase in thymic atrophy during experimental *Streptococcus pyogenes* infection. *Scand J Immunol.* 2019; Feb; 89(2): e12734. doi: 10.1111/sji.12734.

13. Jiang F. Autophagy in vascular endothelial cells. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2016; Nov; 43(11): 1021–1028. doi: 10.1111/1440-1681.12649.

14. Laplante M., Sabatini D.M. mTOR Signaling. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012; Feb 1; 4(2): a011593. doi: 10.1101/cshperspect.a011593.

15. Morita M., Hayashi T., Ochiai M., Maeda M., Yamaguchi T., Ina K., Kuzuya M. Oral supplementation with a combination of L-citrulline and L-arginine rapidly increases plasma L-arginine concentration and enhances NO bioavailability. Biochem Biophys Res Commun. 2014; Nov 7; 454(1): 53–7. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.10.029.

НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЭНДОСКОПИЧЕСКОГО ВЫДЕЛЕНИЯ БОЛЬШОЙ ПОДКОЖНОЙ ВЕНЫ В ЛОСКУТЕ С ТКАНЯМИ

Д.В. Манвелян, Ю.Ю. Вечерский, В.В. Затолокин

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

Аннотация

Традиционное выделение большой подкожной вены в сердечно-сосудистой хирургии предполагает лампасные разрезы на протяжении всей длины выделяемого кондуита и является причиной развития раневых осложнений, стойкого болевого синдрома. Это приводит к формированию грубых рубцов, негативно влияет на сроки реабилитации и продолжительность пребывания в стационаре, удовлетворенность пациентов. Эндоскопическое выделение за счет уменьшения травматичности позволило значительно улучшить заживление ран, косметические результаты и уменьшить выраженность боли. Однако текущие публикации свидетельствуют о негативном влиянии эндоскопического выделения вен на функционирование шунтов в среднесрочном периоде после операции. Это связано с избыточными механическими манипуляциями и воздействием углекислого газа при выделении большой подкожной вены существующими эндоскопическими системами. Выделение вены в лоскуте с окружающими тканями, исключая непосредственный контакт с кондуитом («no-touch»), позволяет достичь оптимальных значений структурной целостности и функциональной жизнеспособности венозных кондуитов и, вследствие этого, улучшить результаты функционирования аутовенозных шунтов в долгосрочном периоде после операции. Поэтому целью настоящего исследования стала разработка и комплексная оценка непосредственных результатов эндоскопического выделения большой подкожной вены в лоскуте с окружающими тканями. В исследование включено 315 пациентов, проспективно рандомизированных в группу эндоскопического (n=156) и открытого (n=159) выделения. Эндоскопическое выделение осуществлялось по оригинальной методике с использованием эндоскопической системы «Karl Storz», благодаря электрохирургическому инструменту «LigaSure» вена выделялась в блоке с окружающими тканями с минимизацией механического воздействия на венозный кондуит. Оценивались интраоперационные данные, клиническое течение послеоперационного периода, особенности раневого заживления, выраженность болевого синдрома и случаи нарушения кожной чувствительности. Эндоскопическое выделение большой подкожной вены в лоскуте с тканями отличается клинической безопасностью, приводит к сокращению частоты раневых осложнений, необходимости во вторичной хирургической обработке, амбулаторного долечивания и продолжительности пребывания в стационаре.

Ключевые слова: коронарное шунтирование, эндоскопическое выделение вены, no-touch, раневые осложнения.

IMMEDIATE RESULTS OF ENDOSCOPIC HARVESTING OF A LARGE SAPHENOUS VEIN IN A TISSUE FLAP

D.V. Manvelyan, Yu.Yu. Vechersky, V.V. Zatolokin

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

Abstract

An open harvest of the great saphenous vein in cardiovascular surgery involves strip incisions along the entire length of the conduit that is secreted and is the cause of the development of wound complications and persistent pain. This leads to the formation of gross scars, negatively affects the duration of rehabilitation and the length of stay in the hospital, patient satisfaction. Endoscopic harvesting of the great saphenous vein by reducing the

morbidity of the discharge significantly improved wound healing, cosmetic results and reduce the severity of pain. However, current publications indicate the negative impact of endoscopic vein harvesting on the functioning of shunts in the medium term after surgery. This is due to excessive mechanical manipulations and exposure to carbon dioxide during harvesting of the large saphenous vein by existing endoscopic systems. Harvesting veins in a flap with surrounding tissues, eliminating direct contact with a conduit ("no-touch"), allows to achieve optimal values of the structural integrity and functional viability of venous conduits, and, therefore, to improve the functioning of autovenous shunts in the long-term period after surgery. Therefore, the aim of this study was to develop and comprehensively evaluate the direct results of endoscopic harvesting of a large saphenous vein in a flap with surrounding tissues. The study included 315 patients prospectively randomized to the group of endoscopic (n=156) and open (n=159) harvests. Endoscopic harvesting was carried out according to the original method using the Karl Storz endoscopic system, thanks to the electrosurgical instrument "LigaSure" vein harvesting in a block with surrounding tissues with minimizing mechanical effects on the venous conduit. The intraoperative data, the clinical course of the postoperative period, the features of wound healing, the severity of pain and cases of impaired skin sensitivity were evaluated. Endoscopic harvesting of a large saphenous vein in a tissue flap is characterized by clinical safety, which leads to a reduction in the frequency of wound complications, the need for secondary surgical treatment, outpatient follow-up care and the length of hospital stay.

Key words: coronary artery bypass grafting, endoscopic vein harvesting, no-touch, wound complications.

Актуальность

Открытое выделение большой подкожной вены в сердечно-сосудистой хирургии в силу высокой травматичности является причиной развития раневых осложнений, стойкого болевого синдрома [1]. Это приводит к формированию грубых рубцов, негативно влияет на сроки реабилитации и продолжительность пребывания в стационаре, удовлетворенность пациентов. Появление эндоскопического выделения вены позволило значительно улучшить заживление ран, косметические результаты и уменьшить выраженность боли [2]. Однако имеющиеся на текущий момент данные свидетельствуют о негативном влиянии эндоскопического выделения на функционирование шунтов в сроки свыше 12 месяцев [3]. Вероятными причинами высокой частоты дисфункции эндоскопически выделенных шунтов являются избыточное механическое воздействие: тракция, сжатие и термическое повреждение и воздействие углекислого газа на вену при выделении существующими эндоскопическими системами [4]. Поэтому первостепенное значение имеет разработка как адекватного инструментария, так и воспроизводимой техники эндоскопического выделения, позволяющих минимизировать воздействие на венозный конduit и не требующих инсuffляции углекислого газа. Значимость минимизации механических манипуляций при выделении демонстрируют Souza и коллеги [5], которые показали, что выделение БПВ в лоскуте с тканями («no-touch»), исключаящее непосредственное воздействие на венозный конduit, улучшает морфофункциональное состояние венозного кондуита и показатели функционирования шунтов в долгосрочном периоде, которые становятся сопоставимыми с маммарокоронарными шунтами. Подтверждается это и в других исследованиях с применением щадящих методик [6].

Цель исследования – разработка и комплексная оценка непосредственных результатов эндоскопического выделения большой подкожной вены в лоскуте с окружающими тканями.

Материал и методы

В исследование включено 315 пациентов, проспективно рандомизированных в группу эндоскопического (n=156) и открытого (n=159) выделения. Группы были сопоставимы по полу, клиническим характеристикам и факторам риска раневых осложнений (сахарный диабет, атеросклероз сосудов нижних конечностей, курение, ожирение). Оценивались непосредственные результаты оперативного лечения в пределах периода госпитализации. Эндоскопическое выделение большой подкожной вены осуществлялось по оригинальной методике (патент № 2561001). Для этого использовалась эндоскопическая система «Karl Storz», ретрактор со встроенным эндоскопом с оптикой, клип-аппликатор, ножницы, а также биполярный электродиссектор «LigaSure» (Valleylab). Использование «LigaSure» позволяет коагулировать притоки диаметром до 7 мм в толще тканей, и в то же время конструкция диссектора обеспечивает минимальное распространение тепла со снижением термического воздействия на стенку. В контрольной группе применялся стандартный открытый способ выделения, которое осуществлялось рассечением мягких тканей на протяжении всей длины забираемого сосуда с выделением сосуда из окружающих тканей, лигированием боковых коллатералей и последующим послойным ушиванием раны.

Результаты

Время выделения венозных кондуитов в эндоскопической группе превышало таковое в группе открытого выделения, а скорость выделения БПВ в группе ОВВ была практически

в два раза больше. В то же время в группе ЭВВ требовалось гораздо меньше времени для ушивания послеоперационной раны и проверки вены, что было обусловлено отличием в длине разреза, необходимого для выделения вены. В конечном итоге общее время, которое складывалось из вышеуказанных отрезков, было меньше в группе ЭВВ (табл. 1). Выделение в лоскуте позволило сократить число повреждений коллатералей и стенки венозного кондуита, несмотря на то, что статистической значимости не достигло. Возврат стенокардии и периоперационный инфаркт миокарда отмечены в двух случаях в группе открытого выделения вены, статистической значимости не достигнуто. Остальные послеоперационные осложнения представлены в табл. 2.

Разработанный способ эндоскопического выделения БПВ способствовал снижению раневых осложнений, что соответствует общемировым трендам. Послеоперационные раневые осложнения встречались в 7,69 % случаев в группе эндоскопического выделения и в 56,96 % случаев открытого выделения. В обеих группах преобладали осложнения неинфекционного характера. Встречаемость и структура раневых осложнений представлена в табл. 3. Неврологические нарушения преобладали в группе открытого выделения. Группы отличались и по проявлениям болевого синдрома. Отмечалась некоторая интенсификация боли на 4-е сутки после операции, прежде всего это было связано с активизацией больных, к 7-м суткам боль значительно снижалась или даже купировалась. Однако наряду с этим прослеживались определенные тенденции. Во-первых, в группе ОВВ чаще встречались случаи умеренной и даже сильной боли ($p < 0.05$), во-вторых, болевой синдром в группе ОВВ носил более стойкий характер и к 7-м суткам сохранялся у значительной части пациентов ($p < 0.05$). В конечном итоге ЭВВ способствовало значимому снижению случаев вторичной хирургической обработки и времени пребывания в стационаре, что не могло принести определенный экономический эффект.

Выводы

1. Разработанный метод эндоскопического выделения большой подкожной вены в лоскуте с окружающими тканями при операциях коронарного шунтирования способствует снижению риска раневых осложнений, на госпитальном этапе не приводит к увеличению частоты возврата стенокардии, периоперационных инфарктов миокарда.
2. Ранняя мобилизация больных за счет уменьшения выраженности болевого синдрома, случаев невралгий в сочетании с превосходными косметическими результатами способствовали улучшению качества жизни и удовлетворенности пациентов.
3. Снижение количества койко-дней, необходимости повторных хирургических вмешательств и амбулаторного долечивания приносят определенную экономическую пользу.

Таблица 1

Интраоперационные параметры выделения

Параметр	ОВВ(n=159)	ЭВВ(n=156)	p
Время выделения кондуита, мин	18(15,9;20,4)	27,5(23;41)	<0,01
Время ушивания раны, мин	19,6(18,9;24,2)	5,3(3,7;6,6)	<0,01
Время проверки вены, мин	4,5(3,5;4,8)	1,5(1;2)	<0,01
Общее время выделения, мин	42,3(40,4;48,6)	33(28,6;48,0)	<0,01
Наличие надрывов/отрывов коллатералей	12 (7,55 %)	4 (2,56 %)	0,07
Повреждение стенки венозного кондуита	1 (0,63 %)	2 (1,28 %)	0,62

Таблица 2

Клиническое течение послеоперационного периода

Параметр	ОВВ(n=159)	ЭВВ(n=156)	p
Возврат стенокардии	2 (1,265 %)	0 (0 %)	0,50
Периоперационный ИМ	2 (1,26 %)	0 (0 %)	0,50
Пароксизмы ФП	15 (9,49 %)	12 (7,69 %)	0,71
ОНМК	1 (0,63 %)	3 (1,92 %)	0,37
Делирий	4 (2,53 %)	2 (1,29 %)	0,68
Обострение ХОБЛ	8 (5,06 %)	4 (2,56 %)	0,38
Пневмония	9 (5,7 %)	9 (5,81 %)	1

Таблица 3

Встречаемость и структура раневых осложнений

Параметр	ОВВ(n=159)	ЭВВ(n=156)	p
Гематомы	6 (3,78 %)	3 (1,92 %)	0,5
Лимфоррея	80 (50,63 %)	10 (6,41 %)	<0,01
Лимфоцеле	8 (5,063 %)	1 (0,64 %)	0,04
Инфильтрат мягких тканей	10 (6,33 %)	4 (2,56 %)	0,17
Краевой некроз кожи	29 (18,35 %)	1 (0,64 %)	<0,01
Диастаз краев раны	21 (13,29 %)	9 (5,77 %)	0,04
Инфекционные осложнения	2 (1,265 %)	1 (0,64 %)	0,5
Общее количество осложнений	90 (56,96 %)	12 (7,69 %)	<0,01
Вторичная хирургическая обработка	22 (13,92 %)	8 (5,13 %)	0,01
Послеоперационные койко-дни	12 (11;14)	12 (11;13)	0,04
Необходимость в амбулаторном долечивании	13 (8,23 %)	3 (1,93 %)	0,02
Лимфостатические отеки	72 (45,28 %)	19 (12,17 %)	<0,01
Гипестезии и анестезии	49 (32,45 %)	30 (19,23 %)	<0,01
Невралгии	12 (7,95 %)	1 (0,64 %)	<0,01

ЛИТЕРАТУРА

1. Athanasiou T., Aziz O., Skapinakis P., Perunovic B., Hart J., Crossman M.C., Gorgoulis V., Glenville B., Casula R. Leg wound infection after coronary artery bypass grafting: a meta-analysis comparing minimally invasive versus conventional vein harvesting. *Ann Thorac Surg.* 2003; Dec; 76(6): 21416. doi: 10.1016/s0003-4975(03)01435-8.
2. Belczak C.E., Tyska A.L., Godoy J.M., Ramos R.N., Belczak S.Q., Caffaro R.A. Clinical complications of limb undergone harvesting of great saphenous vein for coronary artery bypass grafting using bridge technique. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2009; Jan-Mar; 24(1): 68–72. doi: 10.1590/s0102-76382009000100013.
3. Li G., Zhang Y., Wu Z., Liu Z., Zheng J. Mid-term and long-term outcomes of endoscopic versus open vein harvesting for coronary artery bypass: A systematic review and meta-analysis. *Int J Surg.* 2019; Dec; 72:167–173. doi: 10.1016/j.ijsu.2019.11.003.
4. Bisleri G., Muneretto C. Endoscopic saphenous vein and radial harvest: state-of-the-art. *Curr Opin Cardiol.* 2015; Nov; 30(6): 624–8. doi: 10.1097/HCO.0000000000000231.
5. Souza D.S., Dashwood M.R., Tsui J.C., Filbey D., Bodin L., Johansson B., Borowiec J. Improved patency in vein grafts harvested with surrounding tissue: results of a randomized study using three harvesting techniques. *Ann Thorac Surg.* 2002; Apr; 73(4): 1189–95. doi: 10.1016/s0003-4975(02)03425-2.
6. Семагин А.А., Лукин О.П., Андреевских И.А. Особенности малотравматичной эксплантации большой подкожной вены бедра для коронарного шунтирования. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2017; 6(2): 32–39.

ВЕГЕТАТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НА ПРОБУ С АКТИВНЫМ ОРТОСТАЗОМ У ЛИЦ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА С НЕЙРОГЕННЫМИ ОБМОРОКАМИ

И.Д. Мартынов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», г. Новокузнецк, Россия

Аннотация

Цель исследования – изучить особенности вегетативной регуляции системной гемодинамики на пробу с активным ортостазом у лиц с нейрогенными обмороками в молодом возрасте, определить наиболее информативные критерии предрасположенности к возникновению обмороков. **Материал и методы.** Проведен анализ изменений различных показателей вариабельности ритма сердца (спектральных, нелинейных), а также показателей системной гемодинамики при выполнении активной ортостатической пробы у 48 пациентов с нейрогенными обмороками в возрасте от 18 до 30 лет. **Результаты.** У лиц с нейрогенными обмороками уже в молодом возрасте определяется нарушение симпатической вазомоторной регуляции, при выполнении активной ортостатической пробы проявляющееся снижением мощности низкочастотных колебаний вариабельности ритма сердца более чем на 50 % от исходных значений. Снижение тонического вагального влияния является универсальной приспособительной реакцией на пробу с активным ортостазом, позволяет усилить хронотропную функцию сердца; у лиц с нейрогенными обмороками позволяет сохранять относительное симпатическое преобладание, обе-

спечивая адекватный уровень системной гемодинамики. **Выводы.** По сравнению с распространенным тилт-тестом спектральный анализ вариабельности ритма сердца во время активной ортостатической пробы может быть более эффективен для выявления расстройств вегетативной регуляции у лиц с обмороками.

Ключевые слова: нейрогенные обмороки, вегетативные нарушения, вариабельность ритма сердца.

AUTONOMIC AND HEMODYNAMIC CHANGES TO A TEST WITH ACTIVE ORTHOSTASIS IN THE SUBJECTS OF A YOUNG AGE WITH NEUROGENIC SYNCOPE

I.D. Martynov

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

Abstract

The objectives of the research are to study the features of the autonomic regulation of hemodynamics on the test with active orthostasis in the subjects with neurogenic syncope at a young age, to determine the most informative criteria for predisposition to the occurrence of syncope. Material and methods. The analysis of the changes in various indices of heart rate variability (spectral, temporal, nonlinear), as well as the indices of systemic hemodynamics when performing an active orthostatic test in 48 patients with neurogenic syncope between the ages of 18 and 30 was carried out. Results and discussion. In the subjects with neurogenic syncope already at a young age impaired sympathetic vasomotor regulation is detected, when performing an active orthostatic test it manifests by a decrease in the power of low-frequency oscillations of heart rate variability by more than 50% from baseline values. The reduction of tonic vagal impact is a universal adaptive response to a test with active orthostasis, allows enhancing the chronotropic function of the heart; in the subjects with neurogenic syncope, it is possible to maintain the relative sympathetic predominance providing an adequate level of systemic hemodynamics. Compared to the common tilt-test, a spectral analysis of heart rate variability during an active orthostatic test may be more effective for detecting autonomic regulation disorders in the subjects with syncope.

Key words: neurogenic syncope, autonomic disorders, heart rate variability.

Актуальность

Синкопальные состояния являются одной из наиболее актуальных медико-социальных проблем в мире, привлекая к себе внимание врачей различных специальностей. Данные фремингемского исследования подтверждают высокую распространенность обмороков: количество обращений за неотложной помощью достигает 3,5 %, притом что 44 % больных с эпизодами потери сознания за медицинской помощью не обращались. Наиболее часто встречаются нейрогенные обмороки (НО), которые у лиц до 40 лет диагностируются в 51 % случаев [1]. У большинства пациентов НО начинались в подростковом и молодом возрасте, с высокой вероятностью повторения [2]. Обращает внимание тот факт, что в 30 % случаев причины обмороков не были выявлены, это обосновывает поиск новых стратегий обследования и диагностики [3]. В сравнении с рекомендуемым для обследования пациентов тилт-тестом активная ортостатическая проба (АОП) более физиологична, не требует специального оборудования, но менее чувствительна. Анализ вариабельности ритма сердца (ВРС) на этапах пробы позволит оценить состояние механизмов регуляции и компенсаторные реакции для поддержания адекватного уровня системной гемодинамики.

Цель исследования – изучение особенностей вегетативной регуляции на пробу с активным ортостазом у лиц с НО в молодом возрасте, определение наиболее информативных критериев предрасположенности к возникновению обмороков.

Материал и методы

Было обследовано 48 пациентов с НО в возрасте от 18 до 30 лет. Согласно возрастной классификации ВОЗ (2015), данный возраст соответствует молодому. Постановка диагноза выполнялась согласно рекомендациям по диагностике и лечению обмороков Европейского общества кардиологов (ESC, 2009). Средний возраст, рост и вес обследуемых пациентов составили 24,2 (0,85) года, 1,7 (0,2) м и 64 (2,7) кг соответственно.

Критериями исключения из исследования были: нарушения ритма сердца и внутри-сердечной проводимости, наличие искусственного водителя ритма сердца, прием бета-адреноблокаторов, снижающих точность и чувствительность методики.

Группа лиц с НО состояла из 26 женщин и 22 мужчин. На момент исследования все пациенты имели нормальное АД и не принимали каких-либо лекарственных средств, с момента последнего обморока прошло не менее трех дней. Для контроля использовалась группа здоровых обследуемых, которую составили 30 добровольцев (15 мужчин и 15 женщин), не предъявлявших жалоб и не имевших обмороков в анамнезе. Средний возраст, рост и вес в группе здоровых составили 23 (0,7) года, 1,7 (0,2) м, 64,7 (3,2) кг.

Оценка состояния механизмов регуляции проводилась различными методами анализа ВРС. 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-LowFrequency (VLF) – диапазон очень низкой частоты 0,004–0,08 Гц; LowFrequency (LF) – диапазон низкой частоты 0,09–0,16 Гц; HighFrequency (HF) – высокочастотные колебания 0,17–0,5 Гц. Для лиц молодого возраста нормальные показатели VLF находятся в диапазоне 30–130 $\text{mc}^2/\text{Гц}$, LF – в диапазоне 15–30 $\text{mc}^2/\text{Гц}$, HF – 15–35 $\text{mc}^2/\text{Гц}$. HF отражает активность парасимпатического отдела вегетативной нервной системы, колебания LF связаны с симпатическим вазомоторным влиянием, VLF – многокомпонентный показатель, включающий эрготропные влияния надсегментарных вегетативных центров [4].

Кроме того, в каждой кардиоинтервалограмме содержатся элементы нестационарности (фрактальные компоненты). Для их оценки использовался параметр нелинейной динамики DFA (detrendedfluctuationanalysis), позволяющий оценить вегетативный тонус, состояние эйготонии определяется в диапазоне 0,75–0,85, большие значения свидетельствуют о симпатикотонии [5].

Измеряли систолическое и диастолическое артериальное давление (САД и ДАД, мм рт. ст.), а также частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд./мин) при помощи автоматического тонометра.

Исследование проводилось в первой половине дня в тихой проветриваемой комнате. После предварительного десятиминутного отдыха в положении лежа на спине регистрировались пятиминутный участок кардиоритма, АД и ЧСС. Затем испытуемые самостоятельно быстро без задержки переходили в положение стоя. В ортостазе находились в течение 5 минут расслабленно, без напряжения мышц, в течение которых регистрировалась ВРС. Гемодинамические параметры были сопоставимы во времени между собой и фиксировались в первые 30 секунд от начала ортостаза и в конце пробы.

Добровольцы были проинформированы о протоколе исследования и дали письменное согласие на участие. Работа одобрена локальным этическим комитетом.

Данные были обработаны на персональном компьютере с использованием программы MS Excel 2003 и пакета статистических программ IBMSPSSStatistics 20. Проверку распределения на нормальность проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка. 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. Для всех тестов статистически достоверными считались различия, уровень значимости которых отвечал условию $p < 0,05$.

Результаты

В исходном положении лежа статистически значимые различия между группами определялись по спектральному показателю HF variability ритма сердца, который был повышен в группе лиц с обмороками (в среднем 49 $\text{mc}^2/\text{Гц}$), что свидетельствует об усилении парасимпатического влияния на кардиоритм. Показатель DFA в обеих группах находился в диапазоне значений, указывающих на эйготонию. Гемодинамические показатели соответствовали возрастной норме и не различались в исследуемых группах.

При выполнении ортостатической пробы ухудшения самочувствия и развития ортостатической гипотензии ни в одном случае не отмечалось. После перехода в положение стоя у лиц с НО наблюдалась депрессия ВРС во всех частотных диапазонах ($p < 0,05$); у здоровых обследуемых – увеличение мощности LF и уменьшение HF-колебаний, VLF значимо не изменялся.

Для всех обследуемых из группы пациентов с обмороками в анамнезе типичная реакция на ортостаз в виде снижения показателя LF спектра ВРС более чем на 50 % от исходных значений в положении лежа свидетельствует, что у больных с НО уже в молодом возрасте нарушена симпатическая вазомоторная регуляция.

Динамика изменений показателя HF variability ритма сердца на ортостаз в исследуемых группах была схожей, однако более выраженное снижение показателя парасимпатической активности у лиц с НО, более чем на 80 % от исходных значений в положении лежа ($p < 0,05$), позволяет сохранить относительное симпатическое преобладание. Нелинейный показатель DFA variability ритма сердца смещался в сторону симпатикотонии.

Снижение тонического вагального влияния на кардиоритм (показатель HF variability ритма сердца) в обеих группах во время ортопробы свидетельствует об универсальном приспособительном характере ответа через автономный контур регуляции [6]. При этом увеличение ЧСС у здоровых обследуемых менее выражено в сравнении с таковым у лиц с НО, несмотря на увеличение показателя симпатической активности LF в группе здоровых.

При увеличении ЧСС длительность сердечного цикла укорачивается, главным образом за счет диастолической паузы, поэтому длительность периода заполнения уменьшается и сокращение начинается при меньшей исходной длине мышечного волокна. Согласно закону Старлинга, это приводит к меньшей силе сокращений, и в этом случае лишь стимуляция симпатических волокон, которыми обильно снабжен миокард желудочков, позволяет значительно увеличить скорость и силу сокращений [7].

Снижение спектрального показателя VLF во время пробы у лиц с НО ($p < 0,05$) свидетельствует о снижении возможности центральной регуляции работы сердца. Кроме того, описаны влияния на колебания VLF ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, концентрации катехоламинов в плазме, участвующих в длительных компенсаторных реакциях у больных с нарушениями вегетативной регуляции [8,9].

Выводы

Характерной реакцией на пробу с активным ортостазом у пациентов с НО является снижение показателя LF спектра BPC более чем на 50 % от исходных значений в положении лежа. В обеих группах обследуемых наблюдается снижение показателя парасимпатической активности HF в ответ на ортостатическую пробу, вместе с тем более выраженное снижение тонического вагального влияния на сердце у лиц с НО позволяет создать относительное симпатическое преобладание и усилить хронотропную функцию. На фоне снижения во время ортостатической нагрузки у обследуемых пациентов с НО в анамнезе мощности VLF-колебаний, связанных с активностью центральных механизмов регуляции и нейрогуморальным влиянием на сердечную деятельность, автономный контур регуляции остается единственным механизмом, позволяющим сохранять достаточный уровень системного АД.

Таким образом, у больных с НО уже в молодом возрасте нарушается симпатическая вазомоторная регуляция. Спектральный анализ BPC во время активной ортостатической пробы может быть более полезен для выявления начальных расстройств вегетативной регуляции и оценки компенсаторных механизмов у пациентов с НО по сравнению с распространенным тилт-тестом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Brignole M., Moya A., de Lange F.J., Deharo J.C., Elliott P.M., Fanciulli A., Fedorowski A., Furlan R., Kenny R.A., Martin A., Probst V., Reed M.J., Rice C.P., Sutton R., Ungar A., van Dijk J.G.; ESC Scientific Document Group. 2018 ESC Guidelines for the diagnosis and management of syncope. *Eur Heart J.* 2018; Jun 1; 39(21): 1883–1948. doi: 10.1093/eurheartj/ehy037.
2. Colman N., Nahm K., Ganzeboom K.S., Shen W.K., Reitsma J., Linzer M., Wieling W., Kaufmann H. Epidemiology of reflex syncope. *Clin Auton Res.* 2004; Oct; 14 Suppl 1: 9–17. doi: 10.1007/s10286-004-1003-3.
3. Task Force for the Diagnosis and Management of Syncope; European Society of Cardiology (ESC); European Heart Rhythm Association (EHRA); Heart Failure Association (HFA); Heart Rhythm Society (HRS), Moya A., Sutton R., Ammirati F., Blanc J.J., Brignole M., Dahm J.B., Deharo J.C., Gajek J., Gjesdal K., Krahm A., Massin M., Pepi M., Pezawas T., Ruiz Granell R., Sarasin F., Ungar A., van Dijk J.G., Walma E.P., Wieling W. Guidelines for the diagnosis and management of syncope (version 2009). *Eur Heart J.* 2009; Nov; 30(21): 2631–71. doi: 10.1093/eurheartj/ehp298.
4. Баевский Р.М., Иванов Г.Г., Чирейкин Л.В., Гаврилушкин А.П., Довгалецкий П.Я., Кукушкин Ю.А., Семенов А.В. Анализ variability сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем. Часть 1. *Вестник аритмологии.* 2002; 24: 65–86.
5. Флейшман А.Н., Мартынов И.Д. Определение структуры медленных колебаний сердечного ритма и анализ ее компонентов на фоне функциональных нагрузок. Социально-гигиенические подходы в решении фундаментальных и прикладных проблем современной медицины: Материалы научно-практической конференции с международным участием «Гигиена, организация здравоохранения и профпатология» и семинара «Актуальные вопросы современной профпатологии». 2014: 186–189.
6. Мартынов И.Д. Ранняя диагностика нарушений регуляции гемодинамики в ортостазе. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* 2016; 1(5(111)): 30–34.
7. Чазов Е.И. Руководство по кардиологии: в 4 т. Т. 1. Физиология и патофизиология сердечно-сосудистой системы. М., 2014. 395 с.
8. Михайлов В.М. Variability ритма сердца. Опыт практического применения. Иваново, 2000. 200 с.
9. Belmin J., Abderrhamane M., Medjahed S., Sibony-Prat J., Bruhat A., Bojic N., Marquet T. Variability of Blood Pressure Response to Orthostatism and Reproducibility of the Diagnosis of Orthostatic Hypotension in Elderly Subjects. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2000; Nov; 55(11): M667–71. doi: 10.1093/gerona/55.11.m667.

КЛЮЧЕВЫЕ ЗВЕНЬЯ ПАТОГЕНЕЗА ТОКСИЧЕСКОЙ МИОКАРДИОПАТИИ

Н.А. Мышкина, М.В. Ширманкина, Е.С. Ларькова, Л.Ю. Кортякова,
О.А. Сайгина, Е.В. Радайкина

ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Саранск, Россия

Аннотация

В экспериментальном исследовании на беспородных собаках, которым под наркозом моделировали гнойный перитонит, показано, что развитие эндотоксикоза перитонеального генеза вызывает значительные нарушения метаболизма и функции сердца с развитием миокардиопатии. Ключевую роль в развитии токсической миокардиопатии играет повреждение мембран и расстройство процессов, реализующихся с их участием. К числу основных среди них относят количественную и качественную модификацию фосфолипидов мембран кардиоцитов.

Ключевые слова: эндогенная интоксикация; перитонит; миокардиопатия.

KEY ELEMENTS OF TOXIC MYOCARDIOPATHY PATHOGENESIS

N.A. Mishkina, M.V. Shirmankina, E.S. Larkova, L.Yu. Kortyakova,
O.A. Saigina, E.V. Radaykina

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «National Research Ogarev Mordovia State University», Saransk, Russia

Abstract

By experimental studies on dogs, which under anesthesia modeled purulent peritonitis, showed that the development of endotoxemia of peritoneal genesis is accompanied by a significant disruption of the functional metabolic status of the myocardium with the development of toxic cardiomyopathy. The most important role in the development of toxic cardiomyopathy is played by membrane-destructive processes, which are based on quantitative and qualitative modification of the lipid spectrum of cardiac cell membranes.

Key words: endogenous intoxication; peritonitis; cardiomyopathy.

Актуальность

В последнее время отмечается возрастание интереса к изучению роли эндотоксикоза в патогенезе различных заболеваний. При эндогенной интоксикации (ЭИ) отмечается полиорганность токсических изменений, что проявляется возникновением респираторного дистресс-синдрома, токсического повреждения миокарда, печеночно-почечной недостаточности, поражения желудочно-кишечного тракта, неврологических нарушений [1,2]. Кардиальная патология – это осложнение многих заболеваний, в том числе и хирургических, которые сопровождаются синдромом эндогенной интоксикации (ЭИ) [3]. Данные литературы не позволяют однозначно судить об универсальных механизмах кардиотоксических повреждений, обусловленных ЭИ [4,5].

Цель исследования – выявить ключевые звенья патогенеза токсической миокардиопатии в условиях ЭИ при перитоните.

Материал и методы

Проведены опыты на 24 взрослых беспородных собаках, которым в условиях тиопентал-натриевого наркоза в брюшную полость вводили 20 % каловую смесь собак (из расчета 0,5 мл/кг) (Власов А.П., 1991). Выполняли срединную лапаротомию через сутки после моделирования гнойного перитонита. Под наркозом животным производили релапаротомию, торакотомию, забор крови из бедренной и коронарных вен путем пункции, биопсию тканей левого желудочка сердца (1, 3, 5-е сутки). В послеоперационном периоде животным про-

водили антибактериальную и инфузионную терапию. Содержание молекул средней массы (МСМ) определяли спектрофотометрическим методом. Интраоперационно регистрацию окислительно-восстановительного потенциала для изучения электрогенеза тканей миокарда осуществляли на универсальном ионметре ЭВ-74. Коэффициент диффузии кислорода в тканях миокарда оценивали на основе учета темпа падения диффузного тока восстановления. Проводили определение интенсивности процесса перекисного окисления липидов тканей миокарда: диеновые конъюгаты (ДК) и уровень малонового диальдегида (МДА) оценивали спектрофотометрическим методом, активность супероксиддисмутазы (СОД) – в реакции с нитросиним тетразолием; определили активность фосфолипазы А2 (ФЛА2). Выраженность гипоксии тканей миокарда определяли по уровню молочной (МК) и пировиноградной кислот (ПВК). Электрокардиограмму (ЭКГ) регистрировали в стандартных отведениях на электрокардиографе ЭК ЭТ-01-«Р-Д».

Результаты

Синдром ЭИ развивался у животных при моделировании гнойного перитонита в течение первых суток. В последующие двое суток, несмотря на применение инфузионной и антибактериальной терапии, явления ЭИ продолжали прогрессировать. Уровень токсических продуктов гидрофильной природы (МСМ280 и МСМ254) в динамике болезни был повышен на 169,3–236,7 % по сравнению с нормой. Отмечены такие изменения микроструктуры ткани сердца, как возникновение белковой, липидной, вакуольной дистрофии, атрофии кардиомиоцитов, лимфогистиоцитарной инфильтрации стромы миокарда, некроза отдельных кардиомиоцитов, а также микроциркуляторных расстройств. Важным инициирующим патогенетическим звеном различных заболеваний является расстройство обмена липидов [6,7]. В миокарде возникли изменения показателей липидного обмена: уменьшение уровня эфиров холестерина на 17,5 % ($p<0,01$) и доли суммарных фосфолипидов на 11,7 % ($p<0,01$) по сравнению с нормой. Отмечается увеличение уровня моноацилглицерола (МАГ) на 17,8 % ($p<0,05$), диацилглицерола (ДАГ) на 12,0 % ($p<0,01$), триацилглицерола (ТАГ) на 11,6 % ($p<0,05$) и свободных жирных кислот (СЖК) на 19,1 % ($p<0,01$), значительный рост доли лизофосфолипидов (ЛФЛ) на 312,9 % ($p<0,001$) по сравнению с нормой. В миокарде через трое суток после создания модели перитонита выявлено увеличение содержания ДК и МДА на 52,2–104,3 % ($p<0,05$) и на 50,6–56,9 % ($p<0,05$) по сравнению с нормой соответственно. Активность фосфолипазы А2 увеличивалась на 92,3–197,6 % ($p<0,05$), при этом активность СОД снижалась на 48,8–50,7 % ($p<0,05$). Отмечается увеличение уровня МАГ на 98,2 % и 87,7 % ($p<0,001$); ДАГ на 15,5 % и 30,6 % ($p<0,001$); СЖК на 121,6 % и 169,8 % ($p<0,001$); ЛФЛ на 445,2 % и 367,7 % ($p<0,001$) по сравнению с нормой через трое и пять суток после операции соответственно. Увеличение в тканях левого желудочка содержания МК и ПКВ на 127,1–167,4 и 147,8–456,5 % ($p<0,05$) соответственно по сравнению с исходными данными подтверждает развитие тканевой гипоксии сердца (рис. 1).

Отмечается падение окислительно-восстановительного потенциала, уменьшение коэффициента диффузии кислорода, повышение продукции капиллярного фильтрата и белка, также зарегистрировано увеличение кровенаполнения миокарда. На фоне ЭИ возникают изменения интервалов ЭКГ: уменьшение длительности RR, PQ, QT, также выявлено уменьшение амплитуды зубцов S и T и увеличение частоты сердечных сокращений. Амплитуда зубца Q возрастала на 38,4–116,5 % ($p<0,05$) (рис. 2); также у 75 % животных регистрировались нарушения ритма сердца: наджелудочковая экстрасистола, реже – желудочковая бигеминия, а у 25 % были зарегистрированы и ишемические изменения на ЭКГ в виде депрессии сегмента ST.

Выводы

ЭИ перитонеального генеза сопровождалась изменением микроструктуры миокарда, которое можно охарактеризовать как дисметаболическая кардиомиопатия. Отмечается тесная корреляционная связь ($r=0,70–0,99$, $p<0,05$) ЭИ с изменениями состава основных фракций липидов тканей миокарда, интенсивностью перекисного окисления мембранных липидов и активностью фосфолипазы А2, а также электрической активностью миокарда.

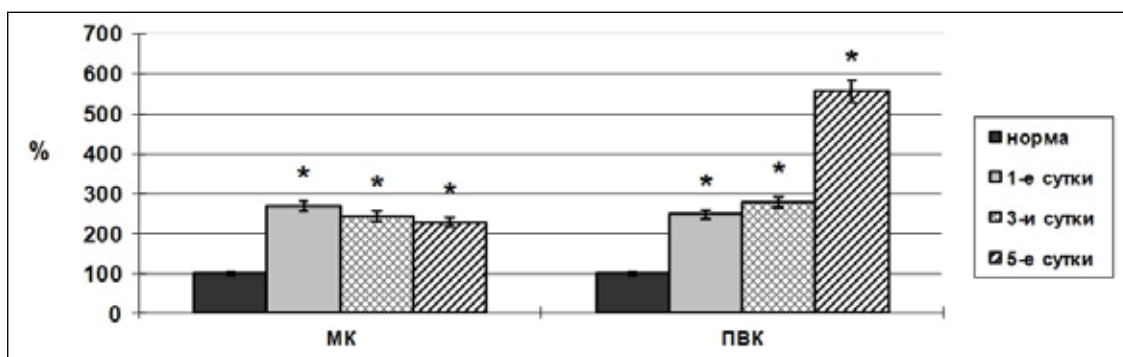


Рис. 1. Динамика изменений содержания МК и ПБК в миокарде на фоне инфузионной терапии (* – достоверность отличия по отношению к исходному при $p < 0,05$)

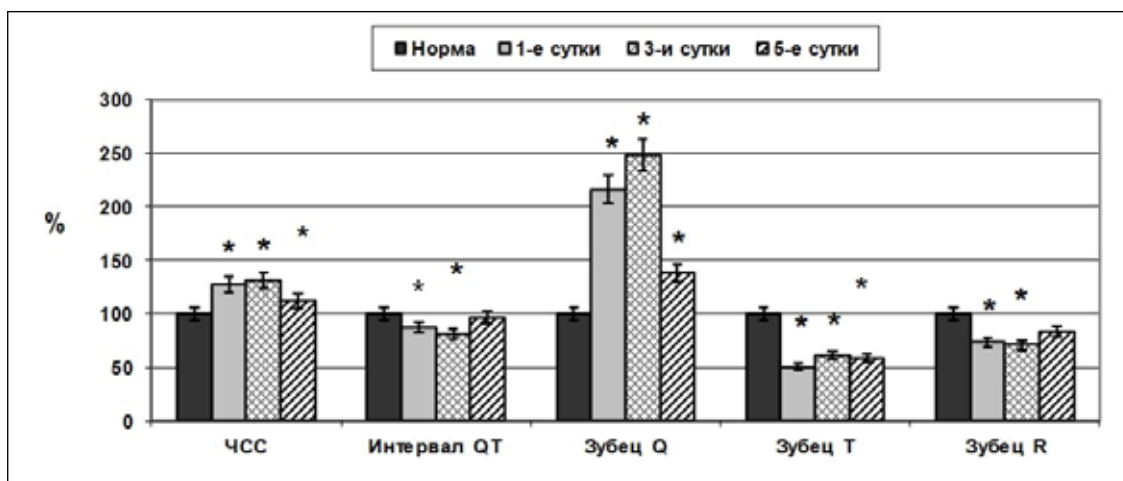


Рис. 2. Динамика изменений ЧСС, высоты зубцов и длительности интервалов ЭКГ в условиях инфузионной терапии (* – достоверность отличия по отношению к исходному при $p < 0,05$)

ЛИТЕРАТУРА

1. Лецанкина Н.Ю. Фосфолипидная дестабилизация в прогрессировании кардиальных расстройств при эндотоксикозе: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2010. 43 с.
2. Меркушкина И.В. Коррекция метаболических нарушений головного мозга при эндотоксикозе: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Саранск, 2009. 38 с.
3. Абдуллаев Э.Г., Бабышин В.В., Новиков Ю.А., Гусев А.В., Малахов Н.Б. Перитонит. Владимир: Изд-во ВлГУ. 2014. 144 с.
4. Емельянов С.И., Брискин Б.С., Демидов Д.А., Костюченко М.В., Демидова Т.И. Хирургический эндотоксикоз как проблема клинической гастроэнтерологии. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2010; 7: 67–73.
5. Смирнов В.В., Розанов В.Е., Болотников А.И., Пискалов В.П., Хайкин И.В. Эндогенная интоксикация в механизмах формирования патологии сердца при тяжелой сочетанной травме. Современное состояние естественных и технических наук. 2014; 15: 120–126.
6. Власов А.П., Тарасова Т.В., Трофимов В.А., Саушев И.В., Начкина Э.И., Григорьева Т.И., Лецанкина Н.Ю. Мембраноде-стабилизирующие явления при токсическом повреждении легких и сердца и их коррекция. М.: Наука, 2010. 328 с.
7. Савельев В.С., Петухов В.А. Липидный дистресс-синдром: Руководство для врачей. М.: МАКС Пресс, 2010. 660 с.

РОЛЬ ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-1 В ПРОГНОЗИРОВАНИИ РАЗВИТИЯ РАННЕГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ МИОКАРДА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ С ПОДЪЕМОМ СЕГМЕНТА ST

В.Е. Секисова, А.С. Воробьев, Т.О. Симонян

БУ ВО Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Окружной кардиологический диспансер
«Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии», г. Сургут, Россия

Аннотация

В настоящей работе изучается определение уровня тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (TIMP-1) в качестве предиктора развития раннего ремоделирования миокарда левого желудочка (ЛЖ) у пациентов с острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST (ОКСнСТ). Проведенное исследование показало, что развитие раннего ремоделирования миокарда ЛЖ отчетливо коррелирует с повышенным уровнем TIMP-1 при поступлении в приемное отделение. Также был определен пороговый уровень TIMP-1 (144,0 нг/мл), при превышении которого риск развития раннего ремоделирования миокарда ЛЖ повышался в 3,33 раза по сравнению с группой, у которой данный биомаркер не превышал указанных значений. Таким образом, повышение концентрации TIMP-1 в сыворотке крови, выявленное на этапе поступления в приемное отделение, является достоверным фактором риска развития раннего ремоделирования миокарда ЛЖ у пациентов с ОКСнСТ.

Ключевые слова: острый коронарный синдром, подъем сегмента ST, ремоделирование миокарда, TIMP-1, прогнозирование.

THE ROLE OF TISSUE INHIBITOR OF METALLOPROTEINASE-1 IN PREDICTING THE DEVELOPMENT OF EARLY MYOCARDIAL REMODELING IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME WITH ST SEGMENT ELEVATION

V.E. Sekisova, A.S. Vorobev, T.O. Simonyan

District Cardiology Clinic Center of Diagnostics and Cardiovascular Surgery, Surgut, Russia

Abstract

In this work, we study the determination of the level of a tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) as a predictor of the development of early left ventricular (LV) myocardial remodeling in patients with ST-segment elevation acute coronary syndrome (STEACS). The study showed that the development of early LV myocardial remodeling clearly correlates with an increased level of TIMP-1 in the admission department. The TIMP-1 threshold level was also determined (144.0 ng / ml), above which the risk of developing early LV myocardial remodeling increased by 3.33 times, compared with the group in which this biomarker did not exceed the indicated values. Thus, an increase in the concentration of TIMP-1 in serum, revealed at the stage the admission department, is a reliable risk factor for the development of early LV myocardial remodeling in patients with STEACS.

Key words: acute coronary syndrome, ST segment elevation, myocardial remodeling, TIMP-1, prediction.

Актуальность

Развитие хронической сердечной недостаточности (ХСН) у пациентов после ОКСнСТ ассоциировано с неблагоприятным прогнозом. Важным предиктором развития ХСН у данной группы пациентов является раннее ремоделирование миокарда ЛЖ [1]. Таким образом, представляется целесообразным исследование биомаркеров, которые на ранних этапах позволяют прогнозировать развитие ремоделирования миокарда ЛЖ. В последнее время все большее значение приобретают исследования маркеров состояния внеклеточного матрикса миокарда, в частности тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (TIMP-1), как предикторов развития ремоделирования миокарда ЛЖ [1–4]. Следовательно, более детальное изучение ассоциации уровня TIMP-1 с эхокардиографическими показателями раннего ремоделирования ЛЖ представляется весьма актуальным.

Цель работы – оценка степени выраженности связи уровня сывороточного TIMP-1 и показателей раннего ремоделирования миокарда ЛЖ у пациентов с ОКСнСТ, а также определение клиничко-прогностической значимости данного биомаркера.

Материал и методы

С 2014 по 2017 г. на базе Центра диагностики и сердечно-сосудистой хирургии г. Сургута было проведено проспективное клиническое исследование. В группу наблюдения было включено 38 пациентов с ОИМнСТ в возрасте 64,5±8,57 лет. При поступлении в приемное отделение у них однократно был определен уровень сывороточного TIMP-1. Лабораторный анализ был проведен с помощью иммуноферментной тест-системы «Human TIMP-1 ELISA

kit» («Thermo Fisher Scientific», США). Референсное значение TIMP-1, согласно инструкции, составило 92–116 нг/мл. Также всем пациентам было проведено эхокардиографическое исследование при поступлении и через 1 мес. При этом в динамике оценивались показатели ремоделирования миокарда ЛЖ. Развитие ремоделирования диагностируется при наличии хотя бы одного из признаков: снижения фракции выброса ЛЖ (ФВ ЛЖ) на 10 % и более от исходного уровня, увеличения индекса конечно-систолического объема (иКСО) на 20 % и более от исходного уровня, увеличения индекса конечно-диастолического объема (иКДО) на 20 % и более от исходного уровня [5,6]. В настоящей работе мы оценивали ремоделирование миокарда по двум показателям: Δ ФВ ЛЖ и Δ иКСО. Исходная систолическая дисфункция ЛЖ (ФВ ЛЖ менее 40 %) являлась критерием исключения. Все пациенты после обследования в условиях приемного отделения были транспортированы в отделение рентгенохирургических методов диагностики и лечения, где им было выполнено чрескожное коронарное вмешательство со стентированием инфаркт-зависимой артерии. На всех этапах лечения, включая догоспитальный, стационарный и амбулаторный, все пациенты получали стандартную базисную медикаментозную терапию.

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью *t*-теста Стьюдента. Для выявления направления и силы связи между признаками использовали корреляционный анализ по Пирсону. Уровни значимости (p) < 0,05 считали статистически достоверными. Точность исследуемых лабораторных методов прогнозирования развития ремоделирования миокарда ЛЖ оценивали с помощью анализа характеристических кривых обнаружения (receiver operating curve analysis) с вычислением показателей чувствительности, специфичности, отношения правдоподобия (likelihood ratio), площади под кривой (area under curve) и определением величины порогового значения (cut-off value) для сывороточного уровня TIMP-1.

Результаты

В ходе динамического наблюдения развитие систолической дисфункции (снижение Δ ФВ ЛЖ ≥ 10 % от исходного) установлено у 17 пациентов, развитие дилатации ЛЖ (увеличение Δ иКСО ≥ 20 % от исходного) у 18 пациентов. В зависимости от полученных данных пациенты были разделены на 2 группы: в группу 1 ($n=20$) вошли лица без достоверных признаков раннего ремоделирования ЛЖ, во вторую группу ($n=18$) вошли пациенты, у которых развилось раннее ремоделирование миокарда. На рис. 1 показаны уровни TIMP-1, определенные у обеих групп исследуемых.

По результатам корреляционного анализа у пациентов 1 группы не выявлена статистически значимая связь сывороточного уровня TIMP-1 с показателями раннего ремоделирования миокарда, тогда как у пациентов 2 группы выявлена достоверная прямая связь между содержанием TIMP-1 в сыворотке крови и маркерами дилатации ЛЖ (Δ иКСО ЛЖ), а также обратная связь средней силы между содержанием TIMP-1 и Δ ФВ ЛЖ (табл. 1).

Для определения порогового уровня сывороточного TIMP-1, который позволил бы прогнозировать высокий риск развития раннего ремоделирования миокарда ЛЖ, был проведен ROC-анализ [7–9]. По его результатам, с учетом оптимальных параметров чувствительности и специфичности, пороговый уровень TIMP-1 равнялся 144 нг/мл (рис. 2).

При этом чувствительность данного параметра составляла 83,3 %, специфичность – 75 %, величина отношения правдоподобия – 3,33. Согласно рис. 2 значение площади под кривой для модели TIMP-1 составило 0,78. В соответствии с рекомендациями экспертной шкалы для значений площади под кривой [10] определенная в данном исследовании величина соответствует средневысокому качеству прогностической модели.

Выводы

Таким образом, у группы пациентов, в которой были выявлены признаки развития раннего ремоделирования миокарда ЛЖ, определялись достоверно более высокие уровни TIMP-1 при поступлении в сравнении с группой пациентов, у которых признаков ремоделирования миокарда не было. Было определено пороговое значение TIMP-1 (144 нг/л), при превышении которого риск развития ремоделирования миокарда возрастает в 3,33 раза в сравнении с группой, в которой уровни TIMP-1 не превышали данного значения. Следовательно, пороговое значение данного биомаркера, определяемое на этапе приемного отделения у пациентов с ОКСпСТ, может являться критерием выделения пациентов в группу высокого риска неблагоприятного прогноза.

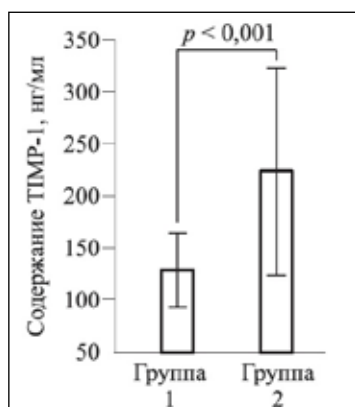


Рис. 1. Содержание TIMP-1 в сыворотке крови пациентов в зависимости от развития признаков раннего ремоделирования ЛЖ

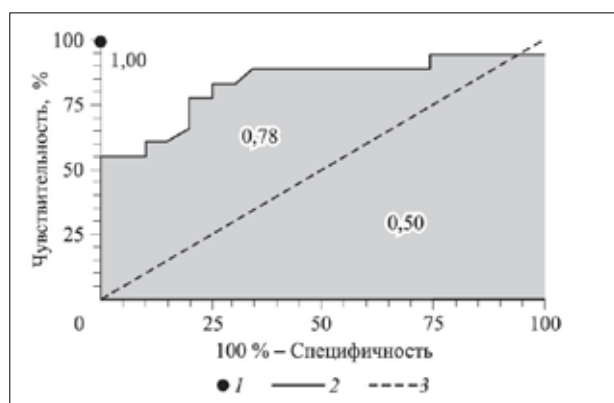


Рис. 2. Характеристика прогностической модели с использованием показателя TIMP-1. 1 – «идеальная модель»; 2 – модель TIMP-1; 3 – «бесполезная» модель

Таблица 1

Корреляционные связи TIMP-1 с эхокардиографическими показателями раннего ремоделирования ЛЖ

TIMP-1	Показатель раннего ремоделирования ЛЖ			
	ДиКСО		ΔФВ ЛЖ	
	r	p	r	p
Все пациенты	0,69	<0,001	– 0,56	<0,001
Группа 1	0,44	0,053	– 0,10	0,823
Группа 2	0,74	<0,001	– 0,59	0,002

ЛИТЕРАТУРА

- Jordán A., Roldán V., García M., Monmeneu J., de Burgos F.G., Lip G.Y., Marin F. Matrix metalloproteinase-1 and its inhibitor, TIMP-1, in systolic heart failure: relation to functional data and prognosis. J Intern Med. 2007; Sep; 262(3): 385–92. doi: 10.1111/j.1365-2796.2007.01823.x.
- Kelly D., Khan S.Q., Thompson M., Cockerill G., Ng L.L., Samani N., Squire I.B. Plasma tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-9: novel indicators of left ventricular remodelling and prognosis after acute myocardial infarction. Eur Heart J. 2008; Sep; 29(17): 2116–24. doi: 10.1093/eurheartj/ehn315.
- West M.J., Nestel P.J., Kirby A.C., Schnabel R., Sullivan D., Simes R.J., Pollicino C., Lubos E., Münzel T.F., White H.D., Tonkin A.M., Bickel C., Tiret L., Blankenberg S.; LIPID Study Investigators. The value of N-terminal fragment of brain natriuretic peptide and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 levels as predictors of cardiovascular outcome in the LIPID study. Eur Heart J. 2008; Apr; 29(7): 923–31. doi: 10.1093/eurheartj/ehn007.
- Nagase H., Visse R., Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. Cardiovasc Res. 2006; Feb 15; 69(3): 562–73. doi: 10.1016/j.cardiores.2005.12.002.
- Frantz S., Störk S., Eichthaler M., Ertl G., Bauersachs J., Angermann C.E. Tissue inhibitor of metalloproteinases levels in patients with chronic heart failure: an independent predictor of mortality. Eur J Heart Fail. 2008; Apr; 10(4): 388–95. doi: 10.1016/j.ejheart.2008.02.015.
- Sundström J., Evans J.C., Benjamin E.J., Levy D., Larson M.G., Sawyer D.B., Siwik D.A., Colucci W.S., Wilson P.W., Vasan R.S. Relations of plasma total TIMP-1 levels to cardiovascular risk factors and echocardiographic measures: the Framingham heart study. Eur Heart J. 2004; Sep; 25(17): 1509–16. doi: 10.1016/j.ehj.2004.05.029.
- Vanhoutte D., Schellings M., Pinto Y., Heymans S. Relevance of matrix metalloproteinases and their inhibitors after myocardial infarction: a temporal and spatial window. Cardiovasc Res. 2006; Feb 15; 69(3): 604–13. doi: 10.1016/j.cardiores.2005.10.002.
- Hirohata S., Kusachi S., Murakami M., Murakami T., Sano I., Watanabe T., Komatsubara I., Kondo J., Tsuji T. Time dependent alterations of serum matrix metalloproteinase-1 and metalloproteinase-1 tissue inhibitor after successful reperfusion of acute myocardial infarction. Heart. 1997; Sep; 78(3): 278–84. doi: 10.1136/hrt.78.3.278.

9. Zannad F, Rossignol P, Iraqi W. Extracellular matrix fibrotic markers in heart failure. *Heart Fail Rev.* 2010; Jul; 15(4): 319–29. doi: 10.1007/s10741-009-9143-0.

10. Lubos E., Schnabel R., Rupprecht H.J., Bickel C., Messow C.M., Prigge S., Cambien F., Tiret L., Münzel T., Blankenberg S. Prognostic value of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 for cardiovascular death among patients with cardiovascular disease: results from the AtheroGene study. *Eur Heart J.* 2006; Jan; 27(2): 150–6. doi: 10.1093/eurheartj/ehi582.

ВАРИАНТЫ ГИПОТЕРМИИ ПРИ ОПЕРАЦИИ HEMIARCH

Э.Л. Сондуев

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

Аннотация

Цель – в сравнительном аспекте оценить эффективность и безопасность реконструкции восходящей аорты и дуги по методике Hemiarch, выполненной в условиях «умеренной» (25–28 °С) и «легкой» (29–30 °С) гипотермии с антеградной перфузией головного мозга. **Материал и методы.** В исследование включено 112 пациентов с аневризмой восходящего отдела аорты, которым в плановом порядке было выполнено протезирование восходящей аорты по типу Hemiarch в условиях гипотермического циркуляторного ареста с антеградной перфузией головного мозга. В соответствии с проводимым температурным режимом все пациенты были разделены на две сопоставимые группы: 1 группа (n=36) – пациенты, прооперированные в условиях легкой гипотермии (29–31 °С), 2 группа (n=76) – пациенты, прооперированные в условиях умеренной гипотермии (25–28 °С). **Результаты.** Сравнительный анализ интраоперационных данных между группами пациентов легкой и умеренной гипотермии выявил достоверное различие по продолжительности искусственного кровообращения (107 [99; 145] мин против 125 [108,5; 170] мин, $p=0,006$) и длительности операции (240 [200; 275] мин против 275 [240; 330] мин, $p=0,0007$). У пациентов группы легкой гипотермии по сравнению с пациентами группы «умеренной» гипотермии была отмечена меньшая частота реоперации по поводу кровотечения (2,7 % против 5,2 %, $p=0,572$), уменьшение объема трансфузии компонентов крови: СЗП, эритроцитарной и тромбоцитарной массы ($p<0,05$). Полиорганная недостаточность по 1 (1,1 %) случаю в обеих группах ($p=0,457$). В 1(3,3 %) случае потребовался гемодиализ, в группе «легкая» гипотермия. Не было случаев развития мезентериальных осложнений ни у одного из пациентов. Госпитальная летальность не имела значимых межгрупповых различий ($p=0,541$). **Выводы.** Аортальная реконструкция по типу Hemiarch в условиях легкой гипотермии с антеградной перфузией головного мозга безопасна в отношении развития послеоперационных осложнений (геморрагических, почечных, мезентериальных) в интра- и раннем послеоперационном периоде и имеет сопоставимые результаты с хирургической реконструкцией в условиях умеренной гипотермии.

Ключевые слова: грудная аорта, гипотермия, полудуга, Hemiarch.

HYPOTHERMIA VARIANT FOR HEMIARCH SURGERY

E.L. Sonduev

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

Abstract

Aim: in the comparative aspect, to evaluate the effectiveness and safety of the reconstruction of the ascending aorta and arch using the Hemiarch method performed under conditions of moderate (25–28 °C) and light (29–30 °C) hypothermia with antegrade brain perfusion. **Materials and Methods.** The study included 112 patients with ascending aortic aneurysm who underwent Hemiarch-type ascending aortic prosthetics under hypothermic circulatory arrest with antegrade brain perfusion. In accordance with the conducted temperature regime, all patients were divided into two comparable groups: group 1 (n=36) – patients operated under conditions of mild hypothermia (29–31 °C), group 2 (n=76) – patients operated under conditions of moderate hypothermia (25–28 °C). **Results.** Comparative analysis of intraoperative data between groups of patients with mild and moderate hypothermia revealed a significant difference in the duration of artificial blood circulation (107 [99; 145] min vs. 125 [108.5; 170] min, $p=0.006$) and the duration of surgery (240 [200; 275] min vs. 275 [240; 330] min, $p=0.0007$). In patients with mild hypothermia, compared with patients with “moderate” hypothermia, there was a lower rate of re-operation for bleeding (2.7% vs. 5.2%, $p=0.572$), and a decrease in the volume

of transfusion of blood components: SPP, erythrocyte and platelet mass (P0, 05). Multiple organ failure in 1 (1.1%) case in both groups ($p=0.457$). In 1 (3.3%) case, hemodialysis was required, in the "light" hypothermia group. There were no cases of development mesenteric complications none of the patients. Hospital mortality had no significant intergroup differences ($p=0.541$). Conclusions. Aortic hemiarch reconstruction in conditions of mild hypothermia with antegrade brain perfusion is safe for the development of postoperative complications (hemorrhagic, renal, mesenteric) in the intra- and early postoperative period and has comparable results with surgical reconstruction in conditions of moderate hypothermia.

Key words: thoracic aorta, hypothermia, hemiarch.

Актуальность

Гипотермическая защита организма является стандартным подходом при операциях на дуге аорты [1–3]. Улучшение техники операции, методов органопroteкции послужили предпосылками к возможному повышению температурного режима гипотермии [4,5]. Некоторые авторы сообщают об успешных хирургических результатах как при легкой, так и при умеренной системной гипотермии [6,7]. Однако до сих пор нет регламентирующих стандартизованных принципов в отношении уровня гипотермии, которая должна быть достигнута к моменту циркуляторного ареста.

Цель исследования – в сравнительном аспекте оценить эффективность и безопасность реконструкции восходящей аорты и дуги по методике Hemiarch, выполненной в условиях «умеренной» (25–28 °C) и «легкой» (29–30 °C) гипотермии с антеградной перфузией головного мозга.

Материал и методы

В исследование включено 112 пациентов с аневризмой восходящего отдела аорты, которым в плановом порядке было выполнено протезирование восходящей аорты по типу Hemiarch в условиях гипотермического циркуляторного ареста с унилатеральной антеградной перфузией головного мозга.

В соответствии с уровнями проводимой гипотермии все пациенты были разделены на две группы. I группа – 36 пациентов, прооперированные в условиях легкой гипотермии (29–31 °C), II группа – 76 пациентов, прооперированные в условиях умеренной гипотермии (25–28 °C). Пациенты обеих групп были сопоставимы по основным клиническим характеристикам, средний возраст больных в обеих группах составил $60 \pm 13,5$ лет, мужской пол преобладал в обеих группах. Более чем у 66 % пациентов была выявлена артериальная гипертензия как сопутствующее заболевание.

Результаты

При сравнении временных характеристик операции было отмечено, что продолжительность искусственного кровообращения ($p=0,006$) и всей операции ($p=0,0007$) была значимо короче в группе легкой гипотермии при сопоставимой длительности циркуляторного и сердечного ареста (табл. 1).

Объем кровопотери по дренажам за сутки у анализируемых групп пациентов не имел статистически значимого различия. Так в группе легкой гипотермии объем дренажной кровопотери составил 300 [250; 400] мл, в группе умеренной – 350 [250; 550] мл ($p=0,696$). При этом частота рестернотомии по поводу развившегося кровотечения в первые сутки была выше в группе с умеренной гипотермией по сравнению с группой легкой гипотермии (5,2 % и 2,7 %). Однако достоверно значимой статистической разницы достигнуто не было ($p=0,572$).

В то же время были выявлены значимые различия по частоте трансфузии компонентов крови. В группе легкой гипотермии переливание свежзамороженной плазмы, эритроцитарной и тромбоцитарной массы требовалось значительно в меньшем объеме ($p<0,05$) (табл.2).

Острая почечная недостаточность, потребовавшая проведения нескольких сеансов гемодиализа, была выявлена у 1 (2,7 %) пациента из группы легкой гипотермии. При этом синдром полиорганной недостаточности был диагностирован по 1 случаю в группах легкой и умеренной гипотермии – 1,3 % и 2,7 % соответственно ($p=0,457$). Госпитальная летальность была зарегистрирована в 1 (1,3 %) случае и только в группе умеренной гипотермии. Причиной смерти стал синдром полиорганной недостаточности.

Выводы

Повышение температурного режима с 26 °C до 30°C при аортальных реконструкциях восходящего отдела аорты по типу Hemiarch сопровождается достоверным сокращением длительности искусственного кровообращения ($p=0,006$) и продолжительности операции ($p=0,0007$). Сокращение частоты послеоперационного кровотечения, требующего рестернотомии.

томии, у пациентов с легкой гипотермией по сравнению с умеренной гипотермией позволило уменьшить дополнительную хирургическую травму и снизить трансфузионную нагрузку на пациента ($p<0,05$). Кроме того, не было случаев с мезентериальными осложнениями и пареплегиями. Эти результаты могут являться одним из аргументов в пользу повышения уровня гипотермии при протезировании восходящего отдела аорты по типу Hemiarth в условии антеградной перфузии головного мозга.

Данное исследование подтверждает безопасность стратегии «легкого» гипотермического циркуляторного ареста с антеградной перфузией головного мозга при реконструкции восходящей аорты и дуги по типу Hemiarth.

Таблица 1

Временные характеристики оперативного лечения

Показатели (минуты)	Легкая гипотермия n=36	Умеренная гипотермия n=76	p
Время ИК	107 [99; 145]	125 [108,5; 170]	0,006
Сердечный арест	75 [75; 103]	80 [68; 115]	0,091
ЦА с АПГМ	15 [13; 17]	15 [14; 19,5]	0,124
Время операции	240 [200; 275]	275 [240; 330]	0,0007

Таблица 2

Трансфузионная нагрузка в раннем послеоперационном периоде

Трансфузия сред	Легкая гипотермия (n=36)	Умеренная гипотермия (n=76)	P-уровень
Свежзамороженная плазма, дозы	2 [2; 3]	4 [2; 4]	0,0002
Эритроцитарная масса, дозы	0 [0; 1]	2 [1; 2]	0,00001
Тромбоконцентрат, дозы	0 [0; 2]	2 [2; 2]	0,000001

ЛИТЕРАТУРА

1. Белов Ю.В., Чарчян Э.Р., Аксельрод Б.А., Гуськов Д.А., Федюлова С.В., Еременко А.А., Скворцов А.А., Хачатрян З.Р., Медведева Л.А., Ойстрах А.С. Защита головного мозга и внутренних органов при реконструктивных вмешательствах на дуге аорты: особенности интраоперационной тактики и мониторинга. Патология кровообращения и кардиохирургия. 2016; 20(4): 34–44.
2. Козлов Б.Н., Панфилов Д.С., Гутор С.С., Шарыш Д.В., Суходоло И.В., Жербаханов А.В., Сондуев Э.Л., Шипулин В.М. Морфологическое состояние аортальной стенки при аневризме восходящей аорты. Клиническая и экспериментальная хирургия. 2018; 6(4): 43–48.
3. Yan T.D., Bannon P.G., Bavaria J., Coselli J.S., Eleftheriades J.A., Griep R.B., Hughes G.C., LeMaire S.A., Kazui T., Kouchoukos N.T., Misfeld M., Mohr F.W., Oo A., Svensson L.G., Tian D.H. Consensus on hypothermia in aortic arch surgery. Ann Cardiothorac Surg. 2013; Mar; 2(2): 163–8. doi: 10.3978/j.issn.2225-319X.2013.03.03.
4. Козлов Б.Н., Панфилов Д.С., Пономаренко И.В., Мирошниченко А.Г., Горохов А.С., Кузнецов М.С., Насрашвили Г.Г., Шипулин В.М. Антеградная перфузия головного мозга через брахицефальный ствол при операциях на дуге аорты. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2015; 8(1): 30–34.
5. Abdelgawad A., Arafat H. Moderate versus deep hypothermic circulatory arrest for ascending aorta and aortic arch surgeries using open distal anastomosis technique. Journal of the Egyptian Society of Cardio-Thoracic Surgery. 2017; 25(4): 323–330.
6. Zierer A., Detho F., Dzembali O., Aybek T., Moritz A., Bakhtiar F. Antegrade cerebral perfusion with mild hypothermia for aortic arch replacement: single-center experience in 245 consecutive patients. Ann Thorac Surg. 2011; Jun; 91(6): 1868–73. doi: 10.1016/j.athoracsur.2011.02.077.
7. Leshnower B.G., Myung R.J., Kilgo P.D., Vassiliades T.A., Vega J.D., Thourani V.H., Puskas J.D., Guyton R.A., Chen E.P. Moderate hypothermia and unilateral selective antegrade cerebral perfusion: a contemporary cerebral protection strategy for aortic arch surgery. Ann Thorac Surg. 2010; Aug; 90(2): 547–54. doi: 10.1016/j.athoracsur.2010.03.118.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОВЫШЕННЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ АДЕНОЗИНДИФОСФАТА ДЛЯ ОЦЕНКИ АГРЕГАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

О.А. Трубачева, И.В. Кологривова

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

Аннотация

Сердечно-сосудистые заболевания остаются основной причиной смерти и инвалидности в большинстве европейских стран. Выявление у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) склонности к повышенному тромбообразованию имеет важное прогностическое значение при подборе лекарственных

средств, направленных на достижение стойкого антитромботического эффекта. **Цель исследования** – оценить использование повышенных концентраций индуктора АДФ для повышения точности АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца, принимающих аспирин (75 мг) и клопидогрель (75 мг) не менее 6 месяцев. **Материал и метод.** Исследовано 48 пациентов с ИБС, находящихся на непрерывной двойной антиагрегационной терапии в течение 6 месяцев. Агрегационную активность суспензии тромбоцитов исследовали с помощью метода Г. Борна в модификации З.А. Габбасова. Активность тромбоцитов оценивали по степени агрегации богатой тромбоцитами плазмы по кривой светопропускания под влиянием индуктора аденозин-дифосфат (АДФ) в концентрации 2 мкмоль/л и на фоне дополнительного внесения АДФ по 2 мкмоль/л на 1, 2, 3 и 4 минутах исследования по собственной запатентованной методике. **Результаты.** У больных с ишемической болезнью сердца, принимающих аспирин и клопидогрель не менее 6 месяцев, агрегация тромбоцитов снижалась до 5–35 % ($p < 0,005$) по сравнению с нормативными значениями, которые составляют 50–60 %. При этом значения агрегации тромбоцитов при дополнительном внесении индуктора агрегации АДФ в соотношении 2:1 по 2 мкмоль/л на 1, 2, 3 и 4 минутах регистрации агрегации тромбоцитов повышались от 55 % до 75 % ($p < 0,001$), что свидетельствует о развитии резистентности к двойной антитромбоцитарной терапии (аспирин 75 мг и клопидогрель 75 мг в сутки). Также были выявлены корреляционные связи степени агрегации на повышенные концентрации АДФ с многососудистым артериальным поражением и дислипидемией $r = 0,86$ и $r = 0,92$, соответственно. **Заключение.** Проведенное исследование доказывает, что стандартные методы диагностики не всегда являются достаточными для выявления резистентности тромбоцитов к двойной антитромбоцитарной терапии. Использование повышенных концентраций индуктора АДФ на агрегацию тромбоцитов у пациентов с ИБС повышает точность оценки АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на фоне приема антиагрегантов.

Ключевые слова: тромбоцит, агрегация, аденозин дифосфат, ишемическая болезнь сердца.

THE USE OF ELEVATED CONCENTRATIONS OF ADENOSINE DIPHOSPHATE TO ASSESS PLATELET AGGREGATION ACTIVITY IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

O.A. Trubacheva, I.V. Kologrivova

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

Abstract

Cardiovascular disease remains the leading cause of death and disability in most European countries. The identification in patients with coronary artery disease (CAD) of a tendency to increased thrombosis is of great prognostic value in the selection of drugs aimed at achieving a stable antithrombotic effect. **The aim of the study** was to evaluate the use of increased concentrations of the ADP-inducer to improve the accuracy of ADP-induced platelet aggregation in patients with coronary artery disease taking aspirin (75 mg) and clopidogrel (75 mg) for at least 6 months. **Material and Method.** We studied 48 patients with CAD who are on continuous double anti-aggregation therapy for 6 months. The aggregation activity of a platelet suspension was investigated using the method of Born G. in the modification of Gabbasov Z.A. Platelet activity was assessed by the degree of aggregation of platelet-rich plasma according to the light transmission curve under the influence of an adenosine diphosphate inductor (ADP) at a concentration of 2 $\mu\text{mol/L}$ and additional ADP administration of 2 $\mu\text{mol/L}$ at 1, 2, 3 and 4 minutes of research, as a patented modification of the method. **Results.** In patients with CAD, receiving aspirin and clopidogrel for at least 6 months, platelet aggregation decreased to 5–35% ($p < 0.005$) compared to standard values, which are 50–60%. Moreover, platelet aggregation values with the addition of an ADP aggregation inducer in a ratio of 2: 1, 2 $\mu\text{mol/L}$ at the 1, 2, 3, and 4 minutes of platelet aggregation registration, increased the aggregation index from 55% to 75% ($p < 0.001$), which indicates the development of resistance to dual antiplatelet therapy (aspirin 75 mg and clopidogrel 75 mg per day). Correlations between the degree aggregation at elevated ADP concentrations and multivascular arterial lesion and dyslipidemia were also identified, with $r = 0.86$ and $r = 0.92$, respectively. **Conclusion.** The study proves that standard diagnostic methods are not always sufficient to detect platelet resistance to dual antiplatelet therapy.

Key words: platelet, aggregation, adenosine diphosphate, coronary artery disease.

Сердечно-сосудистые заболевания остаются основной причиной смерти и инвалидности в большинстве европейских стран. Выявление у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) склонности к повышенному тромбообразованию имеет важное прогностическое значение при подборе лекарственных средств, направленных на достижение стойкого анти-

тромботического эффекта [1–3]. На сегодняшний день лекарственные средства группы антиагрегантов занимают одно из ведущих мест в профилактике ИБС [4–9]. Однако повторные сердечно-сосудистые события, ухудшение состояния пациентов, показания к оперативному лечению заставляют врачей назначать двойную антитромботическую терапию [4]. Согласно рекомендациям комитета по разработке практических рекомендаций и Европейского общества кардиологов ежегодно увеличивается количество пациентов, которые имеют показания к назначению двойной антитромбоцитарной терапии (ДАТТ), включающей комбинацию ацетилсалициловой кислоты и перорального ингибитора P2Y₁₂ рецепторов тромбоцитов к аденозин 5'-дифосфату [10,11]. Однако до сих пор нет единого мнения насчет выбора оптимальной схемы и длительности ДАТТ у пациентов с ИБС, которые получают лекарственные средства группы антиагрегантов [2,7,10,12]. Высокая реактивность тромбоцитов при приеме ингибиторов P2Y₁₂ рецепторов ассоциирована с риском ишемических событий [3,12]. Эти данные способствуют обоснованию индивидуальной антитромбоцитарной терапии на основе мониторинга функции тромбоцитов с целью выявления пациентов с недостаточным ответом, но даже двойная терапия в ряде случаев приводит к развитию индивидуальной резистентности тромбоцитов к антитромбоцитарной терапии. Роль тромбоцитов в развитии артериального тромбоза установлена в эксперименте и доказана клиническими исследованиями, показавшими эффективность антитромбоцитарных препаратов в отношении риска развития инфарктов и инсультов у больных с различными формами ИБС [3,11,13]. Известно, что классическим методом для оценки агрегации тромбоцитов является световая трансмиссионная агрегометрия [9]. В качестве индуктора агрегации используется аденозин дифосфат (АДФ). АДФ, высвобождающийся из поврежденных клеток в сосудистое русло, относится к наиболее важным физиологическим стимулам тромбоцитов. Рецепторы к АДФ на тромбоцитах отличаются от пуриновых рецепторов других клеток, прежде всего тем, что для них АДФ является антагонистом, а не агонистом, как в случае других клеток. О тромбоцитарной активности, на фоне индуктора АДФ, свидетельствует возрастающая степень прохождения световых лучей через суспензию тромбоцитов [13]. При этом у больных с ИБС, принимающих аспирин и клопидогрель в течение 6 месяцев, наличие повышенной активности тромбоцитов является признаком индивидуальной резистентности тромбоцитов к проводимой двойной антитромбоцитарной терапии.

Цель исследования – оценить использование повышенных концентраций индуктора АДФ для повышения точности АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов пациентов с ишемической болезнью сердца, принимающих аспирин (75 мг) и клопидогрель (75 мг) не менее 6 месяцев.

Материал и метод

Проведено одномоментное поперечное исследование. Исследовано 48 пациентов с ИБС, находящихся на непрерывной двойной антиагрегационной терапии в течение 6 месяцев (кардиомагнил 75 мг и клопидогрель 75 мг). Агрегационную активность суспензии тромбоцитов исследовали с помощью метода Г. Борна в модификации З.А. Габбасова на двухканальном лазерном анализаторе (220 LA «НПФ Биола», Россия). Оценивали степень агрегации по кривой светопропускания в %. Для каждого образца крови пациента определяли экспериментальные значения светопропускания, что приводит к индивидуальной калибровке прибора, где богатая тромбоцитами плазма принимается за 0 %, а бедная тромбоцитами плазма за 100 % агрегации у каждого пациента. Активность тромбоцитов оценивали по степени агрегации богатой тромбоцитами плазмы по кривой светопропускания под влиянием индуктора аденозин дифосфат (АДФ) в концентрации 2 мкмоль/л и на фоне дополнительного внесения АДФ по 2 мкмоль/л на 1,2,3 и 4 минутах исследования по собственной запатентованной методике. Анализ данных проводили при помощи программы Statistica 10.0. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили по методу Спирмена.

Результаты

У больных с ишемической болезнью сердца, принимающих аспирин и клопидогрель не менее 6 месяцев, агрегация тромбоцитов снижалась до 5–35 % ($p < 0,005$) по сравнению с нормативными значениями, которые составляют 50–60 %. При этом значения агрегации тромбоцитов при дополнительном внесении индуктора агрегации АДФ в соотношении 2:1 по 2 мкмоль/л на 1,2,3 и 4-й минутах регистрации агрегации тромбоцитов повышались от 55 % до 75 % ($p < 0,001$), что свидетельствует о развитии резистентности к двойной антитромбоцитарной терапии (аспирин 75 мг и клопидогрель 75 мг в сутки). Также были выявлены корреляционные связи степени агрегации на повышенные концентрации АДФ с многососудистым артериальным поражением и дислипидимией $r = 0,86$ и $r = 0,92$ соответ-

ственно. Наличие резистентности тромбоцитов к двойной антитромбоцитарной терапии у пациентов с ИБС, принимающих аспирин и клопидогрель не менее 6 месяцев, не выявлялось с помощью общепринятого метода агрегации тромбоцитов, а выявляется только в условиях дополнительного и неоднократного внесения индуктора АДФ. Это может быть связано с повышенным содержанием и неполным ответом тромбоцитов с тенденцией к дезагрегированию на однократное добавление АДФ, а, следовательно, и «ложно положительному» результату на проводимую терапию. Повышенные значения агрегации тромбоцитов у пациентов с ИБС имеют важное значение при подборе терапии, направленной на снижение тромбообразования и предупреждение сердечно-сосудистых событий, что позволяет оптимизировать индивидуальный подбор терапии.

Заключение

Применение двойной антитромбоцитарной терапии доказало свою эффективность в снижении сердечно-сосудистых осложнений по сравнению с монотерапией аспирином, однако развитие повторных ишемических событий остается актуальной проблемой. Проведенное исследование доказывает, что стандартные методы диагностики не всегда являются достаточными для выявления резистентности тромбоцитов к двойной антитромбоцитарной терапии. Использование повышенных концентраций индуктора АДФ на агрегацию тромбоцитов у пациентов с ИБС повышает точность оценки АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на фоне приема антиагрегантов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gachet C., Aleil B. Testing antiplatelet therapy. *European Heart Journal Supplements*. 2008; 10(suppl_A): A28–A34.
2. Craft R.M., Chavez J.J., Breese S.J., Wortham D.C., Cohen E., Carroll R.C. A novel modification of the Thrombelastograph assay, isolating platelet function, correlates with optical platelet aggregation. *J Lab Clin Med*. 2004; May; 143(5): 301–9. doi: 10.1016/j.lab.2004.01.011.
3. Jastrzebska M., Marcinowska Z., Oledzki S., Chelstowski K., Siennicka A., Klysz M., Clark J.S. Variable gender-dependent platelet responses to combined antiplatelet therapy in patients with stable coronary-artery disease. *J Physiol Pharmacol*. 2018; Aug; 69(4). doi: 10.26402/jpp.2018.4.10.
4. Панченко Е.П., Явелов И.С., Грацианский Н.А., Кропачева Е.С., Аверков О.В., Барбараи О.Л., Воробьева Н.М. Антитромботическая терапия у больных со стабильными проявлениями атеротромбоза. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2009; 8(6) s6: 163–188.
5. Комаров А.Л., Панченко Е.П. Ацетилсалициловая кислота – основа антитромботической терапии у больных атеротромбозом. *Российский медицинский журнал*. 2006; 4: 201–207.
6. Оганов Р.Г. Профилактика сердечно-сосудистых заболеваний – реальный путь улучшения демографической ситуации в России. *Кардиология*. 2007; 1: 4–7.
7. Трубочева О.А., Беляева С.Н., Суслова Т.Е., Кологривова И.В., Гусакова А.М., Шнайдер О.Л., Петрова И.В. Способ определения резистентности тромбоцитов к антиагрегантным препаратам у пациентов с ишемической болезнью сердца. Патент России RU 2710272 C1.
8. *Antithrombotic Trialists' Collaboration*. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*. 2002; Jan 12; 324(7329): 71–86. doi: 10.1136/bmj.324.7329.71.
9. Петрова И.В., Трубочева О.А., Мангатаева О.С., Суслова Т.Е., Ковалев И.В., Гусакова С.В. Влияние сероводорода на коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов человека. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2015; 101(10): 1191–1201.
10. Piepoli M.F., Hoes A.W., Agewall S., Albus C., Brotons C., Catapano A. Европейские рекомендации по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний в клинической практике. *Российский кардиологический журнал*. 2017; 6(85(146)): 7–85.
11. Tantry U.S., Navarese E.P., Bliden K.P., Gurbel P.A. Acetylsalicylic acid and clopidogrel hyporesponsiveness following acute coronary syndromes. *Kardiol Pol*. 2018; 76(9): 1312–1319. doi: 10.5603/KP.a2018.0159.
12. Двойная антитромбоцитарная терапия при ишемической болезни сердца: обновленная версия. *Российский кардиологический журнал*. 2018; 23(8): 113–163.
13. Гуськова Е.В., Панченко Е.П., Комаров А.Л., Добровольский А.Б., Самко А.Н. Остаточная реактивность тромбоцитов к АДФ и риск кровотечений у больных стабильной ИБС, получающих двойную антитромбоцитарную терапию в связи с плановым чрескожным коронарным вмешательством. *Российский кардиологический журнал*. 2015; 3(119): 35–42.

ВОЗМОЖНОСТИ РАДИОНУКЛИДНОЙ ТОМОВЕНТРИКУЛОГРАФИИ С НАГРУЗКОЙ В АСПЕКТЕ ПРОГНОЗА ПОВТОРНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ИШЕМИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

В.В. Шипулин

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

Аннотация

Цель – оценить возможности нагрузочной радионуклидной томовентрикулографии (РТВГ) в прогнозировании повторного ремоделирования ЛЖ в отдаленном периоде после хирургической коррекции ишемической кардиомиопатии ИКМП. **Методы.** В исследование вошло 30 пациентов с диагнозом ИКМП. Перед хирургической коррекцией всем пациентам была выполнена РТВГ в покое и на фоне возрастающих доз допмина по протоколу 5/10/15 мкг/кг/мин (5 мин/ступень). Также всем пациентам до операции, в раннем послеоперационном периоде (7–14 дней) и в отдаленном периоде выполнялась двухмерная эхокардиография (ЭхоКГ). В отдаленном периоде (476±36 дней) пациенты были разделены на две группы. Группа 1 (n=19) – пациенты с продолжающимся ремоделированием ЛЖ (увеличение КСО ЛЖ или снижение его ≤10 % относительно раннего послеоперационного периода по данным ЭхоКГ). Группа 2 (n=11) – пациенты с уменьшением КСО ЛЖ >10 %. **Результаты.** Исследование на фоне стресс-теста выявило значимые различия между группами в показателях динамики (Δ) фракции выброса (ФВ) ЛЖ (%) (2(2;8); 11(5;12), p=0,02), максимальной скорости изгнания ЛЖ (%) (32(14;51); 63(34;79), p=0,009), показателей диссинхронии ЛЖ (PSD (3(0;7); -2(-9;3), p=0,004); Entropy (%) (2(-1;6); 0(-4;2), p=0,01)). Однофакторный регрессионный анализ показал, что прогностическую ценность имеют ΔФВ ЛЖ (ОШ = 0,88; ДИ 0,8; 0,97; p = 0,008), ΔPSD ЛЖ (ОШ=1,13; ДИ 1,03; 1,25; p=0,005), количество коронарных артерий со стенозированием >75 % (ОШ = 4,25; ДИ 1,57; 11,48; p = 0,001). По данным ROC анализа значения чувствительности, специфичности и AUC равнялись 87 %, 64 % и 0,727 для Δ PSD ЛЖ (пороговое значение >-1); 84 %, 46 % и 0,691 для КС>75 % (пороговое значение >2); 65 %, 82 % и 0,674 для Δ ФВ ЛЖ (пороговое значение ≤4) соответственно. Логистическая модель, включающая данные показатели и наличие у пациента сахарного диабета, продемонстрировала значимо большее значение площади под кривой (0,907, p<0,05) по сравнению с данными показателями, взятыми отдельно. **Выводы.** Стресс-индуцированные показатели ФВ и диссинхронии ЛЖ, полученные при нагрузочной РТВГ в дооперационном периоде у больных ИКМП, ассоциированы с продолжающимся ремоделированием миокарда ЛЖ в отдаленном послеоперационном периоде.

Ключевые слова: ишемическая кардиомиопатия, повторное ремоделирование, радионуклидная томовентрикулография, прогноз.

THE VALUE OF STRESS GATED BLOOD POOL SPECT IN THE ASPECT OF REPEATED REMODELING PROGNOSIS IN THE LONG-TERM FOLLOW UP PERIOD AFTER SURGICAL CORRECTION OF ISCHEMIC CARDIOMYOPATHY

V.V. Shipulin

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

Abstract

Aim: to assess the value of stress gated blood pool SPECT (GBPS) with dopamine in the prognosis of left ventricular (LV) repeated remodeling after surgical treatment of ischemic cardiomyopathy (ICM). **Methods.** 30 patients with ICM were enrolled in this study. Prior to surgery, each patient underwent GBPS at rest and during dopamine stress test (5/10/15 µg/kg/min). The duration of each step was 5 minutes. Besides all patients underwent 2D echocardiography before, within 14 days and at least 12 month after surgery. In the follow-up period (476±36 days), patients were divided into two groups. Group 1 (n=19) – patients with repeated LV myocardial remodeling (an increase of LV end-systolic volume (LVESV) or decrease of LVESV ≤10 % according to 2D echocardiography in comparison to early postoperative period study). Group 2 (n=11) – reverse LV remodeling (reduction >10 % in LVESV). **Results.** Stress study showed differences between groups in terms of stress-induced changes of LVEF (Δ LVEF): 2(IQR 2;8) vs. 11(5;12), p=0.02; LV PER (Δ LV PER) (in%) – 32(14;51) vs. 63 (34;79), p=0.009; LV dyssynchrony – ΔPSD: 3(0;7) vs. -2(-9;3), p=0.004; ΔEntropy: 2(-1;6) vs. 0(-4;2), p=0.01, respectively. By univariate logistic regression analysis the predictive value showed the number of coronary arteries with stenosis > 75 % (CAS >75%) (OR = 4.25; CI 1.57; 11.48; p = 0.001), LVEF (OR = 0.88; CI 0.8; 0.97; p = 0.008) and LV ΔPSD (OR = 1.13; CI 1.03; 1.25; p = 0.005). Multivariate logistic regression analysis showed that all this indices were independent predictors of myocardial remodeling in the long-term follow-up. The ROC analysis revealed that ΔPSD showed a sensitivity of 87% and a specificity of 64% (cut-off value >-1; AUC=0.727), CAS had a sensitivity of 84 % and a specificity of 46% (cut-off value >2; AUC=0.691), ΔLVEF had a sensitivity of 65 % and a specificity of 82 % (cut-off value ≤4; AUC=0.674) in myo-

cardial remodeling prediction. Based on multivariate logistic regression the prognostic model was estimated (including indices above and presence of diabetes mellitus). According to the ROC analysis, the AUC of this model (0.907) was significantly higher ($p < 0.05$) in comparison to AUC values of indices alone. **Conclusion.** In patients after surgical ICM correction, stress-induced values of LVEF and dissynchrony obtained with the preoperative stress GBPS are associated with the repeated left ventricular remodeling in the long-term follow-up period.

Key words: ischemic cardiomyopathy, gated blood pool SPECT, long-term prognosis.

Актуальность

Повторное ремоделирование левого желудочка сердца после хирургической коррекции ишемической кардиомиопатии связано с увеличением риска неблагоприятных сердечных событий [1]. Радионуклидная томографию – метод оценки сократительной функции сердца, сопоставимый с МРТ в аспекте точности определения объёмов и глобальной сократимости желудочков [2–4]. Распространение гамма-камер с кадмий-цинк-теллуридовыми детекторами позволило проводить данное исследование на фоне инотропной стимуляции [5].

Цель – оценить возможности нагрузочной радионуклидной томографию (РТВГ) в прогнозировании повторного ремоделирования ЛЖ в отдаленном периоде после хирургической коррекции ишемической кардиомиопатии ИКМП.

Методы

В исследование вошло 30 пациентов с диагнозом ИКМП. Диагноз ИКМП выставлялся при наличии в анамнезе ИМ или реваскуляризации (ЧТКА или АКШ), и/или стеноза $>75\%$ ствола или проксимального стеноза передней нисходящей артерии, и/или стеноза $>75\%$ не менее двух коронарных артерий по данным инвазивной ангиографии, а также фракции выброса (ФВ) ЛЖ $<40\%$ и увеличению размеров ЛЖ по данным ЭхоКГ. Критериями исключения являлись противопоказания к проведению стресс-теста с инотропной стимуляцией, воспалительные заболевания миокарда, наличие выраженных гематологических, неврологических расстройств, других психосоматических состояний, препятствующих выполнению исследований, прогнозируемая продолжительность жизни менее 6 месяцев, отказ пациента от участия в исследовании. Все пациенты были проинформированы о цели и протоколе проведения стресс-теста. Исследование было одобрено этическим комитетом.

Перед хирургической коррекцией всем пациентам была выполнена РТВГ в покое и на фоне возрастающих доз допамина по протоколу 5/10/15 мкг/кг/мин (5 мин/ступень). Также всем пациентам до операции, в раннем послеоперационном периоде (7–14 дней) и в отдаленном периоде выполнялась двухмерная эхокардиография (ЭхоКГ). В отдаленном периоде (476 ± 36 дней) пациенты были разделены на две группы. Группа 1 ($n=19$) – пациенты с продолжающимся ремоделированием ЛЖ (увеличение КСО ЛЖ или снижение его $\leq 10\%$ относительно раннего послеоперационного периода по данным ЭхоКГ). Группа 2 ($n=11$) – пациенты с уменьшением КСО ЛЖ $>10\%$.

Результаты

Исходные характеристики групп представлены в табл. 1.

Дооперационные показатели РТВГ в условиях функционального покоя не показали достоверных различий между группами.

Исследование на фоне стресс-теста выявили значимые различия между группами в показателях динамики (Δ) фракции выброса (ФВ) ЛЖ (%) ($2(2;8)$ и $11(5;2)$, $p=0,02$), максимальной скорости изгнания ЛЖ, выраженной в % от исходных значений ($32(14;51)$; $44(19;78)$, $p=0,009$), а также показателей диссинхронии ЛЖ (град.) ($SD(3(0;7)$ и $-2(-9;3)$, $p=0,004$); Entropy ($2(-1;6)$; $0(-4;2)$, $p=0,01$)).

Однофакторный регрессионный анализ показал, что прогностическую ценность имеют Δ ФВ ЛЖ (ОШ = 0,88; ДИ 0,8; 0,97; $p=0,008$), Δ PSD ЛЖ (ОШ=1,13; ДИ 1,03; 1,25; $p=0,005$), количество коронарных артерий со стенозированием $>75\%$ (ОШ = 4,25; ДИ 1,57; 11,48; $p=0,001$).

По данным ROC анализа, значения чувствительности, специфичности и AUC равнялись 87 %, 64 % и 0,727 для Δ PSD ЛЖ (пороговое значение >-1); 84 %, 46 % и 0,691 для КС $>75\%$ (пороговое значение >2); 65%, 82% и 0,674 для Δ ФВ ЛЖ (пороговое значение ≤ 4) соответственно.

Логистическая модель, включающая данные показатели, продемонстрировала значимо большее значение площади под кривой (0,907, $p < 0,05$) по сравнению с данными показателями, взятыми раздельно (рис.1).

Выводы

Стресс-индуцированные показатели ФВ и диссинхронии ЛЖ, полученные при нагрузочной РТВГ в дооперационном периоде у больных ИКМП, ассоциированы с продолжающимся ремоделированием миокарда ЛЖ в отдаленном послеоперационном периоде.

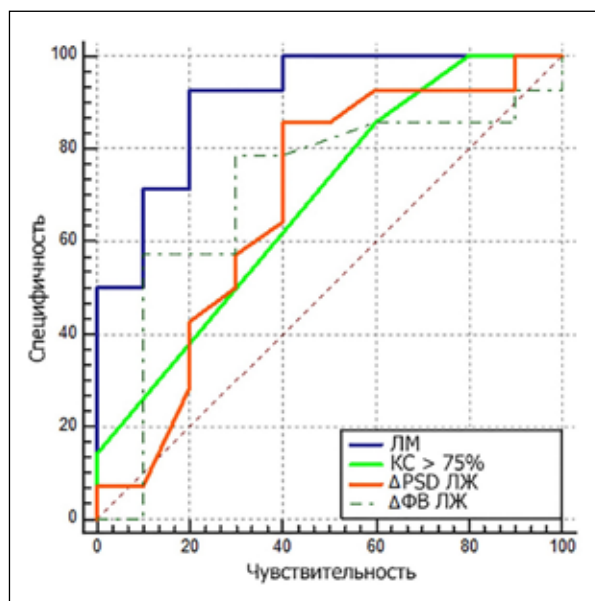


Рис. 1. Результаты ROC анализа. Значения чувствительности, специфичности и AUC равнялись 87%, 64% и 0,727 для Δ PSD ЛЖ (пороговое значение >-1); 84 %, 46 % и 0,691 для $KS > 75$ % (пороговое значение >2); 65 %, 82 % и 0,674 для Δ ФВ ЛЖ (пороговое значение ≤ 4); 93%, 80 % и 0,907 (пороговое значение $>0,4$) для ЛМ

Таблица 1

Исходная характеристика пациентов

	Группа ПР (n=19)	Группа ОР (n=11)	p
Возраст (лет)	60±6	61±8,5	0,63
ИМ	1,38±0,49	1,22±0,64	0,04
ФВ ЛЖ (%)*	30 (26;34)	32 (24;36)	0,5
КДО ЛЖ (мл)*	201 (173; 244)	187 (163; 234)	0,23
КСО ЛЖ (мл)*	128 (116; 180)	121 (101;165)	0,65
Диабет 2 типа	2 (11 %)	3 (27 %)	0,08
Дислипидемия	15 (79%)	8 (73 %)	0,24
ГБ	14 (74 %)	9 (82 %)	0,71
NYHA	2,68±0,6	2,45±0,8	0,3
КС >75 %	2,94±0,5	2,36±0,78	0,01
Euroscore 2 (%)	3,8 (2,6; 4,6)	3,5 (2,2; 4,6)	0,55

Примечание: * – по данным ЭхоКГ; ИМ – количество инфарктов миокарда в анамнезе; ФВ – фракция выброса; ЛЖ – левый желудочек; КДО – конечно-диастолический объем; КСО – конечно-систолический объем; NYHA – функциональный класс сердечной недостаточности; КС>75 % – количество коронарных артерий со стенозированием более 75 % по данным коронароангиографии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шипулин В.М., Пряхин А.С., Андреев С.Л., Шипулин В.В., Козлов Б.Н. Современное состояние проблемы хирургического лечения ишемической кардиомиопатии. Кардиология. 2019; 59(9): 71–82.
2. Саушкин В.В., Мишкина А.И., Шипулин В.В., Завадовский К.В. Значение радионуклидной оценки механической диссинхронии сердца в обследовании пациентов кардиологического профиля. Russian Electronic Journal of Radiology. 2019; 9(1): 186–202.
3. Шипулин В.В., Саушкин В.В., Пряхин А.С., Андреев С.Л., Веснина Ж.В., Завадовский К.В. Возможности перфузионной сцинтиграфии миокарда в обследовании пациентов с ишемической кардиомиопатией. Russian Electronic Journal of Radiology. 2019; 3: 155–175.
4. Zavodovsky K.V., Saushkin V.V., Khlynin M.S., Popov S.V., Lishmanov Y.B. Radionuclide Assessment of Cardiac Function and Dyssynchrony in Children with Idiopathic Ventricular Tachycardia. Pacing Clin Electrophysiol. 2016; Nov; 39(11): 1213–1224. doi: 10.1111/pace.12948.
5. Завадовский К.В., Андреев С.Л., Шипулин В.В. Способ неинвазивной оценки сократительного резерва левого желудочка сердца у пациентов с ишемической кардиомиопатией. Патент № RU2695902. Оpubл. 29.07.2019. Бюл. № 22.

РАЗРАБОТКА ПАРАМЕТРОВ ВНУТРИБРЮШНОЙ АЭРОЗОЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ПОД ДАВЛЕНИЕМ (PIPAC) С ПРИМЕНЕНИЕМ ДОКСОРУБИЦИНА НА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЕ *IN VIVO* (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

**С.А. Аксенов, А.А. Панкратов, В.М. Хомяков, А.В. Иванов, М.С. Воронцова,
Ю.Н. Меликова, О.И. Герасимова**

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохра-
нения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Во всем мире рак желудка (РЖ) является второй по распространенности причиной смерти, связанной с раком [1], и одним из 5 наиболее распространенных видов злокачественных новообразований в Европе по уровню заболеваемости и смертности [2]. РЖ часто метастазирует гематогенно в паренхиматозные органы или непосредственно в брюшину. Синхронный ПК встречается у 10–40 % всех больных РЖ, в том числе и у тех пациентов, у которых предполагалось радикальное хирургическое лечение [3–5]. Продолжительность жизни у пациентов с перитонеальным карциноматозом, индуцированным раком желудка, не превышает 3–9 мес [5–7]. Влияние системной терапии на ПК ограничено, что, в частности, объясняется ограниченным распространением цитостатиков в брюшину [8], в связи с этим развитие получила концепция регионарного лечения. Около десяти лет назад профессор M. Reymond (Германия) предложил методику внутрибрюшной аппликации химиопрепарата посредством аэрозольной взвеси (PIPAC – pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy). В большом исследовании были показаны преимущества этой методики с точки зрения равномерности распределения препарата и глубины его проникновения в ткань брюшины по сравнению с перитонеальным лаважем. Показано, что повышенное внутрибрюшное давление усиливает захват препарата опухолевыми клетками. В опытах *ex vivo* с фрагментами пораженной брюшины человека использование карбоперитонеума приводило к более равномерному распределению препарата и к более глубокому проникновению в опухолевые узлы, по сравнению с обычной внутрибрюшной химиотерапией. Для окончательного суждения об эффективности метода необходимы дальнейшие исследования, в том числе и фундаментальные.

Ключевые слова: рак желудка, карциноматоз, PIPAC, экспериментальная медицина.

DEVELOPMENT OF PARAMETERS OF INTRAPERITONEAL AEROSOL CHEMOTHERAPY UNDER PRESSURE (PIPAC) USING DOXORUBICIN ON AN ANIMAL MODEL (EXPERIMENTAL STUDY)

**S.A. Aksenov, A.A. Pankratov, V.M. Khomyakov, A.V. Ivanov, M.S. Vorontsova,
Yu.N. Melikova, O.I. Gerasimova**

P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Centre of
Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Аннотация

Worldwide, gastric cancer (GC) is the second most common cause of cancer-related death [1], and one of the 5 most common types of malignant neoplasms in Europe in terms of morbidity and mortality [2]. GC often metastasizes hematogenically to parenchymal organs or, directly, to the peritoneum. Synchronous PC occurs

in 10–4 % of all patients with GC, including those patients who were considered for radical surgical treatment [3–5]. Life expectancy in patients with peritoneal carcinomatosis induced by gastric cancer does not exceed 3–9 months [5–7]. The effect of systemic therapy on the PC is limited, which, in particular, is due to the limited distribution of cytostatics in the peritoneum [8], which is why the concept of regional treatment was developed. About ten years ago, Professor M. Reymond (Germany) proposed a method for intraperitoneal application of a chemotherapy drug by means of an aerosol suspension (PIPAC – pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy). In a large study, the advantages of this technique were shown in terms of the uniformity of the drug distribution and the depth of its penetration into the peritoneal tissue compared to peritoneal lavage. It is shown that increased intra-abdominal pressure increases the seizure of the drug by tumor cells. In ex vivo experiments with fragments of the affected human peritoneum, the use of carboperitoneum led to a more uniform distribution of the drug and to a deeper penetration into the tumor nodes, in comparison with conventional intra-abdominal chemotherapy. further research, including fundamental research, is needed to make a final judgment on the effectiveness of the method.

Key words: Gastric cancer, carcinomatosis, PIPAC, experimental medicine.

Актуальность

PIPAC в настоящий момент применяется в паллиативных целях, в частности, с целью замедления темпов накопления асцита и индуцирования регрессии перитонеальных метастазов. В качестве цитостатических агентов обычно используются доксорубин и цисплатин в малых дозах (порядка 1/10 от системной), с крайне низкой системной токсичностью. В связи с этим представляется актуальным изучение данного метода в контексте возможности увеличения доз вводимых препаратов в пределах системной дозы.

Цель исследования – изучение фармакокинетических свойств аэрозоля химиопрепаратов при внутрибрюшинном введении под давлением при различных параметрах эксперимента.

Материал и методы

Настоящее исследование проводилось в соответствии с международными требованиями по гуманному использованию лабораторных животных в исследовательских целях (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council (22 September 2010) «On the protection of animals used for scientific purposes»). В первой части эксперимента использовали две группы (в каждой по 5 животных) сопоставимых по массе и размеру лабораторных животных (самцы кроликов), препарат доксорубин в дозе 1,5 мг, разведенный в 30 мл физиологического раствора (концентрация 0,05 мг/мл). В группе А животным проводилась полноценная процедура PIPAC, в группе В животным вводился раствор препарата в виде жидкости путем лапароцентеза. Во второй части эксперимента животные были распределены также на две группы. В группе животных А процедура PIPAC выполнена раствором доксорубина в условиях фиксированной дозировки – 2,4 мг, что соответствует дозе препарата Доксорубин, которая используется у человека и составляет 1,5 мг/м² поверхности тела. При этом варьировали концентрацию раствора препарата, в каждой из серий эксперимента использовалось по 3 животных (табл. 1).

В группе животных Б процедура PIPAC выполнена раствором доксорубина в условиях фиксированной концентрации препарата в растворе: выбрано среднее значение концентрации препарата, равное 0,08 мг/мл. При этом доза препарата была различной для каждого опыта за счет изменения объема вводимого раствора, в каждой из серий эксперимента использовалось по 3 животных (табл. 2).

Экспозиция препарата у всех животных составляла 30 мин. После завершения процедур животные подвергались эвтаназии. У каждого из них производился забор образцов крови из нижней полой вены в объеме 20 мл, а также 4 образцов париетальной брюшины размерами 15×15 мм для последующего исследования методом жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием для определения концентрации в нем препарата.

Результаты

При оценке результатов первой части эксперимента средняя концентрация доксорубина в группе животных, которым проводилась процедура PIPAC, составила 349 мг/г в брюшине и 23 мг/г в плазме крови. При болюсном введении показатели составили 93 мг/г и 18 мг/г соответственно, что говорит о значительном преимуществе в накоплении препарата в брюшине при его введении в виде мелкодисперсного аэрозоля под давлением. Во второй части эксперимента в группе животных А при последовательном увеличении объема распыляемого раствора с 15 до 60 мл средняя концентрация доксорубина в брюшине и плазме оставалась

практически одинаковой, составляя 153,8 мг/г, 235 мг/г, и 275,8 мг/г соответственно. Отклонение концентрации доксорубина в серии с объемом рабочего раствора 15 мл, вероятно, связано с технической невозможностью «качественного» распыления данного количества раствора. Концентрация лекарственного препарата в плазме крови также оставалась без значительных отклонений – 39 мг/г, 48 мг/г и 33 мг/г соответственно (рис. 1)

В группе животных Б при последовательном увеличении дозы лекарственного препарата с 1,2 мг до 4,8 мг (при постоянной его концентрации за счет увеличения объема рабочего раствора) средняя концентрация доксорубина в брюшине составила 165,2 мг/г, 235 мг/г, 483 мг/г, при этом его содержание в плазме крови незначительно поступательно увеличилось – 27 мг/г, 32 мг/г и 65 мг/г соответственно (рис. 2).

Выводы

Концентрация доксорубина в брюшине при его введении путем внутрибрюшного распыления мелкодисперсного аэрозоля под давлением достоверно выше, чем при внутрибрюшном болюсном введении, при этом концентрация препарата в плазме крови повышается незначительно. В условиях постоянной массы доксорубина при увеличении объема вводимого путем РИРАС рабочего раствора концентрация лекарственного препарата в брюшине и плазме крови остается без значимых отклонений. Однако при увеличении массы доксорубина в условиях постоянной его концентрации поступательно увеличивается накопление его в брюшине, в то время как в плазме крови увеличение концентрации происходит незначительное. Таким образом, можно сделать вывод, что ведущим параметром, который влияет на итоговую концентрацию препарата в тканях, является изменение его массы. Однако при этом, по всей видимости, незначительно увеличивается и системная токсичность доксорубина, в связи с чем можно сделать предположение о возможном увеличении дозы доксорубина, используемой у человека при проведении РИРАС в пределах допустимой системной, не ожидая серьезного повышения токсичности.

Таблица 1

Параметры рабочего раствора в группе животных А

Номер эксперимента	Доза мг/животное (мг/м ² поверхности тела человека*)	Объем раствора (мл)	Концентрация (мг/мл)
1	2,4 – (1,5)	15	0,16
2		30	0,08
3		60	0,04

Таблица 2

Параметры рабочего раствора в группе животных Б

Номер эксперимента	Доза мг/животное (мг/м ² поверхности тела человека*)	Объем раствора (мл)	Концентрация (мг/мл)
1	1,2 – 0,75	15	0,08
2	2,4 – 1,5	30	0,08
3	4,8 – 3,0	60	0,08

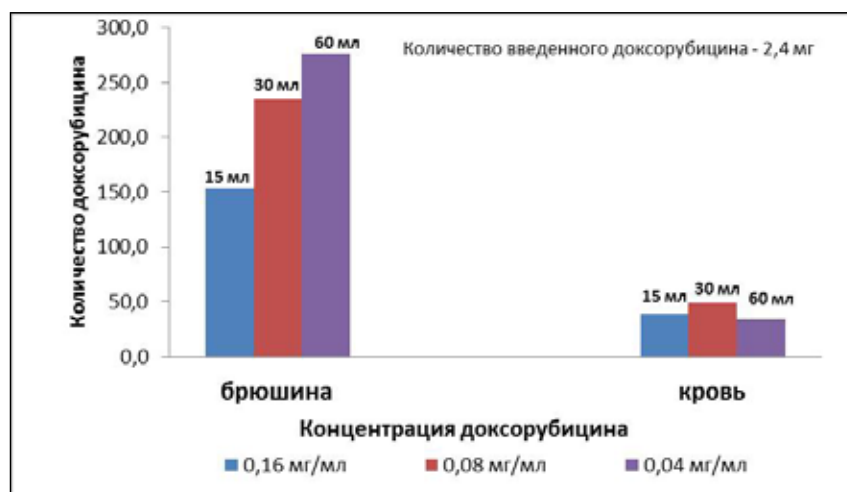


Рис. 1. Концентрация доксорубина в брюшине и плазме крови при аэрозольном его распылении в условиях постоянной дозы

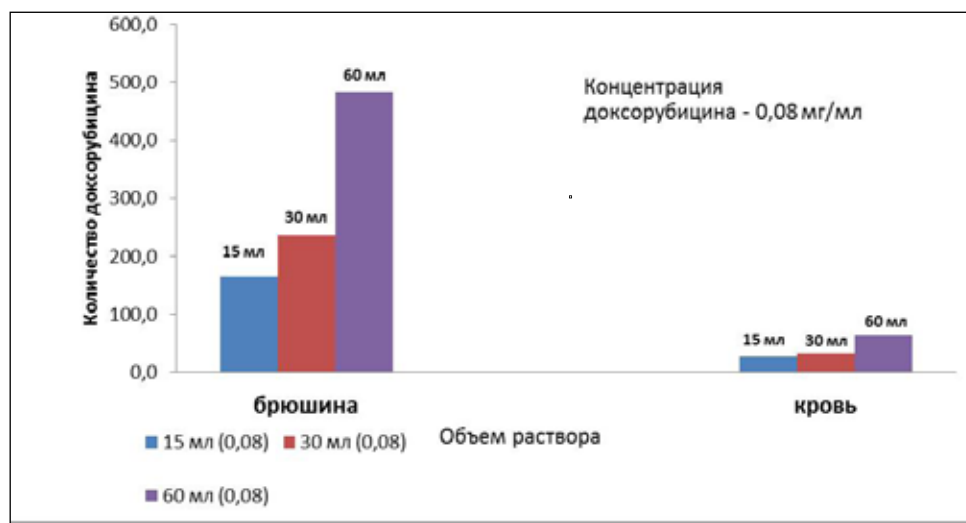


Рис. 2. Концентрация доксорубина в брюшине и плазме крови при аэрозольном его распылении в условиях постоянной концентрации

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferlay J., Shin H.R., Bray F., Forman D., Mathers C., Parkin D.M. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010 Dec 15; 127(12): 2893–917. doi: 10.1002/ijc.25516.
2. Ferlay J., Steliarova-Foucher E., Lortet-Tieulent J., Rosso S., Coebergh J.W., Comber H., Forman D., Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer*. 2013 Apr; 49(6): 1374–403. doi: 10.1016/j.ejca.2012.12.027.
3. Geng X., Liu H., Lin T., Hu Y., Chen H., Zhao L., Mou T., Qi X., Yu J., Li G. Survival benefit of gastrectomy for gastric cancer with peritoneal carcinomatosis: a propensity score-matched analysis. *Cancer Med*. 2016 Oct; 5(10): 2781–2791. doi: 10.1002/cam4.877.
4. Roviello F., Caruso S., Marrelli D., Pedrazzani C., Neri A., De Stefano A., Pinto E. Treatment of peritoneal carcinomatosis with cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy: state of the art and future developments. *Surg Oncol*. 2011 Mar; 20(1): e3854. doi: 10.1016/j.suronc.2010.09.002.
5. Brandl A., Pachmayr E., Gül-Klein S., Alberto M., Thuss-Patience P., Rau B. Chirurgische Therapie beim peritoneal metastasierten Magenkarzinom [Surgical treatment of peritoneal metastases of gastric cancer]. *Chirurg*. 2018 Sep; 89(9): 669–677. doi: 10.1007/s00104-018-0625-2.
6. Wagner A.D., Syn N.L., Moehler M., Grothe W., Yong W.P., Tai B.C., Ho J., Unverzagt S. Chemotherapy for advanced gastric cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Aug 29; 8(8): CD004064. doi: 10.1002/14651858.CD004064.pub4.
7. Koizumi W., Narahara H., Hara T., Takagane A., Akiya T., Takagi M., Miyashita K., Nishizaki T., Kobayashi O., Takiyama W., Toh Y., Nagaie T., Takagi S., Yamamura Y., Yanaoka K., Orita H., Takeuchi M. S-1 plus cisplatin versus S-1 alone for first-line treatment of advanced gastric cancer (SPIRITS trial): a phase III trial. *Lancet Oncol*. 2008 Mar; 9(3): 215–21. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70035-4.
8. Minchinton A.I., Tannock I.F. Drug penetration in solid tumours. *Nat Rev Cancer*. 2006 Aug; 6(8): 583–92. doi: 10.1038/nrc1893.

ВЛИЯНИЕ НОСИТЕЛЬСТВА МУТАЦИИ JAK2V617F НА ЧАСТОТУ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ С RH-НЕГАТИВНЫМИ ХРОНИЧЕСКИМИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Т.Н. Александрова^{1,2}, Н.И. Павлова¹, Х.А. Куртанов¹, И.Е. Соловьева²,
Л.Д. Терехова², А.Т. Дьяконова¹, У.П. Борисова¹

ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», г. Якутск, Россия¹
ГАУ РС(Я) Республиканская больница №1 «Национальный центр медицины», г. Якутск, Россия²

Аннотация

Основной клинической проблемой больных хроническими миелопролиферативными заболеваниями являются тромбозы венозных и артериальных сосудов. Одним из основных тромбогенных факторов среди данной группы больных признана мутация JAK2V617F. **Цель исследования** – оценить влияние клинико-лабораторных показателей и мутации JAK2V617F на частоту развития тромботических осложнений. **Материал и методы.** В исследование включено 70 пациентов с подтвержденными диагнозами: эссенциальная тромбоцитемия, истинная полицитемия и первичный миелофиброз. Про-

веден анализ клиничко-лабораторных данных, полученных в ходе амбулаторного консультирования, а также молекулярно-генетическое исследование на выявление мутации JAK2V617F методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции. **Результаты.** За период наблюдения тромботические осложнения зарегистрированы у 28,6 % (20/70) больных. По локализации преобладали тромбозы артериальных сосудов (80 %) – острый инфаркт миокарда и острое нарушение мозгового кровообращения. По результатам генотипирования больных мутация JAK2V617F выявлена у 90,9 % больных истинной полицитемией, 61,3 % больных эссенциальной тромбоцитемией и 64,7 % больных первичным миелофиброзом. Тромботические осложнения достоверно чаще наблюдались у носителей мутации JAK2V617F. **Заключение.** Носительство мутации JAK2V617F достоверно повышает риск развития тромботических осложнений. Раннее выявление носителей мутации JAK2V617F позволит уменьшить количество жизнеугрожающих тромботических осложнений.

Ключевые слова: хронические миелопролиферативные заболевания, JAK2V617F, тромбозы.

EFFECT OF JAK2V617F MUTATION ON THE INCIDENCE OF THROMBOTIC COMPLICATIONS AMONG PATIENTS WITH PH-NEGATIVE CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE DISEASES

T.N. Alexandrova^{1,2}, N.I. Pavlova¹, H.A. Kurtanov¹, I.E. Soloviev²,
L.D. Terekhova², A.T. Dyakonova¹, U.P. Borisova¹

Yakutsk Scientific Center for Complex Medical Problems, Yakutsk, Russia
Republican Hospital № 1, National Center of Medicine, Yakutsk, Russia

Abstract

The main clinical problem of patients with chronic myeloproliferative diseases is venous and arterial thrombosis. JAK2V617F mutation was recognized as one of the main thrombogenic factors among this group of patients. **The aim of the study** was to assess the effect of clinical and laboratory parameters and JAK2V617F mutation on the incidence of thrombotic complications. **Material and Methods.** The study included 70 patients with confirmed diagnoses of essential thrombocytemia, polycythemia vera and primary myelofibrosis. The research included estimation of clinical and laboratory data and allele-specific polymerase chain reaction to detect the JAK2V617F mutation. **Results.** During follow-up time thrombotic complications were registered in 28.6 % (20/70) patients. Thrombosis of arterial vessels were seen more commonly (80 %) – acute myocardial infarction and acute cerebrovascular accident. According to the results of patient genotyping, the JAK2V617F mutation was detected in 90.9 % of patients with polycythemia vera, 61.3 % of patients with essential thrombocytemia and 64.7 % of patients with primary myelofibrosis. Thrombotic complications were significantly more often observed in carriers of the JAK2V617F mutation and in patients with cardiovascular risk factors. **Conclusion.** Carriage of the JAK2V617F mutation and the presence of cardiovascular risk factors significantly increase the risk of thrombotic complications. Early detection of JAK2V617F mutation will reduce the number of life-threatening complications.

Key words: chronic myeloproliferative disease, JAK2V617F, thrombosis.

Введение

Основной клинической проблемой больных хроническими миелопролиферативными заболеваниями (ХМПЗ) являются сосудистые осложнения, к которым можно отнести микроциркуляторные нарушения, тромбозы венозных и артериальных сосудов, а также геморрагические осложнения [1]. Тромботические осложнения занимают одну из лидирующих позиций среди причин летальности и инвалидизации больных ХМПЗ. Согласно литературным данным, совокупная частота тромбозов при истинной полицитемии (ИП) составляет 3,8 на 100 пациенто-лет, при эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ) – от 2 до 4 на 100 пациенто-лет, при первичном миелофиброзе (ПМФ) – 2,23 на 100 пациенто-лет [2]. Ведущее место в структуре тромботических осложнений занимают артериальные тромбозы – инфаркт миокарда, ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака.

Тромбообразование представляет собой сложный многокомпонентный процесс. Наиболее значимыми факторами риска тромботических осложнений среди больных ХМПЗ признаны возраст старше 60 лет, перенесенные тромбозы, сердечно-сосудистые факторы риска, а также наличие мутации V617F гена JAK2 [3]. В настоящее время в связи с широким распространением персонализированного подхода к терапии многих заболеваний изучение

молекулярных маркеров тромбогенного риска приобретает особую актуальность. Доказано, что для носителей мутации *JAK2V617F* характерно увеличение пула активированных лейкоцитов и тромбоцитов, обладающих более тромбогенным потенциалом и повышение их агрегационной способности. Кроме того, значима роль мутации в развитии дисфункции эндотелия и коагуляционного звена гемостаза [4].

Цель исследования – оценить влияние носительства мутации *JAK2V617F* на частоту развития тромботических осложнений у пациентов с ХМПЗ.

Материал и методы

В исследование включено 70 пациентов с подтвержденными диагнозами ЭТ (n=31, 44,3 %), ИП (n=22, 31,4 %) и ПМФ (n=17, 24,3 %). Медиана наблюдения больных составила 48 мес (от 2 до 252 мес). Всем больным проведено молекулярно-генетическое исследование на выявление мутации *JAK2V617F* (rs77375493) методом аллельспецифичной полимеразной цепной реакции (АС-ПЦР) с использованием стандартных пар праймеров (прямой – AGCAAGCTTTCTCACAAGCA, обратный – CTGACACCTAGCTGTGATCCTG) производства SybEnzyme, г. Новосибирск. Длина амплификата для аллели G составила 364 пары нуклеотидов (п.н.), Т – 364 и 203 п.н. Детекция продуктов ПЦР проводилась в 3 % агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, с использованием стандартного трис-ацетатного буфера при 120 В в течение 45 мин.

При анализе распространенности тромботических осложнений и факторов риска использовались клинические и лабораторные данные, полученные в ходе амбулаторного консультирования пациентов. Статистическая значимость различий оценивалась с помощью критерия χ^2 -квадрат с поправкой Йейтса. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Для оценки влияния факторов риска на частоту развития тромботических осложнений рассчитывали отношения шансов (ОШ). Результаты представлены в виде ОШ и 95 % доверительного интервала.

Результаты и обсуждение

За период наблюдения тромботические осложнения зарегистрированы у 28,6 % (20/70) больных, из них у 7,14 % (5/70) – два и более эпизода. При сравнительном анализе распространенность тромбозов среди больных ИП составила 36,4 %, ЭТ – 16 % и ПМФ – 35,2 %. 55 % (11/20) тромбозов наблюдались до момента диагностики заболевания. Медиана времени наблюдения от развития тромботического события до диагностики заболевания составила 9 мес (от 1 до 78 мес). В большинстве случаев тромбозы локализовались в артериальном русле (80 %) – острый инфаркт миокарда (ОИМ, 58,8 %), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК, 35,3 %) и тромбоз глубокой бедренной артерии (5,9 %). Венозные тромбозы встречались реже (20 %) и представлены тромбозами глубоких вен (ТГВ) нижних конечностей (10 %) и вен портальной системы (10 %).

По результатам генотипирования аллель *T* гена *JAK2* (*JAK2V617F*) выявлен у 90,9 % больных ИП, 61,3 % больных ЭТ и 64,7 % больных ПМФ. При сравнении *JAK2V617F*-положительных и *JAK2V617F*-отрицательных больных выявлено, что тромбозы достоверно чаще наблюдаются у носителей мутации *JAK2* – 45 % и 10 %, соответственно ($p=0,008$). ОШ развития тромботических осложнений у носителей мутации *JAK2* составило 11,645 (95 % ДИ 1,440–94,191).

В настоящее время доказано, что носительство мутации *JAK2V617F* повышает риск тромбозов среди больных ЭТ до 45 %, а также является предиктором развития повторных тромбозов. Аналогичные результаты были получены во многих крупных исследованиях, что позволило включить наличие *JAK2V617F* мутации в шкалу IPSET-thrombosis (универсальный инструмент для оценки риска развития больных ЭТ) в качестве независимого тромбогенного фактора для больных ЭТ [3]. Данные о влиянии *JAK2*-статуса на частоту тромбозов среди больных ИП противоречивы. В отдельных работах было показано, что высокий уровень аллельной мутации ассоциирован с повышенным риском тромботических осложнений. В группе больных ПМФ наибольший риск развития тромбозов связан с носительством мутации *JAK2V617F* и лейкоцитозом.

Заключение

Возникновение тромботических осложнений является важным фактором, влияющим на выживаемость и качество жизни больных ХМПЗ. В большинстве случаев тромбозы являются первым клиническим симптомом заболевания или регистрируются до верификации диагноза. Носительство мутации *JAK2V617F* и наличие сердечно-сосудистых факторов риска достоверно повышает риск развития тромботических осложнений. Раннее проведение молекулярно-генетического исследования позволит улучшить диагностику маскированных форм ХМПЗ и предотвратить развитие фатальных осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меликян А.Л., Суборцева И.Н. Миелопролиферативные заболевания: новые данные. Клиническая онкогематология. 2016; 9(2): 218–228.
2. Меликян А.Л., Суборцева И.Н., Сударинов А.Б., Ковригина А.М., Гилязитдинова Е.А., Колошейнова Т.И., Абдуллаев А.О., Треглазова С.А. Клинические особенности эссенциальной тромбоцитемии и первичного миелофиброза в зависимости от молекулярных характеристик заболевания. Терапевтический архив. 2017; 89(7): 4–9.
3. Duangnapasatit B., Rattarittamrong E., Rattanathammethee T., Hantrakool S., Chai-Adisaksopha C., Tantiworawit A., Norsaethada L. Clinical Manifestations and Risk Factors for Complications of Philadelphia Chromosome-Negative Myeloproliferative Neoplasms. Asian Pac J Cancer Prev. 2015; 16(12): 5013–8. doi: 10.7314/apjcp.2015.16.12.5013.
4. Ball S., Thein K.Z., Maiti A., Nugent K. Thrombosis in Philadelphia negative classical myeloproliferative neoplasms: a narrative review on epidemiology, risk assessment, and pathophysiologic mechanisms. J Thromb Thrombolysis. 2018 May; 45(4): 516–528. doi: 10.1007/s11239-018-1623-4.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА LIMCH1 В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ, СВЯЗАННЫЕ С ЛИМФОГЕННЫМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ, У БОЛЬНЫХ ИНВАЗИВНОЙ КАРЦИНОМой МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ТИПА

В.В. Алифанов¹, Г. Симанов², Л.А. Таширева¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Политехнический институт Парижа, г. Париж, Франция²

Аннотация

Рак молочной железы является наиболее распространенной онкологической патологией у женщин, при этом основной причиной смерти являются гематогенные метастазы. Неотъемлемыми составляющими процесса метастазирования являются клеточная миграция и инвазия, которые ассоциированы с конформационными изменениями актина. LIMCH1 является белком, который влияет не только на полимеризацию актина, но также участвует в изменении уровня экспрессии генов, регулирующих клеточный цикл. Исследование проведено на материале, полученном у 55 больных с верифицированным диагнозом ИКНТ. Методом иммуногистохимии исследовалась экспрессия белка LIMCH1 в двух компартаментах опухолевых клеток (цитоплазма и субмембранная область). Кроме того, были использованы антитела к двум эпитопам, сопряженным с функциональными свойствами белка LIMCH1. Проведенное исследование продемонстрировало различную частоту встречаемости экспрессии белка LIMCH1 в цитоплазме и субмембранно. Также, показано, что существуют различия в экспрессии белка LIMCH1, выявляемого с помощью разных антител, что может отражать его функциональное состояние. Потеря субмембранной экспрессии белка LIMCH1 сопряжена с большей частотой развития лимфогенных метастазов у больных ИКНТ.

Ключевые слова: LIMCH1, рак молочной железы, лимфогенное метастазирование.

FEATURES OF THE LIMCH1 PROTEIN EXPRESSION IN TUMOR CELLS ASSOCIATED WITH LYMPHOGENOUS METASTASES IN PATIENT WITH INVASIVE BREAST CANCER OF NOT SPECIAL TYPE

V.V. Alifanov¹, G. Simanov², L.A. Tashireva¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Polytechnic Institute of Paris, Paris, France²

Аннотация

Breast cancer is the most common cancer pathology among women. The main death cause of this disease is hematogenous metastases. The most important parts of the metastasis process are cell migration and

invasion. They are associated with conformational changes of actin. LIMCH1 is a protein that regulates not only actin polymerization, but also changes the cell cycle genes expression level. The study was conducted on material obtained from 55 patients with a verified diagnosis of invasive breast cancer of not special type. To study the expression of the LIMCH1 protein in two compartments of tumor cells (cytoplasm and sub-membrane region) the immunohistochemistry was used. In addition, antibodies to two epitopes associated with functional properties of the LIMCH1 protein were used. This study demonstrated a different frequency of LIMCH1 protein expression in the cytoplasm and sub-membrane region. It was also shown that there are differences between the LIMCH1 protein expression detected by different antibodies, which may reflect functional state. Loss of sub-membrane expression of the LIMCH1 protein is associated with a lymphogenous metastases in patients with invasive breast cancer of not special type.

Key words: LIMCH1, breast cancer, lymphogenous metastases.

Актуальность

Рак молочной железы является наиболее распространенной онкологической патологией у женщин, при этом основной причиной смерти являются гематогенные метастазы. Начальными этапами метастазирования называют миграцию и инвазию опухолевых клеток в окружающие ткани, кровеносные и лимфатические сосуды [1]. Одним из основных белков клеточной миграции и адгезии является актин, существующий в клетке в двух вариантах (глобулярном и фибриллярном), с которыми сопряжено функциональное состояние клетки. Описано множество белков, регулирующих полимеризацию актина [2]. Одним из таких белков является LIMCH1, содержащий в своей структуре на N-терминальном конце актин-связывающий кальпонин-гомологичный (CH – calponin homology) домен и на C-терминальном конце – LIM-домен, опосредующий белок-белковые взаимодействия [3]. Известны некоторые механизмы регуляции миграции белком LIMCH1. Показано, что он способствует активации немышечного миозина 2-го типа (NMIIb) путем координации взаимодействия со стрессовыми волокнами актина, что способствует фокальной адгезии клеток, уменьшая их способность к миграции [4]. Такие свойства позволяют рассматривать белок LIMCH1 в качестве потенциального таргета для регуляции процессов миграции в патологических условиях. Однако в литературе данные о роли белка LIMCH1 в развитии и прогрессировании злокачественных новообразований скудны и противоречивы. Показано, что экспрессия гена LIMCH1 является благоприятным фактором при почечноклеточной карциноме и неблагоприятным при раке молочной железы. Данных относительно экспрессии белка LIMCH1 при карциноме молочной железы в доступной литературе нет. Кроме того, все ранее проведенные исследования не позволяют учесть локализацию белка LIMCH1 в опухолевых клетках, что позволило бы соотнести экспрессию белка LIMCH1 с механизмами его действия.

Цель исследования – охарактеризовать экспрессию белка LIMCH1 в опухолевых клетках у больных инвазивной карциномой молочной железы неспецифического типа (ИКНТ) и ее связь с лимфогенным метастазированием

Материал и методы

В исследование было включено 55 больных с ИКНТ (T1–3N1–2M0, все молекулярно-генетические типы). Возраст больных составил 52,2±13,7 года. Оценка экспрессии белка LIMCH1 в опухолевых клетках проводилась с помощью иммуногистохимического исследования. Использовались два антитела против белка LIMCH1: anti-LIMCH1 (Sigma Aldrich, SAB2700402, rabbit, 1:1000), выявляющий C-терминальный фрагмент, и anti-LIMCH1 (Sigma Aldrich, HPA004184, rabbit, 1:1000), специфичный для домена, связывающего NMIIb. Оценивалась частота встречаемости клеток, экспрессирующих данный белок. Для статистической обработки был использован пакет программ Statistica 10.0. Все исследуемые параметры были проверены на соответствие нормальному закону распределения с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для оценки различий качественных параметров использовался критерий Фишера. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

На первом этапе исследования мы оценили частоту встречаемости опухолей с экспрессией белка LIMCH1. Нужно отметить, что его экспрессия наблюдалась в цитоплазме клеток и субмембранно, что объясняется механизмами действия LIMCH1. Субмембранная экспрессия может характеризовать полимерное состояние кортикального актина, в то время как цитоплазматическая экспрессия LIMCH1, вероятнее всего, отражает его участие в регуляторных процессах, в том числе влияние на уровни экспрессии генов, связанные с пролиферацией и выживаемостью клеток. В связи с этим мы оценивали экспрессию изучаемого белка в двух компартментах клетки отдельно. При использовании антител, выявляющих C-терминальный

фрагмент белка, экспрессия LIMCH1 обнаруживалась у 41 % (23/55) пациентов, из них у 82 % (19/23) была обнаружена субмембранная экспрессия маркера и у 18 % (4/23) – цитоплазматическая. При окрашивании антителами к домену связывания с NMIIВ экспрессия LIMCH1 опухолевыми клетками была обнаружена у 83 % (46/55) пациентов, из них 89 % (41/46) имели цитоплазматическую экспрессию и 11 % (5/46) – субмембранную. Только в 5 % (3/55) случаев в цитоплазме и в 33 % (18/55) на мембране белок LIMCH1 выявлялся с помощью двух антител одновременно. Ассоциативное исследование связи экспрессии белка LIMCH1 с клинико-патологическими параметрами пациентов показало, что у больных с отсутствием экспрессии белка LIMCH1 субмембранно, детектированного антителом против С-терминального фрагмента, лимфогенные метастазы обнаруживаются чаще, чем у пациентов, имеющих субмембранную экспрессию (69 % (22/32) против 32 % (9/19), соответственно, $p=0.0135$). Известно, что потеря субмембранной экспрессии белка LIMCH1 может свидетельствовать о снижении фокальной адгезии, что свойственно мигрирующим клеткам.

Выводы

Существуют различия в экспрессии белка LIMCH1, выявляемого с помощью разных антител, что может отражать его функциональное состояние. Потеря субмембранной экспрессии белка LIMCH1 сопряжена с большей частотой развития лимфогенных метастазов у больных ИКНТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhao J., Zhang J., Yu M., Xie Y., Huang Y., Wolff D.W., Tu Y. Mitochondrial dynamics regulates migration and invasion of breast cancer cells. *Oncogene*. 2013 Oct; 32(40): 4814–24. doi: 10.1038/ncr.2012.494.
2. Pathak S., Tripathi S., Gauba R., Dantu S.C., Kale A. Actin Polymerization: A Cellular Perspective for Motility. *Actin Polymerization in Apicomplexan*. Singapore, Springer. 2019. P. 1–14.
3. García D., Ordenes P., Benítez J., González A., García-Robles M. A., López V., Uribe E. Cloning of two LIMCH1 isoforms: characterization of their distribution in rat brain and their agmatinase activity. *Histochem Cell Biol*. 2016 Mar; 145(3): 305–13. doi: 10.1007/s00418-015-1389-0.
4. Thomas C., Hoffmann C., Gatti G., Steinmetz A. LIM proteins: a novel class of actin cytoskeleton organizers in plants. *Plant Signal Behav*. 2007 Mar; 2(2): 99–100. doi: 10.4161/psb.2.2.3614.

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ СЛЮНЫ ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО

Л.В. Бельская, Е.А. Сарф

Омский государственный педагогический университет, г. Омск, Россия

Аннотация

Проанализирована взаимосвязь концентрации имидазольных соединений и активности лактатдегидрогеназы в слюне перед началом лечения с выживаемостью больных раком легкого для оценки возможного клинического значения определения этих показателей при данном заболевании. Исследование включало 425 больных раком легкого с гистологически подтвержденным диагнозом, у которых до начала лечения проводили определение в слюне вышеуказанных показателей. Установлено, что значимыми независимыми факторами неблагоприятного прогноза являются уровень имидазольных соединений выше 0,478 ммоль/л и активность лактатдегидрогеназы слюны ниже 545 Е/л.

Ключевые слова: слюна, рак легкого, биохимический состав, выживаемость, прогноз.

PROGNOSTIC VALUE OF BIOCHEMICAL SALIVA MARKERS IN LUNG CANCER

L.V. Bel'skaya, E.A. Sarf

Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russia

Abstract

The relationship between the concentration of imidazole compounds and the activity of lactate dehydrogenase in saliva before treatment with the survival of patients with lung cancer was analyzed to assess the possible

clinical significance of determining these parameters in this disease. The study included 425 lung cancer patients with a histologically confirmed diagnosis. In all patients, prior to treatment, the above indices were determined in saliva. It was shown that significant independent factors of poor prognosis are the level of imidazole compounds above 0.478 mmol/L and salivary lactate dehydrogenase activity below 545 U/L.

Key words: saliva, lung cancer, biochemical composition, survival, prognosis.

Рак легких (РЛ) представляет собой злокачественное новообразование, которое характеризуется высокими показателями смертности. Так, в 2017 г. было зарегистрировано 2,2 млн случаев РЛ и 1,9 млн случаев смерти [1]. Такие высокие показатели связаны с несвоевременной диагностикой. В частности, в России в 2018 г. 41 % вновь выявленных случаев РЛ приходился на IV стадию заболевания [2]. Анализ выживаемости наглядно демонстрирует, что общая выживаемость статистически достоверно зависит от размера опухоли, наличия/отсутствия регионарных и отдаленных метастазов и в меньшей степени от гистологического типа РЛ. Помимо перечисленных факторов, к прогностически важным можно отнести биохимические показатели биологических жидкостей (кровь, слюна и др.). Так, например, для мелкоклеточного РЛ к таким факторам можно отнести активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) перед началом лечения [3, 4]. Имидазольные соединения (ИС), которые включают аминокислоту гистидин и ее метаболиты (гистамин, уроканиловая кислота и др.), также являются перспективными параметрами для мониторинга заболевания [5].

Цель исследования – определение потенциальной прогностической роли биохимических показателей слюны при РЛ.

Материал и методы

Работа основана на результатах обследования и лечения 425 пациентов, госпитализированных в торакальное отделение Клинического онкологического диспансера г. Омска в 2014–2017 гг. В качестве критериев включения рассматривались: возраст пациентов 30–75 лет, отсутствие какого-либо лечения на момент включения в исследование, в том числе хирургического, химиотерапевтического или лучевого. Пациенты были госпитализированы для радикальной операции в объеме лобэктомии, билобэктомии, пневмонэктомии, комбинированного лечения или видеоторакоскопии для биопсии опухоли. В каждом случае проведена гистологическая верификация диагноза, в результате у 189 больных выявлена аденокарцинома (АК), у 135 – плоскоклеточный рак (ПРЛ), у 8 – смешанный (АК+ПРЛ) рак, у 68 – нейроэндокринный рак (НЭО) и у 25 – недифференцированный рак легкого.

У всех обследуемых до начала лечения проводили забор слюны в количестве 2 мл. Образцы собирали утром натощак путем сплевывания в стерильные пробирки, затем центрифугировали при 7 000 об/мин, определяли активность ЛДГ и уровень имидазольных соединений ИС [5]. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией (принятой в июне 1964 г. (Хельсинки, Финляндия) и пересмотренной в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия)) и одобрено на заседании комитета по этике БУЗ Омской области «Клинический онкологический диспансер» (протокол № 15 от 21.06.2016.)

Выживаемость оценивали по методу Каплана – Майера, различия выживаемости определяли с помощью log-rank-теста (Statistica 10.0, StatSoft). Для выявления прогностически значимых для выживаемости факторов использовали одно- и многофакторный регрессионный анализ Сох.

Результаты

По результатам многофакторного регрессионного анализа оба исследуемых показателя биохимического состава слюны достоверно связаны с показателями выживаемости больных РЛ (для ИС $p=0,0033$, для ЛДГ $p=0,0057$). Для ИС медиана концентрации составила 0,311 [0,197; 0,478] ммоль/л, для ЛДГ – 1133 [545,5; 1478,9] Е/л, данные значения были использованы в качестве пороговых при оценке показателей общей выживаемости (табл. 1, рис. 1). Прогностически благоприятным является уровень ИС менее 0,311 ммоль/л и активность ЛДГ более 1133 Е/л (рис. 1). Комбинация обоих параметров является более эффективным прогностическим признаком (табл. 1). Для пациентов с благоприятным прогнозом (ИС<0,311 и ЛДГ>1133) выживаемость на 1-, 3- и 5-м году была в 1,4, 1,9 и 2,0 раза выше, чем для пациентов с неблагоприятным прогнозом (ИС>0,311, ЛДГ<1133) (рис. 2А).

Поскольку интервал варьирования исследуемых параметров достаточно широкий, на следующем этапе было проведено разделение на три группы в соответствии с интерквартильным размахом (табл. 2).

На рис. 2Б приведены только три комбинации параметров, при этом видно, что различия между группами с благоприятным и неблагоприятным прогнозом статистически достовер-

ны ($p=0,0040$). Показатели 1-летней выживаемости резко уменьшаются при неблагоприятном прогнозе – с 77,0 до 46,8 %, 3-летней – с 47,5 до 27,1 %, тогда как 5-летней – с 43,3 до 18,0 % (рис. 2Б). Комбинация промежуточных значений по показателям выживаемости ближе к группе с неблагоприятным прогнозом, различия между группами статистически недостоверны.

Выводы

Значимыми независимыми факторами неблагоприятного прогноза являются уровень ИС выше 0,478 ммоль/л и активность ЛДГ слюны ниже 545 Е/л. Данные показатели могут быть использованы для прогноза течения заболевания и корректировки тактики лечения пациентов.

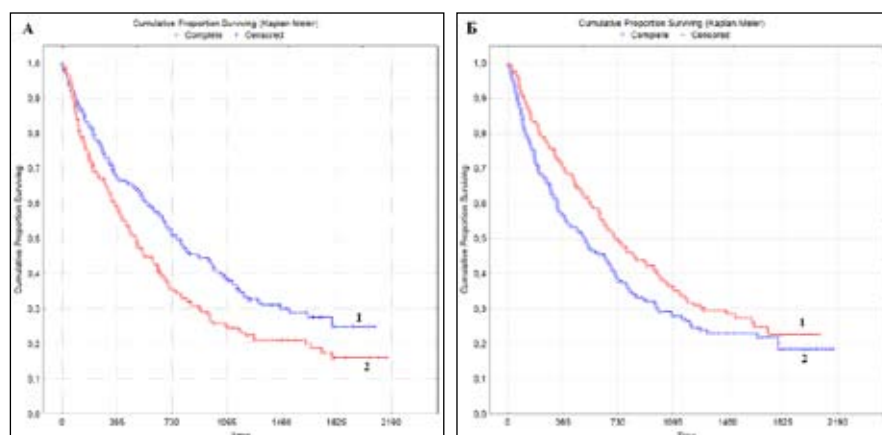


Рис. 1. Общая выживаемость больных РЛ в зависимости от: А – уровня ИС в слюне <0,311 ммоль/л (1) и >0,311 ммоль/л (2); Б – активности ЛДГ >1133 Е/л (1) и <1133 Е/л (2)

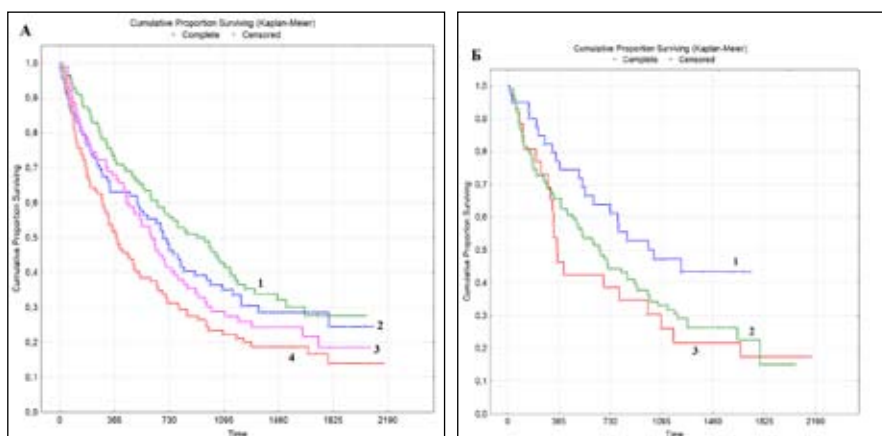


Рис. 2. Многофакторный регрессионный анализ ОВ: А – значения концентрации меняются относительно медианы (1 – ИС<0,311 и ЛДГ>1133, 2 – ИС<0,311 и ЛДГ<1133, 3 – ИС>0,311 и ЛДГ>1133, 4 – ИС>0,311, ЛДГ<1133); Б – значения концентрации ИС и ЛДГ меняются относительно интерквартильного размаха (1 – ИС<0,197 и ЛДГ>1748, 2 – 0,197<ИС<0,478 и 545<ЛДГ<1748, 3 – ИС>0,478, ЛДГ<545)

Таблица 1

Относительный риск и медиана выживаемости при формировании групп относительно медиан концентрации ИС и активности ЛДГ в слюне

Показатель	Категория	Относительный риск (95 % ДИ)	p-value	Медиана выживаемости, мес
ИС, ммоль/л	<0,311	1	0,00244	23,0
	>0,311	1,73 (1,14–2,62)*		14,9
ЛДГ, Е/л	<1133	1	0,04720	15,6
	>1133	0,72 (0,48–1,09)		21,3
ИС + ЛДГ	<0,311, >1133	1	0,00000	24,9
	>0,311, <1133	2,32 (1,29–4,14)*		12,1

Примечание: * – различия статистически значимы, $p<0,05$.

Таблица 2

Относительный риск и медиана ОВ при формировании групп относительно интерквартильного размаха концентрации ИС и активности ЛДГ в слюне

Показатель	Категория	Относительный риск (95 % ДИ)	p-value	Медиана выживаемости, мес
ИС, ммоль/л	<0,197	1	0,02742	21,7
	0,197–0,478	1,41 (0,87–2,28)		17,9
	>0,478	2,64 (1,42–4,82)*		16,6
ЛДГ, Е/л	<545	1	0,00022	11,5
	545–1748	0,78 (0,46–1,34)		19,2
	>1748	0,44 (0,24–0,79)*		23,9
ИС + ЛДГ	<0,197, >1748	1	0,00000	22,4
	>0,478, <575	4,17 (1,36–12,51)*		11,7

Примечание: * – различия статистически значимы, $p < 0,05$.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Global Burden of Disease Cancer Collaboration*. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2017. A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. JAMA Oncol. 2019 Sep 27. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.2996.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена. 2019. 236 с.
3. Hermes A., Gatzemeier U., Waschki B., Reck M. Lactate dehydrogenase as prognostic factor in limited and extensive disease stage small cell lung cancer A retrospective single institution analysis. Respir Med. 2010 Dec; 104(12): 1937–42. doi: 10.1016/j.rmed.2010.07.013.
4. Koh Y.W., Lee S.J., Park S.Y. Prognostic significance of lactate dehydrogenase B according to histologic type of non-small-cell lung cancer and its association with serum lactate dehydrogenase. Pathol Res Pract. 2017 Sep; 213(9): 11341138. doi: 10.1016/j.prp.2017.07.006.
5. Бельская Л.В., Косенок В.К. Уровень сиаловых кислот и имидазольных соединений в слюне больных раком легкого различных гистологических типов. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17(6): 84–91. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-6-84-91.

ПРИМЕНЕНИЕ БИОИМПЕДАНСНОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ТКАНЕЙ ПОСЛЕ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

**Б.К. Бисенбаева¹, Н.Д. Тургунова², К. Сактаганова¹, А.Н. Алейник¹,
Ж.А. Старцева², В.В. Великая²**

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 настоящее время достаточно трудно с достаточной точностью предсказать результаты воздействия радиационного облучения на ткани. Данные измерений показывают, что величина фазового угла уменьшается при облучении, что указывает на разрушение клеток. Показано, что нейтронное облучение приводит к большему количеству поврежденных клеток, чем при гамма-облучении. Биоимпедансная спектроскопия может быть использована для оценки повреждения тканей во время облучения. Это позволит избежать лишних сеансов лучевой терапии. Дальнейшие исследования в этой области помогут создать концепцию электрической биопсии.

Ключевые слова: биоимпеданс, онкология, радиационные повреждения, фазовый угол.

THE USE OF BIOIMPEDANCE SPECTROMETRY FOR MEASUREMENT TISSUE DAMAGE AFTER RADIATION THERAPY

B.K. Bissenbayeva¹, N.D. Turgunova², K. Saktaganova¹, A.N. Aleinik¹,
Zh.A. Startseva², V.V. Velikaya²

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia¹
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia²

Abstract

It is currently quite difficult to predict the effects of radiation on tissues with sufficient accuracy. Measurement data show that the phase angle decreases during irradiation, which indicates cell destruction. As a result of studies, it was confirmed that neutron irradiation leads to more damaged cells than with gamma radiation. Bioimpedance spectroscopy can be used to assess tissue damage during irradiation. This will avoid unnecessary radiation therapy sessions. Further research in this area will help create the concept of electric biopsy.

Key words: bioimpedance, cancer, radiation damages, phase angle, human tissue.

Актуальность

Лучевая терапия является одним из основных видов лечения злокачественных заболеваний. Но излучение влияет на все ткани. Оно разрушает как паренхиматозные, так и сосудистые ткани. Степень тяжести лучевого поражения зависит от дозы и латентного периода, который изменяется в зависимости от типа ткани. В некоторых исследованиях биоимпедансная спектроскопия была использована для контроля радиационных повреждений тканей [1–4]. Исследование пациентов, подвергшихся воздействию радиации, показали, что облучение кожи приводит к снижению проводимости и диэлектрической постоянной, особенно на низких частотах. Частотные зависимости комплексной диэлектрической проницаемости биологических тканей связаны с емкостной зарядкой клеточных мембран и дипольной релаксацией белков. Эти свойства оказываются чувствительными к повреждениям тканей и могут быть полезны для оценки первичного лечения в случаях рецидива опухоли.

Измерение импеданса тканей представляет собой мощный метод определения физиологического статуса живых тканей. Возникающие вследствие патологии нарушения связаны с различными существенными изменениями параметров тканей, что отражается на их электрических свойствах. Диапазон применения биоимпедансной спектроскопии достаточно широк – от обнаружения злокачественных новообразований до контроля ишемии во время операций на сердце или при трансплантации.

Измерение импеданса живых тканей *in vivo* представляет определенные трудности. Прежде всего, это зависит от того, что эти параметры могут отличаться от пациента к пациенту. Электрический импеданс состоит из двух компонент: активного (омического) и реактивного (емкостного) сопротивлений. Первый представляет собой сопротивление межклеточного пространства, в то время как второй – структуры, ограниченные биологическими мембранами клетки.

Целью исследования является оценка возможности применения биоимпедансной спектроскопии для измерения повреждений тканей после лучевой терапии.

Материал и методы

Для проведения измерений был разработан биоимпедансный спектрометр, с применением микросхемы AD5933 (преобразователь импеданса) [5] и микроконтроллера AtMega16 [6]. Для улучшения точности измерений выбрана 4-проводная схема подключения электродов. Такой метод подключения позволяет уменьшить погрешность, возникающую в случае контакта электродов с тканями. В этом случае значительно ослабляется влияние контактного сопротивления электродов с тканью и исключается большая часть случайных и систематических погрешностей. Прибор позволяет измерять комплексный импеданс тканей в диапазоне частот 100 Гц – 100 кГц.

Важной частью устройства является стабильный источник тока, который должен иметь высокое выходное сопротивление по сравнению с сопротивлением нагрузки.

Источник тока генерирует выходной ток, пропорциональный входному напряжению, так что ток нагрузки остается постоянным при различных значениях сопротивления нагрузки. В качестве основы генератора тока выбран источник тока Хоуланда.

В качестве измеряемого параметра выбран фазовый угол φ , который определяет относительный вклад в сопротивление тканей жидкости (сопротивление) и клеточной мембраны (емкость). Он имеет пропорциональную зависимость от емкости и обратную от сопротивления. Существующие данные показывают, что низкие значения фазового угла свидетельствуют о нарушении целостности клеток или их гибели, а более высокие предполагают наличие большого количества неповрежденных клеточных мембран. Величина фазового угла для здоровых тканей варьируется от 4 до 16 градусов.

Измерение фазового угла для диагностических целей подтвердило, что этот параметр имеет большое прогностическое значение при различных заболеваниях, включая сепсис, рак молочной железы, рак легких и рак толстой кишки [7–9]. Более того, было доказано, что φ можно использовать для определения распределения воды между внутриклеточным и внеклеточным пространствами [10–11]. Для проверки работоспособности спектрометра были проведены измерения на схеме модели клетки 2R1C. Значение измеренного фазового угла представлено на рис. 1.

Далее было проведено исследование воздействия лучевой терапии на новообразование. Исследование проводилось на пациентке с раком молочной железы. История пациентки включает хирургическое удаление опухоли, химиотерапию и ДГТ на область правой молочной железы. Однако через несколько лет появился рецидив в области послеоперационного рубца. В связи с техническими причинами циклотрон не работал, сначала был проведен курс фотонной терапии на область местного рецидива, РОД -2,0 Гр, СОД -40,0 Гр [12].

Измерение импеданса провели в начале и в конце курса. Так как значение фазового угла изменилось незначительно, то можно говорить о возможной радиорезистентности образования к фотонной терапии (рис. 2а).

После окончания фотонной терапии был проведен курс нейтронной терапии РОД 1,6 Гр, СОД- 29 изоГр. Из графика видно (рис. 2б), что значение фазового угла после нейтронной терапии увеличилось, что свидетельствует о наличии большого количества разрушенных клеток [13].

Выводы

При проведении сеансов лучевой терапии важно оценить величину и временную реакцию тканей на облучение. Однако реакция опухоли на облучение у разных людей различна. Использование биоимпедансной спектрометрии может минимизировать побочные эффекты. Тем не менее необходимы дальнейшие исследования в этой области, чтобы создать концепцию электрической биопсии.

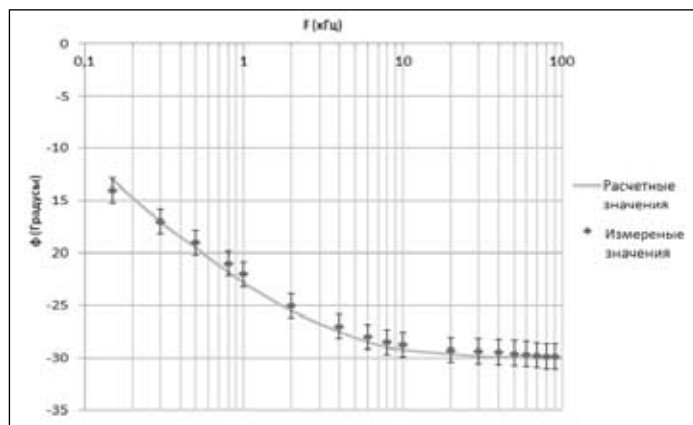


Рис. 1. График спектра фазового угла для 2R1C

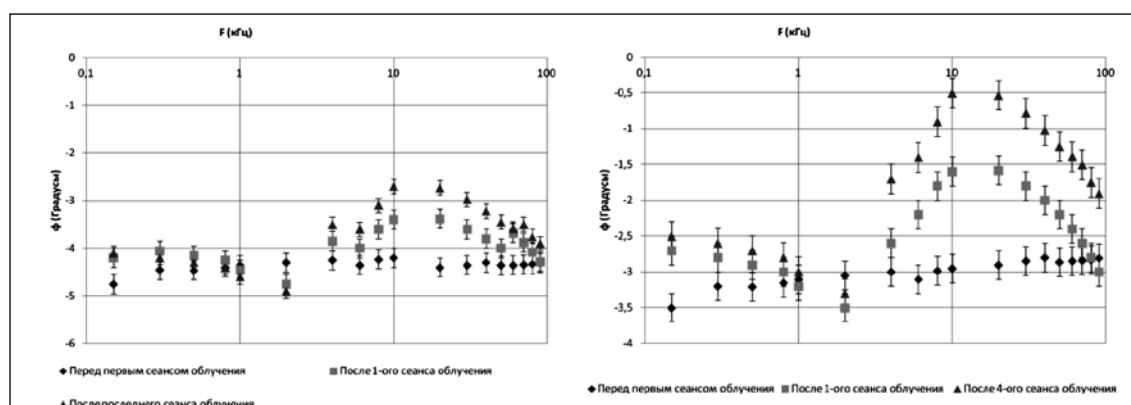


Рис. 2. Зависимость фазового угла от частоты: а) для облученной и необлученной тканей после фотонной терапии; б) для облученной и необлученной тканей после нейтронной терапии

ЛИТЕРАТУРА

1. Tamura T., Tenhunen M., Lahtinen T., Repo T., Schwan H.P. Modelling of the dielectric properties of normal and irradiated skin. *Phys Med Biol.* 1994 Jun; 39(6): 927–36. doi: 10.1088/0031-9155/39/6/001.
2. Nuutinen J., Lahtinen T., Turunen M., Alanen E., Tenhunen M., Usenius T., Kalle R. A dielectric method for measuring early and late reactions in irradiated human skin. *Radiother Oncol.* 1998 Jun; 47(3): 249–54. doi: 10.1016/s0167-8140(97)00234-x.
3. Lahtinen T., Nuutinen J., Alanen E., Turunen M., Nuortio L., Usenius T., Hopewell J.W. Quantitative assessment of protein content in irradiated human skin. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1999 Feb 1; 43(3): 635–8. doi: 10.1016/s0360-3016(98)00439-8.
4. Turgunova N., Velikaya V., Musabaeva L., Aleinik A., Anisanya I., Martemyanova N. Bioimpedance spectroscopy for clinical assessment of tissues and the irradiated cancer tumors. 2012 7th International Forum on Strategic Technology (IFOST), Tomsk, 2012. P. 1–4.
5. Analog Devices AD5933 [Internet]. URL: <http://www.analog.com/en/AD5933/productsearch.html>. (cited 15.01.2010).
6. ATmega16 ATmega16L [Internet]. URL: <http://www.atmel.com/Images/doc2466.pdf>. (cited 15.01.2010).
7. Gupta D., Lammersfeld C.A., Vashi P.G., King J., Dahlk S.L., Grutsch J.F., Lis C.G. Bioelectrical impedance phase angle in clinical practice: implications for prognosis in stage IIIB and IV non-small cell lung cancer. *BMC Cancer.* 2009 Jan 28; 9: 37. doi: 10.1186/1471-2407-9-37.
8. Gupta D., Lammersfeld C.A., Burrows J.L., Dahlk S.L., Vashi P.G., Grutsch J.F., Hoffman S., Lis C.G. Bioelectrical impedance phase angle in clinical practice: implications for prognosis in advanced colorectal cancer. *Am J Clin Nutr.* 2004 Dec; 80(6): 1634–8. doi: 10.1093/ajcn/80.6.1634.
9. Hui D., Bansal S., Morgado M., Dev R., Chisholm G., Bruera E. Phase angle for prognostication of survival in patients with advanced cancer: preliminary findings. *Cancer.* 2014 Jul 15; 120(14): 2207–14. doi: 10.1002/cncr.28624.
10. Selberg O., Selberg D. Norms and correlates of bioimpedance phase angle in healthy human subjects, hospitalized patients, and patients with liver cirrhosis. *Eur J Appl Physiol.* 2002 Apr; 86(6): 509–16. doi: 10.1007/s00421-001-0570-4.
11. Norman K., Stobäus N., Zocher D., Bosy-Westphal A., Szramek A., Scheufele R., Smoliner C., Pirlich M. Cutoff percentiles of bioelectrical phase angle predict functionality, quality of life, and mortality in patients with cancer. *Am J Clin Nutr.* 2010 Sep; 92(3): 6129. doi: 10.3945/ajcn.2010.29215.
12. Великая В.В., Старцева Ж.А., Лисин В.А., Симонов К.А., Попова Н.О., Гольдберг В.Е. Отдаленные результаты комплексного лечения с применением нейтронной терапии у больных местно-распространенным раком молочной железы. Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2018; 27(1): 107–114.
13. Мусабеева Л.И., Гарбуков Е.Ю., Усова А.В., Фролова И.Г., Старцева Ж.А., Великая В.В., Кучерова Т.Я. Лучевая реакция молочной железы после органосохраняющей операции, интраоперационной электронной и дистанционной гамма-терапии. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2012; 57(2): 78–82.

IN VIVO И IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЯ МЕЧЕННЫХ ¹²⁵I ТАРГЕТНЫХ МОЛЕКУЛ ДЛЯ РАДИОНУКЛИДНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ HER2/NEU

О.Д. Брагина¹, Р.В. Зельчан¹, М.С. Ларькина²

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

Аннотация

В настоящее время одной из активно изучаемых молекулярных мишеней является рецептор эпидермального фактора роста Her2/neu, гиперэкспрессия которого ассоциируется с плохим прогнозом и агрессивным течением злокачественных опухолей. В последние годы активно изучается новый класс связывающих белков, получивший название «альтернативные каркасные белки», одним из предста-

вителей которого являются DARPin (Design Ankyrin Repeat Protein), отвечающие всем необходимым требованиям для создания эффективного радиохимического соединения.

Ключевые слова: Her2/neu, молекулярная визуализация, радионуклидная диагностика, злокачественные образования, DARPins.

IN VIVO AND IN VITRO STUDIES OF ¹²⁵I-LABELED TARGETED MOLECULES FOR RADIONUCLIDE DIAGNOSTICS OF MALIGNANT TUMORS WITH HER2/NEU OVEREXPRESSION

O.D. Bragina¹, R.V. Zelchan¹, M.S. Larkina²

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

Abstract

Her2/neu is one of the most studied molecular targets, the overexpression of which is associated with poor prognosis and aggressive course of the disease. Modern non-invasive radionuclide techniques with the application of highly affinity directed molecules are promising in molecular imaging. Recently, a new class of binding proteins called "alternative skeletal proteins" has been actively studied. DARPin (Design Ankyrin Repeat Protein) has all necessary requirements for creation of effective radiopharmaceuticals.

Key words: Her2/neu, molecular imaging, radionuclide diagnostics, malignancies, DARPins.

В последние годы все большую популярность получают таргетные радиофармпрепараты, обладающие высокой специфичностью к различным молекулярным мишеням [1, 2]. В настоящее время для этих целей используются новые молекулярные структуры, получившие название «альтернативные каркасные белки» [3–5]. Одним из представителей адресных молекул неиммуноглобулиновой природы является DARPin (Design Ankyrin Repeat Protein) [6–8], к преимуществам которого относятся небольшой размер (14–20 кДа), стабильная структура, высокая специфичность и аффинность к антигену [1, 2], а также значительно более низкая стоимость производства, обусловленная их экспрессией в бактериальных средах [9–11]. Одной из активно изучаемых молекулярных мишеней по-прежнему остается рецептор эпидермального роста Her2/neu [12, 13], гиперэкспрессия которого определяется на поверхности опухолевых клеток при раке молочной железы, реже – при раке яичников, желудка, простаты и пр. [14, 15] и характеризуется неблагоприятным прогнозом относительно безрецидивной и общей выживаемости [16–18].

Цель исследования – изучение эффективности радиохимического соединения на основе меченных ¹²⁵I таргетных молекул DARPin_{9_29} для радионуклидной диагностики злокачественных опухолей с гиперэкспрессией Her2/neu.

Материал и методы

Мечение и определение стабильности. К раствору DARPin_{9_29} (40 мкг, 2,20 нмоль) в PBS (натрий-фосфатный буфер) (47 мкл) были добавлены Na¹²⁵I (3 мкл, 10 MBq) и хлорамин Т (20 мкг, 71 нмоль). После инкубации в течение 60 сек при комнатной температуре был добавлен метабисульфит натрия (40 мкг, 211 нмоль).

Радиохимические выход и чистота определялись с использованием TCPX, очищение проводилось с помощью колонок NAP-5 (GE Healthcare). Тест на стабильность выполнялся с помощью инкубации меченого протеина в растворе PBS при комнатной температуре в течение 1 и 3 ч, анализ выполнялся TCPX. Анализ хроматограмм проводили с использованием хроматографа Hitachi Chromaster HPLC systems с радиоактивным детектором. Радиоактивность измерялась с помощью автоматизированного гамма-спектрометра с NaI(Tl) детектором (1480 Wizard, Wallac, Finland).

Клеточные линии и условия культивирования. В *in vitro* исследованиях использовались 3 клеточные линии с различным уровнем экспрессии Her2/neu: SKOV-3 > BT474 >> DU-145. Клетки высевали в 3 см чашки Петри (106 клеток на чашку) по 2 на каждую линию за 2 дня до исследования до образования монослоя. Блокирование клеток выполнялось путем добавления немеченного DARPin_{9_29} (500 мкл, 1000 нмоль) в 1 из чашек Петри каждой

клеточной линии, после инкубации в течение 30 мин при температуре 37 °C во все чашки добавлялось меченое соединение (500 мк, 20 нмоль).

Исследования на животных. Для имплантации использовались 5×10⁷ клеток SKOV-3 в 100 мкл среды, которые вводились подкожно в правую заднюю конечность мышам-самкам BALB/c nu/nu, исследования выполнялись через 2,5 нед после имплантации. Средний вес животных составил 16±1 г, средний вес опухоли – 0,26±0,16 г.

Содержание животных и уход за ними производились в соответствии с законодательными и нормативными документами, регламентирующими работу с лабораторными животными, а также согласно этическо-правовым нормам Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986).

Всем мышам проводилась инъекция препарата (4 мкг, 4,4 МБк), через 6 ч после внутривенного введения выполнялось исследование с использованием nanoScan ОФЭКТ/КТ (Mediso Medical Imaging System, Hungary) после предварительной наркотизации, проводимой путем ингаляции этилового эфира. Вывод животных из эксперимента осуществлялся путем цервикальной дислокации.

Результаты

При выполнении прямой радиойодиназации DARPIn9_29 радиохимический выход составил 96,2 ± 0,7 %, радиохимическая чистота – 99,7 ± 0,5 %. Показатели стабильности в растворе PBS через 1 ч составили 99,7 ± 0,4; через 3 ч – 97,9 ± 1,0. По результатам *in vitro* исследований была показана связь уровня экспрессии Her2/neu клеток с накоплением изучаемого соединения. Блокирование рецепторов избытком немеченного протеина продемонстрировало значительное снижение связывания в группе клеток с добавлением последнего (p<0,05). Основными характеристиками являлись быстрое выведение из кровотока, а также относительно невысокие показатели накопления изучаемого соединения в легких, печени и селезенке, почках и костях.

Результаты проведения ОФЭКТ/КТ для лабораторных животных подтвердили результаты биораспределения исследуемого соединения, при этом опухоль с гиперэкспрессией Her2/neu визуализировалась во всех случаях, также отмечалось отчетливое накопление радиоиндикатора в мочевом пузыре.

Заключение

Существующие до сих пор вопросы, касающиеся адекватного определения статуса Her2/neu, диктуют необходимость поиска новых дополнительных методов диагностики [19, 20]. Выполненные исследования продемонстрировали, что новое соединение обладает высокими показателями радиохимических выхода и чистоты, а также стабильностью. Данные *in vitro* и *in vivo* исследований показали чувствительность и специфичность препарата к рецептору Her2/neu. Таким образом, проведение дополнительных исследований делает его перспективным агентом для диагностики онкологических заболеваний с гиперэкспрессией Her2/neu.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойнзонов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных новообразований. Бюллетень сибирской медицины. 2018; 1(17): 220–231.
2. Брагина О.Д., Чернов В.И., Зельчан Р.В., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Ларькина М.С. Альтернативные каркасные белки в радионуклидной диагностике злокачественных заболеваний. Бюллетень сибирской медицины. 2019; 3(18): 125–133.
3. De Vos J., Devoogdt N., Lahoutte T., Muyltermans S. Camelid single-domain antibody-fragment engineering for (pre)clinical in vivo molecular imaging applications: adjusting the bullet to its target. Expert Opin Biol Ther. 2013 Aug; 13(8): 1149–60. doi: 10.1517/14712598.2013.800478.
4. Miao Z., Levi J., Cheng Z. Protein scaffold-based molecular probes for cancer molecular imaging. Amino Acids. 2011 Nov; 41(5): 1037–47. doi: 10.1007/s00726–010–0503–9.
5. Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Тицкая А.А., Зельчан Р.В. Радиоиммунотерапия в лечении злокачественных образований. Сибирский онкологический журнал. 2016; 15(2): 101106. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-2-101-106.
6. Чернов В.И., Брагина О.Д., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Ларькина М.С., Стасюк Е.С., Нестеров Е.А., Скуридин В.С. Меченые аналоги соматостатина в тераностике нейроэндокринных опухолей. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2017; 3(62): 42–49.
7. Lindbo S., Garousi J., Mitran B., Altai M., Buijs J., Orlova A., Hober S., Tolmachev V. Radionuclide Tumor Targeting Using ADAPT Scaffold Proteins: Aspects of Label Positioning and Residualizing Properties of the Label. J Nucl Med. 2018 Jan; 59(1): 93–99. doi: 10.2967/jnumed.117.197202.
8. Nicholes N., Date A., Beaujean P., Hauk P., Kanwar M., Ostermeier M. Modular protein switches derived from antibody mimetic proteins. Protein Eng Des Sel. 2016 Feb; 29(2): 77–85. doi: 10.1093/protein/gzv062.
9. Vorobyeva A., Schulga A., Konovalova E., Güler R., Löfblom J., Sandström M., Garousi J., Chernov V., Bragina O., Orlova A., Tolmachev V., Deyev S.M. Optimal composition and position of histidine-containing tags improves biodistribution of 99mTc-labeled DARPInG3. Sci Rep. 2019 Jun 28; 9(1): 9405. doi: 10.1038/s41598-019-45795-8.
10. Vorobyeva A., Bragina O., Altai M., Mitran B., Orlova A., Shulga A., Proshkina G., Chernov V., Tolmachev V., Deyev S. Comparative Evaluation of Radioiodine and Technetium-Labeled DARPIn 9_29 for Radionuclide Molecular Imaging of HER2 Expression in Malignant Tumors. Contrast Media Mol Imaging. 2018 Jun 6; 2018: 6930425. doi: 10.1155/2018/6930425.
11. Sorensen J., Sandberg D., Sandstrom M., Wennborg A., Feldwisch J., Tolmachev V., Aström G., Lubberink M., Garske-Román U., Carlsson J., Lindman H. First-in-human molecular imaging of HER2 expression in breast cancer metastases using the ¹¹¹In-ABY-025 affibody molecule. J Nucl Med. 2014 May; 55(5): 730–5. doi: 10.2967/jnumed.113.131243.
12. Tamaskovic R., Simon M., Stefan N., Schwill M., Plückthun A. Designed ankyrin repeat proteins (DARPs) from research to therapy. Methods Enzymol. 2012; 503: 101–34. doi: 10.1016/B978-0-12-396962-0.00005-7.

13. Zavyalova M., Vtorushin S., Krakhmal N., Savelieva O., Tashireva L., Kaigorodova E., Perelmuter V., Telegina N., Denisov E., Bragina O., Slonimskaya E., Choyznov E. Clinicopathological features of nonspecific invasive breast cancer according to its molecular subtype. *Experimental Oncology*. 2016; 2(38): 122–127.

14. Брагина О.Д., Ларькина М.С., Стасюк Е.С., Чернов В.И., Юсубов М.С., Скуридин В.С., Деев С.М., Зельчан Р.В., Булдаков М.А., Подрезова Е.В., Белоусов М.В. Разработка высокоспецифичного радиохимического соединения на основе меченых ^{99m}Tc рекомбинантных адресных молекул для визуализации клеток с гиперэкспрессией Her-2/neu. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16(3): 25–33.

15. Goldstein R., Sosabowski J., Livanos M., Leyton J., Vigor K., Bhavsar G., Nagy-Davidescu G., Rashid M., Miranda E., Yeung J., Tolner B., Plückthun A., Mather S., Meyer T., Chester K. Development of the designed ankyrin repeat protein (DARPin) G3 for HER2 molecular imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2015 Feb; 42(2): 288–301. doi: 10.1007/s00259-014-2940-2.

16. Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радионуклидная тераностика злокачественных образований. *Вестник рентгенологии и радиологии*. 2016; 97(5): 306–313.

17. Chernov V.I., Sinilkin I.G., Zelchan R.V., Medvedeva A.A., Lyapunov A.Yu., Bragina O.D., Varlamova N.V., Skuridin V.S. Experimental study of ^{99m}Tc – aluminium oxide use for sentinel lymph nodes detection. *AIP Conference Proceedings* 2016. P. 020012–5.

18. Plückthun A. Designed ankyrin repeat proteins (DARPins): binding proteins for research, diagnostics, and therapy. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2015; 55: 489–511. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010611-134654.

19. Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радионуклеотидная терапия: современное состояние проблемы. *Вопросы онкологии*. 2019; 1(16): 24–34.

20. Kramer L., Renko M., Završnik J., Turk D., Seeger M.A., Vasiljeva O., Grütter M.G., Turk V., Turk B. Non-invasive in vivo imaging of tumour-associated cathepsin B by a highly selective inhibitory DARPin. *Theranostics*. 2017 Jul 8; 7(11): 2806–2821. doi: 10.7150/thno.19081.

АССОЦИАЦИЯ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ В ТКАНИ ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ С ЛИМФОГЕННЫМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ У БОЛЬНЫХ ИНВАЗИВНОЙ КАРЦИНОМОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ТИПА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.В. Бузенкова, Л.А. Таширева, О.Е. Савельева, Е.В. Кайгородова

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

Аннотация

Метастазирование является основной причиной смертности при раке молочной железы. В настоящем исследовании охарактеризована связь клеток-предшественников, потенциально имеющих отношение к опухолевой нише, с развитием лимфогенного метастазирования у больных инвазивной карциномой молочной железы неспецифического типа (ИКНТ). В исследование было включено 15 пациенток с установленным диагнозом ИКНТ (от 29 до 70 лет; средний возраст: $51,4 \pm 10,4$; T1–3N0–3M0), не получавших предоперационного лечения. В образцах свежемороженого операционного опухолевого материала с использованием антител против CD34, CD133, CD90, VEGFR1, CD11b, CD45, CD202 методом проточной цитофлуориметрии выявляли костномозговые клетки-предшественники. Оценивались их количество и частота встречаемости в ткани ИКНТ. Показано, что совокупность гемопоэтических клеток-предшественников (HPC), эндотелиальных клеток-предшественников (EPC) и мезенхимальных стволовых клеток (MSC), потенциально представляющих опухолевую нишу, ассоциирована с развитием лимфогенного метастазирования у больных ИКНТ.

Ключевые слова: рак молочной железы, опухолевая ниша, преметастатическая ниша, костномозговые клетки-предшественники, лимфогенное метастазирование.

PRECURSOR CELLS ASSOCIATION IN PRIMARY TUMOR TISSUE IN PATIENTS WITH NO SPECIAL TYPE INVASIVE CARCINOMA AND THEIR INVOLVEMENT IN LYMPHOGENIC METASTASIS

A.V. Buzenkova, L.A. Tashireva, O.E. Savelyeva, E.V. Kaygorodova

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

Abstract

Metastatic disease is the main cause of death due to breast cancer. The association of the progenitor cells related to tumor niche with lymphogenic metastasis was described in this study. Our study included 15 patients with invasive breast carcinoma of non-specific type (IC NST) (age from 29 to 70; average age: $51,4 \pm 10,4$; $T_{1-3}N_{0-3}M_0$). No one of them had previous neoadjuvant chemotherapy course. The bone marrow progenitor cells were determined using the flow cytometry method and specific antibodies against CD34, CD133, CD90, VEGFR1, CD11b, CD45, and CD202 in the cell-rich fluid from frozen tumor. The number and frequency of progenitor cells in the tissue of the IC NST were estimated in this study. It was found that the complex of hematopoietic progenitor cells (HPC), endothelial progenitor cells (EPC) and mesenchymal stem cells (MSC) form a constituent part of the tumor niche associated with lymphogenic metastasis.

Key words: breast cancer, tumor niche, premetastatic niche, bone marrow-derived cells, lymphogenic metastasis.

Актуальность

В настоящее время рак молочной железы – самая распространённая форма онкологических новообразований у женщин различных возрастных групп [1]. Основной причиной смертности при раке молочной железы являются метастатические поражения [2], формирование которых обусловлено рядом причин [3].

Ранее считалось, что процессы малигнизации обусловлены исключительно входящими в состав паренхимы пролиферирующими опухолевыми клетками. Однако формирующаяся параллельно паренхиме строма опухоли является не только её каркасом, но за счёт своего разнообразного клеточного состава она способна принимать активное участие в прогрессировании опухолевого роста [4]. Строма опухоли имеет сложный состав. Инфильтрирующие её клетки (фибробласты, клетки иммунной системы), а также компоненты внеклеточного матрикса и сосудистой сети формируют опухолевую нишу [3]. Согласно современным представлениям, прогрессирование опухолевого роста зависит не только от событий, происходящих в опухолевой нише, но и от так называемых преметастатических ниш [5, 6], локализация которых определяется формированием участков хронического персистирующего воспаления, вызванного активной секрецией цитокинов первичной опухоли либо протекающего независимо от опухолевого процесса [7].

Известно, что активное участие в формировании преметастатических ниш принимают костномозговые клетки-предшественники. Мезенхимальные стволовые клетки (MSC) являются предшественниками фибробластов, формирующих строму опухоли [8]. Богатые фибронектином ремоделированные участки ткани привлекательны для гемопоэтических клеток-предшественников (HPC), рекрутированных из костного мозга (KM) [9]. Входя в состав опухолевых ниш, HPC синтезирует спектр цитокинов, способствующих повышенной проницаемости сосудов, усиленной пролиферации опухолевых клеток и мобилизации других клеток-предшественников из KM [10]. Эндотелиальные клетки-предшественники (EPC) обеспечивают неоангиогенез в опухоли [11, 12]. Поскольку опухолевая ниша, как правило, формируется на месте хронического воспаления, присутствие в ней предшественников макрофагов (MFP) закономерно. MFP дают начало опухоль-ассоциированным макрофагам (TAMs). TAMs вырабатывают эпидермальный фактор роста (EGF), который, в свою очередь, способствует поддержанию неконтролируемого роста и деления опухолевых клеток [13].

В связи с этим особый интерес представляет установление связи особенностей наличия и состава клеток-предшественников в опухолевой строме со статусом лимфогенного метастазирования.

Цель исследования – изучить ассоциацию клеток-предшественников в ткани первичной опухоли с развитием лимфогенного метастазирования у больных инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы.

Материал и методы

В исследование вошли 15 пациенток (от 29 до 70 лет; средний возраст $51,4 \pm 10,4$; $T1-4N0-3M0$), с установленным диагнозом: инвазивная карцинома неспецифического типа молочной железы, проходивших лечение в клиниках НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2014 по 2016 г. Данный диагноз был установлен на основании стандартных клинических, морфологических и иммуногистохимических критериев. Все пациентки подверглись хирургическому вмешательству (операции радикальной мастэктомии или секторальной резекции ткани первичной опухоли и молочной железы). В 6 из 15 случаев у пациенток были обнаружены лимфогенные метастазы, в 9 случаях они отсутствовали. На основании данного критерия все больные были разделены на 2 группы: с отсутствием лимфогенных

метастазов и с наличием лимфогенных метастазов. Предоперационного лечения больные не получали. Исследование проводилось при информированном согласии пациенток и одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 10 от 24.04.2015).

Методом дезагрегации с помощью BD Medimachine System (BD, USA) из образцов свежзамороженного опухолевого материала изготавливались клеточные суспензии. Общая клеточность полученных суспензий определялась с помощью Scepter Cell Counter (Merck-Millipore, USA). Используя панель антител против CD34, CD133, CD90, VEGFR1, CD11b, CD45, CD202 в полученных суспензиях выявляли мезенхимальные стволовые клетки, клетки-предшественники макрофагов, эндотелиальные и гемопоэтические клетки-предшественники. Иммунофенотипирование клеток осуществляли на цитометре BD FACS Canto II. Количество клеток-предшественников стандартизировали на 100 нестволовых опухолевых клеток.

Для статистической обработки данных был использован пакет программ IBM SPSS Statistics 22.0 (Armonk, USA). Нормальность распределения количественных показателей оценивали при помощи критерия Шапиро – Уилка. Параметры, не подчиняющиеся нормальному закону распределения, описывали с помощью медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q1–Q3). Для сравнения частот встречаемости использовался точный критерий Фишера. Оценка достоверности различий между двумя независимыми выборками осуществлялась при помощи критерия Манна – Уитни. Для оценки различий параметров нескольких независимых выборок применяли критерий Краскела – Уоллиса. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Были оценены количество и частота встречаемости клеток-предшественников различных популяций в ткани инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы. Установлено, что НРС и MFP встречаются в ткани инвазивной карциномы неспецифического типа в 100 % случаев, в то время как ЕРС и MSC – в 79 % случаев. Количество клеток-предшественников в ткани ИКНТ различно ($p=0,006$). При этом количество MSC (3,51 (0,09–11,91)) значительно превышает количество ЕРС (1,99 (0,02–3,71), ($p=0,015$)), а MFP (1,36 (0,77–2,30)) являются самой малочисленной ($p_{\text{MFP-MS}}=0,022$, $p_{\text{MFP-NPC}}=0,000$) популяцией среди оцениваемых клеток.

Поскольку опухолевая ниша – это не отдельные клеточные популяции, а совокупность клеток и компонентов внеклеточного матрикса, была посчитана сумма всех возможных комбинаций клеток-предшественников в группах больных с отсутствием и наличием лимфогенных метастазов. Было показано, что с лимфогенными метастазированием ассоциирована сумма НРС и MSC, присутствующих в ткани опухоли ($p=0,042$). Добавление количества ЕРС к сумме НРС и MSC увеличивает силу ассоциативной связи ($p=0,028$), что может свидетельствовать о необходимом участии ЕРС в формировании опухолевой ниши.

Выводы

Показано, что совокупность гемопоэтических клеток-предшественников (НРС), эндотелиальных клеток-предшественников (ЕРС) и мезенхимальных стволовых клеток (МСС), потенциально представляющих опухолевую нишу, ассоциирована с развитием лимфогенного метастазирования у больных ИКНТ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации, НШ-2701.2020.7

ЛИТЕРАТУРА

1. Harbeck N., Gnant M. Breast cancer. Lancet. 2017 Mar; 389(10074): 1134–1150. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31891-8.
2. Xiong Z., Deng G., Huang X. Score for the Survival Probability in Metastasis Breast Cancer: A Nomogram-Based Risk Assessment Model. Cancer Res Treat. 2018 Oct; 50(4): 1260–1269. doi: 10.4143/crt.2017.443.
3. Barcellos-Hoff M., Lyden D., Wang T. The evolution of the cancer niche during multistage carcinogenesis. Nat Rev Cancer. 2013 Jul; 13(7): 511–8. doi: 10.1038/nrc3536.
4. Zalatnai A. Molecular Aspects of Stromal–Parenchymal Interactions in Malignant Neoplasms. Curr Mol Med. 2006 Sep; 6(6): 685–93. doi: 10.2174/156652406778195053.
5. Psaila B., Lyden D. The metastatic niche: adapting the foreign soil. Nat Rev Cancer. 2009 Apr; 9(4): 285–93. doi: 10.1038/nrc2621.
6. Plaks V., Kong N., Werb Z. The Cancer Stem Cell Niche: How Essential is the Niche in Regulating Stemness of Tumor Cells. Cell Stem Cell. 2015 Mar 5; 16(3): 225–38. doi: 10.1016/j.stem.2015.02.015.
7. Perelmutter V.M., Mansikh V.N. Preniche as the link of metastatic niche concept explaining organ – preferential metastases formation and the type of metastatic disease. Biochemistry (Mosc). 2012 Jan; 77(1): 11–18. doi: 10.1134/S0006297912010142.
8. Augsten M. Cancer-Associated Fibroblasts as Another Polarized Cell Type of the Tumor Microenvironment. Front Oncol. 2014 Mar 27; 4: 62. doi: 10.3389/fonc.2014.00062.
9. Luo H., Tu Z., Liu Z. Cancer-associated fibroblasts: a multifaceted driver of breast cancer progression. Cancer Lett. 2015 Jun; 361(2): 155–63. doi: 10.1016/j.canlet.2015.02.018.
10. Karnoub A.E., Dash A.P. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. Nature. 2007 Oct; 449(7162): 557–63. doi: 10.1038/nature06188.

11. Timmermans F., Plum J. Endothelial progenitor cells. Cell Mol Med. 2009 Jan; 13(1): 87–102. doi: 10.1111/j.1582-4934.2008.00598.

12. Sepúlveda P., Martínez-León J. Neoangiogenesis with endothelial precursors for the treatment of ischemia. Transplant Proc. 2007 Sep; 39(7): 2089–94. doi: 10.1016/j.transproceed.2007.07.009.

13. Lewis C.E., Pollard J.W. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. Cancer Res. 2006 Jan 15; 66(2): 605–12. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-4005.

СРАВНЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНЫХ КРИВЫХ ПЛЕНОЧНЫХ ДОЗИМЕТРОВ, ПОЛУЧЕННЫХ НА МЕДИЦИНСКИХ ЭЛЕКТРОННЫХ И ФОТОННЫХ ПУЧКАХ

**Е.А. Бушмина¹, А.А. Булавская¹, Б.М. Гавриков², А.А. Григорьева¹,
Ю.А. Зубкова¹, С.А. Кудрявцев³, И.А. Милойчикова^{1,4}, Ю.М. Черепенников¹,
С.Г. Стучебров¹**

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия¹

Московская городская онкологическая больница № 62, пос. Истра, Россия²

Многопрофильный клинический медицинский центр «Медицинский город», г. Тюмень, Россия³

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный

исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия⁴

Аннотация

В работе представлены результаты калибровки пленочного дозиметра GafChromic EBT3 на медицинских электронных и фотонных пучках. В качестве источников излучения использовались терапевтические линейные ускорители TrueBeam 2.0 и ONCOR Impression Plus. Показано, что калибровочные кривые, полученные для разных параметров оцифровки, находятся в хорошем согласии. Наблюдается хорошее совпадение результатов, полученных для электронных и фотонных пучков, в диапазоне доз до 5 Гр. Однако с увеличением дозы увеличивается расхождение кривых, которое достигает 5 % в диапазоне доз 5–10 Гр. Полученные данные говорят о том, что калибровочные кривые должны быть определены для каждого типа излучения в заданном диапазоне доз.

Ключевые слова: пленочные дозиметры, клинический ускоритель, лучевая терапия, медицинский электронный пучок, медицинский фотонный пучок.

COMPARISON OF FILM CALIBRATION CURVES FOR ELECTRON AND PHOTON MEDICAL BEAMS

**E.A. Bushmina¹, A.A. Bulavskaya¹, B.M. Gavrikov², A.A. Grigorieva¹,
Yu.A. Zubkova¹, S.A. Kudryavtsev³, I.A. Miloichikova^{1,4}, Yu.M. Cherepennikov¹,
S.G. Stuchebrov¹**

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia¹

Moscow City Oncology Hospital No 62, IstraVill, Russia²

Multidisciplinary clinical medical center «Medical Campus City», Tyumen, Russia³

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia⁴

Abstract

This work demonstrates results of GafChromic EBT3 dosimetry film calibration for electron and photon medical beams. Therapeutic linear accelerators TrueBeam 2.0 and ONCOR Impression Plus were used as radiation beam sources. Results show good agreement in calibration curves observed for different digitization parameters. Calibration curves for electron and photon beams closely matches in dose range up to 5 Gy. However, difference in these curves increases with dose growing and reaches 5 % in 5–10 Gy dose range. Observed results show that calibration curves should be measured for particular radiation type in a prescribed dose range.

Key words: dosimetry film, clinical accelerator, radiation therapy, medical electron beam, medical photon beam.

Актуальность

Онкологические заболевания являются самыми распространенными заболеваниями в мире, но их лечение стало возможным с помощью комплексов процедур химиотерапии, лучевой терапии и хирургии. Лучевая терапия представляет собой лечение онкологических заболеваний с помощью воздействия ионизирующего излучения на патологически измененные ткани [1]. Однако необходимо проводить планирование данных процедур таким образом, чтобы облучить как можно меньше здоровых тканей.

В настоящее время для формирования электронных полей облучения используются стандартные наборы блоков и коллиматоров или персонализированные металлические коллиматоры [2]. Но для создания таких коллиматоров нужно иметь специальное помещение и дорогостоящее оборудование, включающее устройства для их создания и вентиляционные системы для очистки помещения от токсичных паров металлов, а также необходим специально подготовленный персонал. Для эффективного экранирования здоровых тканей предлагается формировать медицинские пучки при помощи полимерных коллиматоров, созданных посредством аддитивных технологий [3]. Для оценки работоспособности предложенного метода необходимо проводить измерение формы поля облучения до и после применения коллимационных устройств. Одним из наиболее распространенных подходов к измерению формы медицинских пучков является применение пленочных дозиметров [4, 5]. Принцип их действия основан на том, что под действием ионизирующего излучения в активном слое пленки запускается реакция полимеризации с высвобождением красителя синего цвета. Таким образом, глубина изменения цвета пленки (оптическая плотность) зависит от дозы [4]. Для корректной интерпретации результатов, полученных с помощью пленочных дозиметров, необходимо проводить калибровку каждой партии пленок. Так как для проведения сеансов лучевой терапии используются различные виды ионизирующего излучения, необходимо исследовать отклик пленочного дозиметра в зависимости от типа используемых пучков [1, 5, 6]. В данной работе рассматриваются электронные и фотонные пучки как наиболее распространенные [1].

Целью исследования стало проведение калибровки пленочных дозиметров на медицинских электронных и фотонных пучках.

Материал и методы

В работе были использованы пленочные дозиметры GafChromic EBT3 (AshlandInc., США), партия №08251502[7]. В первом эксперименте пленки облучались фотонным пучком с энергией 10 МэВ, генерируемым клиническим линейным ускорителем TrueBeam 2.0 (VarianMedicalSystemsInc., США) [8] в Государственном автономном учреждении здравоохранения Тюменской области «Многопрофильный клинический медицинский центр «Медицинский город». Пленки помещались в твердотельный фантом Solid Water HE (SunNuclearCorporation, Германия) [9] на глубине максимума дозы в воде. На втором этапе работы пленки облучались электронным пучком клинического линейного ускорителя ONCOR ImpressionPlus (Siemens, OncologyCareSystems, Германия) [10] в Московской городской онкологической больнице № 62. В данном эксперименте пленки помещались в твердотельный фантом SP34 (IBADosimetryGmbH, Германия) [11]. Эксперименты проводились при стандартных условиях облучения. Медицинские пучки фотонов и электронов были предварительно откалиброваны согласно международным протоколам.

После облучения пленочные дозиметры были оцифрованы при помощи сканера EpsonPerfection V750 Pro [12]. Получены изображения с глубиной цвета 48 бит с разрешением 72 и 150 dpi, что соответствует размеру пикселя 0,35 и 0,17 мм соответственно. Полученные данные были сохранены в формате TIF. Для обработки полученных результатов был использован пакет прикладных программ MATLAB [13]. Построение калибровочных кривых проводилось по красному каналу цветности в диапазоне доз до 20 Гр для фотонного и до 10 Гр для электронных пучков.

Результаты

На рис. 1 представлены зависимости дозы фотонного (рис. 1,а) и электронного (рис. 1,б) пучков от оптической плотности оцифрованного пленочного дозиметра, полученные для изображений с разрешением 72 и 150 dpi. Аппроксимация проводилась полиномом пятой степени.

Из рис. 1 видно, что калибровочные кривые, полученные для разных параметров оцифровки, находятся в хорошем согласии. Это позволяет сделать вывод о том, что увеличение разрешения не приводит к возникновению дополнительной погрешности, связанной с неоднородностью пленки. Для дальнейшего сравнения отклика дозиметрической пленки в зависимости от типа излучения было выбрано более высокое разрешение – 150 dpi.

Сравнение калибровочных кривых, полученных для медицинских фотонных и электронных пучков, представлено на рис. 2.

На рис. 2 видно, что калибровочные кривые для фотонных и электронных пучков совпадают в области небольших доз (до 5 Гр) и расходятся с увеличением дозы. Максимальное расхождение в оптической плотности достигает 5 % в диапазоне доз 5–10 Гр. Таким образом, при проведении исследований с использованием данных пленочных дозиметров в диапазоне доз до 5 Гр можно использовать одну калибровочную кривую как для фотонного пучка, так и для электронного. При дозах свыше 5 Гр необходимо использовать отдельную калибровочную кривую для каждого вида излучения.

Выводы

Таким образом, в работе показано, что калибровочные кривые для пленочных дозиметров GafChromic EBT3 должны быть определены для каждого типа излучения в заданном диапазоне доз.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-79-10052)

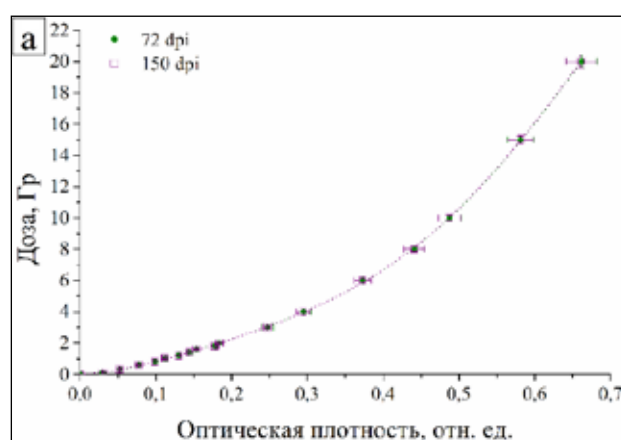


Рис. 1. Зависимость поглощенной дозы от чистой оптической плотности дозиметрической пленки GafChromic EBT3 для красного канала цветности, полученная на медицинских пучках: а – фотонов; б – электронов

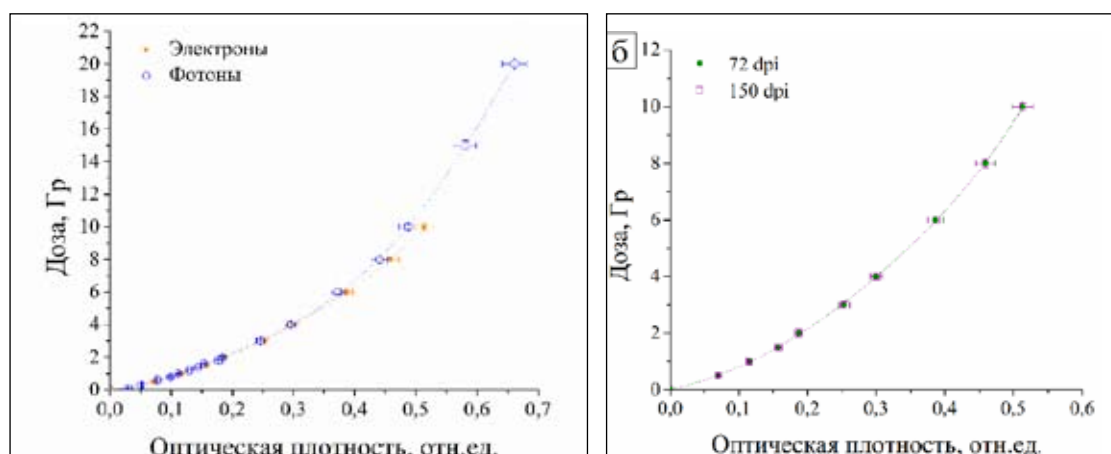


Рис. 2. Зависимость поглощенной дозы фотонных и электронных пучков от чистой оптической плотности дозиметрической пленки GafChromic EBT3 для красного канала цветности (разрешение 150 dpi)

ЛИТЕРАТУРА

1. Khan F.M., Gibbons J.P. Khan's the physics of radiation therapy. LippincottWilliams&Wilkins, 2014. 572 p.
2. Красных А.А., Черепенников Ю.М., Стучебров С.Г., Милойчикова И.А., Гавриков Б.М., Белоусов Д.А., Казарян М.А. Сравнение рассеяния электронного пучка на краях коллиматоров из пластика и металла. Краткие сообщения по физике Физического института им. П.Н. Лебедева Российской академии наук. 2019; 46(7): 15–20.
3. Милойчикова И.А., Гавриков Б.М., Красных А.А., Черепенников Ю.М., Шевченко М.В., Стучебров С.Г. Сравнение эффективности формирования терапевтических пучков электронов металлическими коллиматорами и изделиями, изготовленными методом быстрого прототипирования. Письма в журнал Физика элементарных частиц и атомного ядра. 2018; 15(7 (219)): 964–969.

4. Sipilä P., Ojala J., Kaijalainen S., Jokelainen I., Kosunen A. Gafchromic EBT3 film dosimetry in electron beams energy dependence and improved film read-out. *Journal of applied clinical medical physics*. 2016; 17(1): 360–373.
5. Sorriaux J., Kacperek A., Rossomme S., Lee J.A., Bertrand D., Vynckier S., Sterpin E. Evaluation of Gafchromic® EBT3 films characteristics in therapy photon, electron and proton beams. *Physica Medica*. 2013; 29(6): 599–606.
6. Великая В.В., Старцева Ж.А., Лусин В.А., Симонов К.А., Попова Н.О., Гольдберг В.Е. Отдаленные результаты комплексного лечения с применением нейтронной терапии у больных местно-распространенным раком молочной железы. *Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра)*. 2018; 27(1): 107–114.
7. Gafchromic Dosimetry Media, TYPE EBT-3 [Internet]. URL: http://www.gafchromic.com/documents/EBT3_Specifications.pdf.
8. The True Beamsystem [Internet]. URL: https://www.varian.com/sites/default/files/resource_attachments/TrueBeamBrochure_RAD10119D_September2013.pdf.
9. Solid Water HE – Sun Nuclear Corporation [Internet]. URL: https://www.sunnuclear.com/solutions/machineqa/solid_water_he.
10. ONCOR Digital Medical Linear Accelerator Specifications [Internet]. URL: <http://www.siemens.com.tr/i/assets/saglik/onkoloji/oncor.pdf>.
11. RW3 Slap Phantom T29672 [Internet]. URL: <https://drct.com/dss/INSTRUMENTATION/ptw/phantoms.html>.
12. EpsonPerfection V750 [Internet]. URL: <http://www.epson.ru/catalog/scanners/epson-perfection-v750-pro/>.
13. MATLAB [Internet]. URL: <https://www.mathworks.com/products/matlab.html>.

МАРКЕРЫ СТВОЛОВОСТИ MYC И OCT4 В ОПУХОЛЕВЫХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ И СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ИХ СВЯЗЬ С ИСХОДОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ

**В.А. Бычков¹, Ю.А. Небова^{1,2}, М.М. Цыганов¹, М.К. Ибрагимов¹,
Л.А. Таширева¹, Л.Н. Бондарь¹, Н.В. Литвяков¹**

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Остается неясной прогностическая роль и функциональное состояние опухолевых клеток, экспрессирующих маркеры стволовых клеток при раке молочной железы. **Цель исследования** – изучить экспрессию Myc и Oct4 в CD44-позитивных и CD44-негативных субпопуляциях опухолевых клеток рака молочной железы и оценить связь с метастазированием и ответом на неoadъювантную химиотерапию. Материалом для исследования служили гистологические срезы рака молочной железы, полученные от 27 пациенток. Методом исследования являлось мультиплексное иммунофлуоресцентное окрашивание ткани с применением первичных антител к Myc, Oct4 (Novus Biological, USA), CD44 (R&D systems, USA), CK7 (Dako, USA), EpCAM (eBioscience, USA), результаты оценивались при помощи мультиспектральной сканирующей системы Vectra 3.0 и программного обеспечения inForm® (PerkinElmer, Hopkinton, MA). В результате показано, что увеличение распространенности в субпопуляциях опухолевых клеток CK7*EpCAM*CD44*OCT4⁺ и CK7*EpCAM*CD44*MYC⁺ сопряжено с повышением частоты гематогенного метастазирования и снижением безметастатической выживаемости. Наличие в опухоли популяции стволовых клеток, не экспрессирующих Oct4 (CK7*EpCAM*CD44*OCT4⁻) на уровне тенденции (p=0,098), повышало частоту частичной регрессии после проведения неoadъювантной химиотерапии.

Ключевые слова: стволовые опухолевые клетки, рак молочной железы, метастазирование, Myc, Oct4.

STEM MARKERS MYC AND OCT4 IN TUMOR DIFFERENTIATED AND STEM CELLS IN BREAST CANCER AND THEIR ASSOCIATION WITH DISEASE OUTCOME

**V.A. Bychkov¹, J.A. Nebova^{1,2}, M.M. Tsyganov¹, M.K. Ibragimova¹,
L.A. Tashireva¹, L.N. Bondar¹, N.V. Litviakov¹**

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

Abstract

The prognostic role and functional status of tumor cells expressing stem cell markers in breast cancer remains unclear. **The aim of this study** was to examine the expression of Myc and Oct4 in CD44-positive and CD44-negative subpopulations of breast cancer tumor cells and to assess the relationship with metastasis and response to neoadjuvant chemotherapy. The material for the study was histological sections of breast cancer obtained from 27 patients. The research method was multiplex immunofluorescence staining of tissue using primary antibodies to Myc, Oct4 (Novus Biological, USA), CD44 (R&D systems, USA), CK7 (Dako, USA), Epcam (eBioscience, USA), the results were evaluated using a multispectral scanning Vectra 3.0 systems and inForm® software (PerkinElmer, Hopkinton, MA). As a result, it was shown that an increase in the prevalence of CK7⁺EpCAM⁺CD44⁻OCT4⁺ and CK7⁺EpCAM⁺CD44⁻MYC⁺ in the subpopulation of tumor cells is associated with an increase in the rate of hematogenous metastasis and a decrease in metastatic survival. The presence in the tumor of a stem cell population not expressing Oct4 (CK7⁺EpCAM⁺CD44⁺OCT4⁻) has a tendency ($p = 0.098$) to increased the frequency of partial regression after neoadjuvant chemotherapy.

Key words: cancer stem cells, breast cancer, metastasis, Myc, Oct4.

Введение

В предыдущих исследованиях показано значительное увеличение частоты гематогенного метастазирования у пациенток с раком молочной железы при наличии амплификации локусов 3q, 5p, 6p, 7q, 8q, 9p, 9q, 10p, 10q21.3, 13q, 16p, 19p хромосом [1]. Поскольку в этих участках располагаются, в том числе, различные гены маркеров стволовых клеток (CSC), можно предположить, что их повышенная экспрессия сопровождается увеличением количества и/или активности опухолевых стволовых клеток, однако единого мнения о значении повышенного количества CSC в прогнозе заболевания нет [2]. Высказана гипотеза, что по определенным маркерам стволовости можно идентифицировать опухолевые клетки в разных функциональных состояниях дифференцировки. В частности, некоторые авторы считают, что экспрессия OCT4, характерна для наиболее примитивных CSC, тогда как MYC, SOX2 и CD44 (общепринятый маркер CSC молочной железы и др. локализаций) экспрессируются уже более дифференцированными прогениторными клетками [3, 4]. В этой связи нами изучена прогностическая значимость наличия MYC- и OCT4-позитивных клеток в популяции не-стволовых опухолевых клеток у пациенток с раком молочной железы.

Цель и задачи – оценить количество Myc и Oct4 в CD44-позитивных и CD44-негативных субпопуляциях опухолевых клеток рака молочной железы и оценить их связь с метастазированием и ответом на неoadъювантную химиотерапию (НХТ).

Материал и методы

Материалом для исследования служили гистологические срезы рака молочной железы после неoadъювантной терапии, полученные от 27 пациенток. Для мультиплексного иммунофлюоресцентного окрашивания ткани использовали набор «Opal™ 7-ColorAutomation IHC Kit 50 slides» (Perkin Elmer, USA), первичные антитела к Myc, Oct4 (Novus Biological, USA), CD44 (R&D systems, USA), CK7 (Dako, USA), Epcam (eBioscience, USA) и иммуностейнер «Bond™- maX» (Leica Biosystems, UK). Результат реакции оценивали с помощью мультиспектральной сканирующей системы Vectra 3.0 и программного обеспечения inForm® (PerkinElmer, Hopkinton, MA).

Результаты

Показано, что увеличение распространенности в опухоли дифференцированных опухолевых клеток, позитивных по Oct4 и Myc (CK7⁺EpCAM⁺CD44⁻OCT4⁺ и CK7⁺EpCAM⁺CD44⁻MYC⁺), сопряжено с повышением частоты гематогенного метастазирования в 2,7 и 2,5 раза соответственно ($p < 0,05$) и снижением безметастатической выживаемости (при превышении порога в 10 % для первой популяции и в 20 % для второй). Показано также, что наличие опухолевых стволовых клеток, не экспрессирующих Oct4 (CK7⁺EpCAM⁺CD44⁺OCT4⁻) на уровне тенденции ($p = 0,098$), в 2,7 раза выше у пациентов с частичной регрессией после НХТ по сравнению с больными со стабилизацией и прогрессированием.

Выводы

Таким образом, нестволовые (дифференцированные) опухолевые клетки с экспрессией белков стволовости Myc и Oct4 присутствуют в опухолях молочной железы. Их содержание значительно выше в остаточной резидуальной опухоли после НХТ у больных, у которых впоследствии развились метастазы, по сравнению с больными без метастазов. Дифференцированные клетки, не экспрессирующие белки стволовости и не находящиеся

в состоянии ЕМТ, представлены в опухоли в большом количестве, они являются наиболее химиочувствительными.

ЛИТЕРАТУРА

1. Казанцева П.В., Слонимская Е.М., Цыганов М.М., Ибрагимова М.К., Дорошенко А.В., Тарабановская Н.А., Литвяков Н.В. Прогностическая и прогностическая значимость амплификации генов стволовости в опухоли молочной железы больных, получавших неoadъювантную химиотерапию. *Фарматека*. 2019; 26(7): 50–56.
2. Luo M., Clouthier S.G., Deol Y., Liu S., Nagrath S., Azizi E., Wicha M.S. Breast cancer stem cells: current advances and clinical implications. *Methods Mol Biol*. 2015; 1293: 1–49. doi: 10.1007/978-1-4939-2519-3_1.
3. Bradshaw A., Wickremesekera A., Tan S.T., Peng L., Davis P.F., Itinteang T. Cancer Stem Cell Hierarchy in Glioblastoma Multiforme. *Front Surg*. 2016 Apr 15; 3: 21. doi: 10.3389/fsurg.2016.00021.
4. Humphries H.N., Wickremesekera S.K., Marsh R.W., Brasch H.D., Mehrotra S., Tan S.T., Itinteang T. Characterization of Cancer Stem Cells in Colon Adenocarcinoma Metastasis to the Liver. *Front Surg*. 2018 Jan 22; 4: 76. doi: 10.3389/fsurg.2017.00076.

НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ И ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КОМБИНИРОВАННОГО И КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ СТОЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА У ВЗРОСЛЫХ

Н.С. Важинская, Т.Р. Измаилов, Т.А. Шевченко, С.Ю. Мельник, П.В. Полушкин

ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России, г. Москва, Россия

Аннотация

Опухоли ствола головного мозга у взрослых встречаются достаточно редко и составляют только 2 % от всех первичных опухолей головного мозга. Опухоли данной локализации представляют собой гетерогенную группу и отличаются от опухолей той же локализации, которые встречаются в детских возрастных подгруппах [1–3]. По мнению большинства нейрохирургов, операбельными являются не более 20 % всех опухолей ствола мозга, в остальных случаях опухоль является диффузной и неоперабельной. Низкая частота биопсии является причиной того, что четкие молекулярно-биологические особенности глиом ствола мозга остаются почти неизвестными [4]. Развитие метода жидкостных биопсий при опухолях ЦНС обеспечит проведение диагностики с минимальными вмешательствами или совсем без них, за счет исследования плазмы крови, а также расширение спектра выявляемых мутаций путем эффективного мультиплексирования и совершенствования технологии ddPCR с целью выявления драйверных мутаций и потенциальных мишеней для таргетного воздействия [5]. В настоящее время радиотерапевтическое лечение является единственно радикальным методом лечения у пациентов с опухолями ствола головного мозга. Эффективные схемы терапии глиом ствола головного мозга у взрослых не были определены проспективными клиническими исследованиями, но облучение с одновременной или адъювантной химиотерапией используется достаточно часто. К сожалению, роль химиотерапевтического лечения опухолей ствола головного мозга у взрослых пациентов остаётся до сих пор неясной, а возможности таргетной терапии не раскрыты, отчасти из-за недостаточного понимания патологических и молекулярных характеристик глиом ствола головного мозга и низкой частоты встречаемости этих опухолей [6].

Ключевые слова: опухоли ствола, радиотерапия, опухоли ЦНС, глиомы, молекулярные характеристики глиом.

IMMEDIATE AND LONG-TERM RESULTS OF COMBINED AND COMPLEX TREATMENT OF BRAIN STEM TUMORS IN ADULTS

N.S. Vazhinskaia, T.R. Izmailov, T.A. Shevchenko, S.Yu. Melniki, P.V. Polushkin

Russian Scientific Center of Roengenoradiology of Russia, Moscow, Russia

Abstract

Tumors of the brain stem in adults are quite rare and make up only 2 % of all primary brain tumors. Tumors of this localization are a heterogeneous group and differ from tumors of the same localization that are found in children's age subgroups [1–3]. According to most neurosurgeons, no more than 20 % of all brain stem tumors are operable; in other cases, the tumor is diffuse and inoperable. The low biopsy frequency is the reason that the clear molecular biological characteristics of gliomas of the brain stem remain almost unknown [4]. The development of a liquid biopsy method for CNS tumors will provide diagnostics with minimal or no interventions by examining blood plasma, as well as expanding the spectrum of detected mutations by efficiently multiplexing and improving the ddPCR technology to identify driver mutations and potential targets for targeted exposure [5]. Currently, radiotherapy treatment is the only radical treatment for patients with brain stem tumors. Effective treatment regimens for gliomas of the brain stem in adults have not been determined by prospective clinical studies, but irradiation with simultaneous or adjuvant chemotherapy is used quite often. Unfortunately, the role of chemotherapeutic treatment of brain stem tumors in adult patients is still unclear, and the possibility of targeted therapy has not been disclosed, partly due to a lack of understanding of the pathological and molecular characteristics of brain stem gliomas and the frequency of occurrence of these tumors. [6].

Key words: brainstem tumors, radiotherapy, CNS tumors, gliomas, molecular characteristics of gliomas.

Материал и методы

В радиотерапевтической клинике ФГБУ «РНЦРР» МЗ РФ (РНЦРР) с 2010 по 2019 г. проведено радиотерапевтическое или химиорадиотерапевтическое лечение 43 больных с первичными опухолями ствола головного мозга (Grade I–IV). 18 (41,86 %) пациентам на первом этапе лечения была выполнена хирургическая операция или стереотаксическая биопсия, из них у 10 человек (23 %) выявлены глиомы низкой степени злокачественности (Grade I–II), а у 8 (18,6 %) – высокой степени злокачественности (Grade III–IV). У 25 (58,14 %) пациентов хирургическое лечение было невозможно, что в первую очередь было связано с высоким риском необратимых изменений.

Результаты

Средний возраст исследуемых пациентов составил 36 лет (+/-13,6).

Стоит отметить, что 32 (74,4 %) пациента были моложе 40 лет, а 11 (25,6 %) человек были старше 40 лет. Из 43 больных было 12 (27,9 %) женщин и 31 (72,1 %) мужчина.

Функциональное состояние всех наблюдаемых больных оценивалось по шкале Карновского и варьировало в пределах от 60 до 90 % при стандартном отклонении +/-6,52.

Среднее время безрецидивной кумулятивной специфической выживаемости составило 48,72 мес, при этом 3 (6,9 %) пациента прожили без прогрессирования около 8 лет.

Время общей кумулятивной специфической выживаемости составило 53,95 мес, при этом один пациент прожил 10 лет.

Одним из основных факторов, влияющих на показатель общей и безрецидивной выживаемости, является степень злокачественности опухоли ствола головного мозга.

Заключение

В нашей работе подтверждена прогностическая значимость таких основных факторов прогноза при опухолях ствола головного мозга у взрослых, влияющих на показатель общей и безрецидивной выживаемости, как степень злокачественности опухоли, а также функциональное состояние пациентов. При этом было показано, что медиана наблюдения среди пациентов с низкоквалифицированными ОСГМ оказалась в 2 раза больше, чем среди больных с высококвалифицированными опухолями. Развитие рецидива отмечено у 44 % больных с Grade I–II и у 55,6 % – с Grade III–IV. Показатель общей 5-летней выживаемости больных с ОСГМ в зависимости от функционального состояния составил 100 % с уровнем ИК 80–100 %, а в группе больных с ИК 50–70 %, соответственно, 36 %. В целом, прогноз у данной группы пациентов оказался благоприятнее, чем у детей с ОСГМ, что не противоречит и литературным источникам. Учитывая, что одним из основных факторов, влияющих на показатель общей и безрецидивной выживаемости, является степень злокачественности опухоли ствола головного мозга, представляется весьма важным правильно интерпретировать клинкорентгенологические признаки опухоли, чтобы в дальнейшем стратифицировать пациентов, которым не проводилось хирургическое вмешательство.

ЛИТЕРАТУРА

1. Salmaggi A., Fariselli L., Milanesi L., Lamperti E., Silvani A., Buzzi A., Maccagnano E., Trevisan E., Laguzzi E., Rudà R., Boiardi A., Soffietti R.; Associazione Italiana di Neuro-oncologia. Natural history and management of brainstem gliomas in adults. *J Neurol.* 2008 Feb; 255(2): 171–7. doi: 10.1007/s00415-008-0589-0.
2. Reyes-Botero G., Mokhtari K., Martin-Duverneuil N., Delattre J.Y., Laigle-Donadey F. Adult brainstem gliomas. *Oncologist.* 2012; 17(3): 388–97. doi: 10.1634/theoncologist.2011-0335.
3. Солодкий В.А., Измайлов Т.Р., Панышин Г.А., Цаллагова З.С., Регентова О.С. Роль неoadьювантного хирургического вмешательства при первичном и повторном лечении злокачественных опухолей ствола головного мозга у детей и подростков. *Вестник рентгенологии и радиологии.* 2019; 100(3): 130–135.
4. Коновалов А.Н., Корниенко В.Н., Пронин И.Н., Озерова В.И., Коришонов А.Г., Хужлаева Е.А. Диагностика опухолей ствола головного мозга. Медицинская визуализация. 2001; 2: 4.
5. Nikbakht H., Panditharatna E., Mikael L.G., Li R., Gayden T., Osmond M., Ho C.Y., Kambhampati M., Hwang E., Faury D., Siu A., Papillon-Cavanagh S., Bechet D., Ligon K.L., Ellezam B., Ingram W.J., Stinson C., Moore A.S., Warren K.E., Karamchandani J., Packer R.J., Jabado N., Majewski J., Nazarian J. Spatial and temporal homogeneity of driver mutations in diffuse intrinsic pontine glioma. *Nat Commun.* 2016 Apr 6; 7: 111–85. doi: 10.1038/ncomms11185.
6. Eisele S.C., Reardon D.A. Adult Brainstem Gliomas. *Cancer.* 2016 Sep 15; 122(18): 2799–809. doi: 10.1002/cncr.29920.

СЦИНТИМММОГРАФИЯ В ТОМОГРАФИЧЕСКОМ РЕЖИМЕ С ПРЕПАРАТОМ ^{99m}Tc -1-Тео-D-глюкоза

Р.Ю. Вернадский

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

Аннотация

В исследовании проведена оценка информативности сцинтиммографии в томографическом режиме с радиофармпрепаратом ^{99m}Tc -1-тео-D-глюкоза (^{99m}Tc -ТГ) в диагностике патологии молочной железы. Чувствительность метода в визуализации злокачественных опухолей молочной железы составила 56 %. В случае оценки информативности исследования в группе постменопаузальных женщин чувствительность исследования составила 72 %. Билатеральное высокоинтенсивное включение препарата в молочных железах, затрудняющее диагностику опухоли, было зафиксировано у 27 пациенток. Выявлена связь билатерального накопления препарата с молодым возрастом ($p=0,011$), пременопаузальным статусом ($p=0,006$) и высокой маммографической плотностью ($p=0,001$). Таким образом, у молодых пременопаузальных женщин с небольшими размерами опухоли метод обладает низкой диагностической эффективностью и не показан к рутинному использованию.

Ключевые слова: рак молочной железы, диагностика, ОФЭКТ, ^{99m}Tc -тео-D-глюкоза.

SPECT SCINTIMAMMOGRAPHY WITH ^{99m}Tc -thio-D-glucose

R.Yu. Vernadsky

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

Abstract

Our goal was to determine the effectiveness of single-photon emission computed tomography with ^{99m}Tc -thio-D-glucose in the diagnosis of breast cancer. The sensitivity for breast tumor detection was 56 %. In the group of postmenopausal women, the sensitivity of the study was 72 %. SPECT showed axillary lesions in 6/26 (23 %) patients with axillary lymph node metastasis. The low sensitivity in detecting a primary tumor was associated with bilateral diffuse uptake of radiopharmaceutical in breast tissue. Bilateral high-intensity inclusion of the drug was recorded in 27 patients with breast cancer. Bilateral accumulation of the drug is associated with a younger age ($p = 0.011$), active menstrual status ($p = 0.006$) and high mammographic density ($p = 0.001$).

Key words: breast cancer, diagnostics, SPECT, ^{99m}Tc -thio-D-glucose.

Актуальность

Радионуклидные методы диагностики позволяют оценить физиологические изменения, происходящие в органах и системах, а также визуализировать опухолевую ткань на биохимическом уровне за счет включения радиофармпрепарата (РФП) в злокачественные клетки [1–3].

В настоящее время наиболее часто используемым радиофармпрепаратом для визуализации опухолей молочной железы является ^{99m}Tc -метоксиизобутилизонитрин [4, 5]. Применение новых РФП на основе глюкозы, меченной ^{99m}Tc , потенциально может позволить получать дополнительную информацию о метаболизме опухоли, до настоящего времени доступную только с помощью позитронно-эмиссионной томографии [6–9].

Цель исследования – оценка возможности использования маммосцинтиграфии в томографическом режиме с ^{99m}Tc -тио-D-глюкозой для метаболической визуализации рака молочной железы.

Материал и методы

В исследование включено 72 женщины с диагнозом рак молочной железы 0–III стадий. Средний возраст пациенток составил 52 года, у 40 % пациенток – пременопауза. Стандартное обследование для определения локорегионарного распространения опухолевого процесса включало осмотр врача, маммографическое исследование, ультразвуковую визуализацию молочных желез и зон лимфоттока. Для верификации образований выполнялась core-биопсия с последующим гистологическим исследованием. Оценка лимфоузлов проводилась на основании УЗИ исследования и пункции подозрительных лимфоузлов с последующим цитологическим исследованием. Характеристика выявленных изменений представлена в табл. 1.

На этапе первичного обследования всем пациенткам выполнялась ОФЭКТ на гамма-камере E.CAM 180 фирмы “Siemens” с применением ^{99m}Tc -ТГ. Радиофармпрепарат вводился внутривенно в дозе 500 МБк в кубитальную вену. При исследовании использовались коллиматоры для энергии 140 КэВ, производилась запись 64 кадров в 32 проекциях. Полученные данные обрабатывались посредством системы E.Soft. Изображения аксиальных, сагиттальных и коронарных срезов описывались качественно с определением характера накопления РФП в области молочной железы, грудной клетки и зон регионарного лимфоттока. В случае обнаружения участков гиперфиксации РФП в проекции молочных желез или регионарных лимфоузлов регистрировалось наличие патологического очага. Для определения информативности метода результат сравнивался с данными морфологического исследования биопсии либо операционного материала. Статистический анализ проводился в программе Statistica 10.0 (StatSoft, США).

Результаты

Патологический очаг накопления РФП в молочной железе был выявлен у 40 (56 %) больных. Невысокая чувствительность в обнаружении первичной опухоли была обусловлена активным неспецифическим билатеральным накоплением РФП, затрудняющим визуализацию образования в молочной железе. Так, билатеральное интенсивное включение препарата было зафиксировано у 27 пациенток с РМЖ, и лишь у 4 из них был визуализирован очаг в молочной железе. При оценке характера накопления РФП в молочной железе и в опухолевой ткани были проанализированы клинические, анатомические и биологические факторы (табл. 2). Было показано, что на аккумуляцию РФП в новообразовании значимое влияние оказывал возраст, менструальный статус и молекулярный тип опухоли. Также было выявлено, что билатеральное накопление препарата связано с более молодым возрастом ($p=0,011$), активным менструальным статусом ($p=0,006$) и высокой маммографической плотностью ($p=0,001$).

Чувствительность метода в визуализации злокачественных опухолей молочной железы составила 56 %. В случае оценки информативности исследования в группе постменопаузальных женщин чувствительность исследования составила 72 %. При оценке регионарного распространения было выявлено 6 случаев патологического накопления препарата в аксиллярной области. У 20 пациенток с метастатическим поражением регионарных лимфоузлов патологического включения РФП в зонах лимфооттока не наблюдалось. Таким образом, показатели информативности исследования в диагностике метастатического поражения регионарных лимфатических узлов составили: чувствительность 23 %, специфичность 100 %.

Заключение

Первое клиническое исследование ^{99m}Tc -ТГ у пациенток с РМЖ показало, что ОФЭКТ с этим радиофармпрепаратом может применяться в качестве дополнительного метода исследования для оценки метаболизма новообразований у пациенток в постменопаузе. У молодых пременопаузальных женщин с небольшими размерами опухоли метод обладает низкой диагностической эффективностью и не показан к использованию.

Таблица 1

Характеристика опухолей

Оцениваемый фактор	Показатель	
	n	%
Гистологические типы опухоли		
Инвазивная карцинома неспецифического типа	46	63,88
Инвазивная карцинома без уточнения типа	11	15,27
Инвазивная дольковая карцинома	6	8,33
Внутрипротоковая карцинома (DCIS)	4	5,55
Крибриформная карцинома	2	2,77
Метапластический рак	1	1,38
Инкапсулированная папиллярная карцинома	1	1,38
Инвазивная микропапиллярная карцинома	1	1,38
ИГХ- суррогатный молекулярный тип опухоли		
Люминальный А (Ki 67 <20 %)	17	23,61
Люминальный В	22	30,55
Люминальный Her2-позитивный	18	25
Her2-позитивный	5	6,94
Трипл-негативный	7	9,72
Не определен	3	4,16
Степень злокачественности		
Низкая G1	3	4,16
Умеренная G2	36	50
Высокая G3	2	2,77
Не определена	31	43,05
Категории TNM		
Tis	4	5,55
T1	19	26,38
T2	41	56,94
T3	6	8,33
T4	2	2,77
N0	46	63,88
N1	20	27,77
N2	2	2,77
N3	4	5,55

Таблица 2

Факторы, влияющие на визуализацию первичной опухоли

Фактор	p
Возраст (>50 vs <50)	0,007
Размер опухоли	0,348
Размер опухоли (>2 см vs <2 см)	0,793
Ki-67	0,907
Ki-67 (>30 vs <30)	0,865
Менструальный статус (пременопауза vs постменопауза)	0,002
Сторона поражения (dex vs sin)	0,665
Билатеральное накопление	0,000
Маммографическая плотность (низкая vs высокая)	0,781
Подтип опухоли	0,050
Гистологический тип опухоли	0,664
Степень злокачественности	0,856

ЛИТЕРАТУРА

1. Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радионуклидная тераностика злокачественных образований. Вестник рентгенологии и радиологии. 2016; 5(97): 306–313.
2. Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радиоиммунотерапия в лечении злокачественных образований. Сибирский онкологический журнал. 2016; 2(15): 101–106. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-2-101-106.
3. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойзонов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных новообразований. Бюллетень сибирской медицины. 2018; 17(1): 220–231.

4. Тицкая А.А., Чернов В.И., Слонимская Е.М., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В. Маммосцинтиграфия с ^{99m}Tc-с-МИБИ в диагностике рака молочной железы. Сибирский медицинский журнал (г. Томск). 2010; 25(4–1): 92–95.
5. Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Чернов В.И. Диагностические радиофармацевтические препараты на основе производных глюкозы в современной онкологической практике. Сибирский онкологический журнал. 2018; 2(17): 71–81. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-2-71-81.
6. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Скуридин В.С. Опыт разработки инновационных радиофармпрепаратов в Томском НИИ онкологии. Сибирский онкологический журнал. 2015; S2: 45–47.
7. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д. Разработка радиофармпрепаратов для радионуклидной диагностики в онкологии. Медицинская визуализация. 2016; 2: 63–66.
8. Zelichan R., Medvedeva A., Sinilkin I., Chernov V., Bragina O., Stasyuk E., Rogov A., Il'ina E., Larionova L., Skuridin V., Der-gilev A. Experimental study of radiopharmaceuticals based on technetium-99m labeled derivative of glucose for tumor diagnosis. IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering. 2016; 135: 012054 doi: 10.1088/1757-899X/135/1/012054.
9. Вернадский Р.Ю., Медведева А.А., Гарбуков Е.Ю., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Зельчан Р.В., Слонимская Е.М., Чернов В.И. Метаболическая визуализация рака молочной железы методом однофотонной эмиссионной компьютерной томографии с ^{99m}Tc-1-тио-D-глюкозой. Российский электронный журнал лучевой диагностики. 2019; 9(4): 82–96.

ДИФФУЗНАЯ В-КРУПНОКЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА В Г. НОВОСИБИРСКЕ: ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Е.Н. Воропаева¹, О.В. Березина², М.А. Колесникова³, А.А. Гуражева¹

НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, Россия¹

ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, г. Новосибирск, Россия²

ГБУЗ НСО Городская клиническая больница № 2, г. Новосибирск, Россия³

Аннотация

В проведенном исследовании получены актуализированные количественные и качественные показатели клинко-эпидемиологической характеристики диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ) в г. Новосибирске. Проводился ретроспективный анализ первичной медицинской документации (истории болезни, амбулаторные карты и заключения иммуногистохимического исследования) 271 пациента с ДВККЛ, наблюдавшихся в Городском гематологическом центре (ГГЦ) в период с 1 января 2013 г. по 31 декабря 2018 г. Рассчитанная регистрируемая первичная заболеваемость и смертность от ДВККЛ в г. Новосибирске по анализируемым годам незначительно колебались. Средний показатель для заболеваемости составил 2,85 случая на 100 000 населения, смертности – 1,98 случая на 100 000 населения. При анализе динамики распространенности ДВККЛ в г. Новосибирске был выявлен тренд ежегодного увеличения показателя – в 1,87 раза за последние 6 лет. У мужчин опухоль развивалась на 2,6 года раньше, чем у женщин. В целом риск заболеть ДВККЛ после 50 лет был в 3 раза выше, чем в возрасте до 30 лет. Среди первичных больных лимфомами, проходивших лечение в гематологическом отделении ГГЦ, половина всех случаев госпитализаций в отделение и проведенных курсов терапии приходилась на пациентов с ДВККЛ. Оценка клинической характеристики показала высокую тяжесть анализируемой когорты. Показано, что Международный прогностический индекс (МПИ) является надежным инструментом для стратификации на группы риска больных ДВККЛ, получающих иммунохимиотерапию. В качестве первой линии терапии 91,7 % пациентов получали протоколы с включением ритуксимаба. Наиболее неблагоприятными клиническими вариантами опухоли были ВИЧ-ассоциированные формы и формы с первичным поражением центральной нервной системы.

Ключевые слова: диффузная В-крупноклеточная лимфома, эпидемиология, заболеваемость, смертность, распространенность, выживаемость, эффективность терапии.

DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA IN THE CITY OF NOVOSIBIRSK: EPIDEMIOLOGY AND CLINICAL CHARACTERISTICS

E. N. Voropaeva¹, O.V. Berezina², M.A. Kolesnikova³, A.A. Gurazheva¹

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

Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of Russia? Novosibirsk, Russia²

State Budgetary Institution of Healthcare of the Novosibirsk Region City Clinical Hospital № 2, Novosibirsk, Russia³

Abstract

In the study, actualized quantitative and qualitative indicators of the clinical and epidemiological characteristics of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) in the city of Novosibirsk were obtained. A retrospective analysis of the primary medical documentation of patients with DLBCL observed at the City Hematology Center from January 1, 2013 to December 31, 2018 was carried out. The calculated recorded primary morbidity and mortality due to DLBCL in the city of Novosibirsk for the analyzed years did not fluctuate significantly. The average incidence rate was 2.85 cases per 100,000 people, mortality – 1.98 cases per 100,000 people. When analyzing the dynamics of prevalence of DLBCL in the city of Novosibirsk, a positive trend was found in the annual increase in the indicator: 1.87 times over the past 6 years. In men, the tumor developed 2.6 years earlier than in women. In general, the risk of developing DLBCL after 50 years was 3 times higher than at the age of 30 years. Among the primary patients with lymphomas treated in the hematological department of the City Hematology Center, half of all hospital admissions to the department and treatment courses were in patients with DLBCL. Evaluation of clinical characteristics showed a high severity of the analyzed cohort. It has been shown that MPI is a reliable tool for stratification into the risk groups of patients with DLBCL receiving immunochemotherapy. As the first line of therapy, 91.7 % of patients received rituximab protocols. The most unfavorable clinical variants of the tumor were HIV-associated forms and forms with a primary lesion of the central nervous system.

Key words: diffuse large B-cell lymphoma, epidemiology, incidence, mortality, prevalence, survival, treatment efficacy

Введение

Общие представления по клинко-эпидемиологической характеристике НХЛ в России можно почерпнуть из редких публикаций [1–5], при этом данные для отдельных вариантов заболевания в литературе не представлены вовсе. В статистических справочниках Российской Федерации варианты НХЛ также рассматриваются вместе. Однако лишь на основании анализа точных статистических данных по заболеваемости и смертности от неходжкинских лимфом возможно проспективное планирование и прогнозирование числа пациентов, нуждающихся в дорогостоящем лечении, что позволит правильно спланировать бюджет и обеспечить регион необходимыми специализированными медицинскими кадрами.

Цель работы – представить данные по эпидемиологии и клинко-демографической характеристике ДВККЛ на территории г. Новосибирска за период 2013–2018 гг.

Материал и методы

Проводился ретроспективный анализ первичной медицинской документации пациентов с ДВККЛ, наблюдавшихся в ГГЦ в период с 1 января 2013 г. по 31 декабря 2018 г. Рассчитывались первичная заболеваемость, распространенность, смертность от ДВККЛ. Для построения прогностической эпидемиологической модели распространенности заболевания использовали простую линейную регрессию. Эффект противоопухолевой терапии оценивался по критериям: общий ответ (частичные и полные ремиссии), скорость ответа, 5-летняя общая (ОВ) и 5-летняя безрецидивная выживаемость (БРВ) с использованием функции вероятности выживания Каплана – Майера. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

За период 2013–2018 гг. в гематологическое отделение ГГЦ г. Новосибирска был госпитализирован 181 первичный больной с ДВККЛ. Средний возраст больных составил $54,7 \pm 15,5$ года. Соотношение по полу М:Ж равнялось 0,81:1. В обследованной группе 81,8 % пациентов имели III и IV стадии заболевания. К неблагоприятным прогностическим группам по Международному прогностическому индексу (МПИ) в группе исследования относились более половины (61,9 %) больных.

Рассчитанные регистрируемая первичная заболеваемость и смертность от ДВККЛ по г. Новосибирску несколько колебались. Средний показатель за 2013–2018 гг. для заболеваемости составил 2,85 случая на 100 000 населения, смертности – 1,98 случая на 100 000 населения.

Анализ частоты встречаемости ДВККЛ в г. Новосибирске в разных возрастных группах показал, что заболеваемость имеет два подъема: первый – после 30 лет и второй (максимальный) – на шестом-седьмом десятилетии жизни. В целом риск заболеть ДВККЛ после 50 лет в 3 раза выше, чем в возрасте до 30 лет.

Среди первичных больных лимфомами, проходивших лечение в гематологическом отделении ГГЦ г. Новосибирска в 2013–2018 гг., половина всех случаев госпитализаций в отделение и проведенных курсов ПХТ приходилась на пациентов с ДВККЛ. В качестве первой линии лечения подавляющее большинство пациентов с ДВККЛ получили 6–8 курсов терапии по протоколам с включением ритуксимаба. При оценке эффективности терапии первой линии общий ответ составил 63,0 %. Увеличение доли пациентов, ответивших на лечение, наблюдалось только в первый год терапии. В группах низкого и промежуточного/низкого риска по МПИ общий ответ составил 79,7 % против 52,7 % в группах промежуточного/высокого и высокого риска ($p < 0,001$). Медиана скорости ответа на лечение составила 8,0 мес (95 % ДИ 3,8–9,7), при этом пациенты из групп низкого и промежуточного/низкого риска по МПИ быстрее отвечали на лечение ($p = 0,001$).

ОВ в группе исследования составила 61,9 %, а БРВ в подгруппе больных, ответивших на терапию первой линии, – 89,5 %. Наилучшие показатели ОВ также имели больные группы низкого риска (91,3 %) и промежуточного/низкого риска по МПИ (80,4 %). Медиана ОВ в данных подгруппах пациентов не достигнута. В группе промежуточного/высокого и высокого риска ОВ составила 58,2 % с медианой 58 мес и 38,6 % с медианой 3,6 мес соответственно (рис. 1).

Достигнутые в последние годы успехи в терапии В-клеточных лимфом, связанные с применением препаратов моноклональных антител, высокодозной полихимиотерапии, трансплантации периферических стволовых клеток, а также усовершенствованием сопроводительного лечения, привели к росту выживаемости пациентов с лимфомами. При анализе динамики распространенности ДВККЛ в г. Новосибирске был выявлен тренд ежегодного увеличения показателя (коэффициент корреляции Пирсона составил 0,998, $p < 0,0001$). В целом за последние 6 лет в г. Новосибирске был отмечен прирост распространенности лимфомы в 1,87 раза. С целью оценки вероятности роста распространенности ДВККЛ в последующие годы была построена прогностическая модель с использованием простой линейной регрессии (рис. 2). Согласно данной модели, прогнозируемая распространенность ДВККЛ в г. Новосибирске в 2023 г. будет составлять 29,48 случая на 100 000 населения в год.

Обсуждение

В настоящее время складывается впечатление о формировании плато заболеваемости ДВККЛ в г. Новосибирске, которое может сохраниться в условиях отсутствия неблагоприятного воздействия различных экологических и техногенных факторов, сдерживания уровня инфицированности ВИЧ и др. [6]. Также полученные результаты можно объяснить стабильной работой Ракового регистра, хорошим уровнем диагностики заболевания в связи с широким внедрением и доступностью высокотехнологичных методов обследования (томографического, цитоморфологического, иммуногистохимического и молекулярно-генетического). С другой стороны, достигнутые в последние годы успехи в терапии В-клеточных лимфом привели к тому, что наблюдается рост распространенности ДВККЛ в г. Новосибирске.

Оценка клинической характеристики первичных больных ДВККЛ, получавших лечение в гематологическом отделении ГГЦ г. Новосибирска за период 2013–2018 гг., показала высокую тяжесть анализируемой когорты, что согласуется с данными литературы [7–9]. Проведенный анализ показывает, что даже в условиях современной иммунохимиотерапии с включением ритуксимаба, когда наблюдается прирост показателей эффективности терапии во всех группах прогноза, МПИ является надежным инструментом для стратификации больных ДВККЛ на группы риска [10, 11].

Таким образом, в работе получены актуализированные количественные и качественные показатели клинико-эпидемиологической характеристики ДВККЛ в г. Новосибирске за 2013–2018 гг. по данным ГГЦ, которые могут применяться для дальнейшего мониторинга, разработки и внедрения в субъектах Российской Федерации мероприятий по профилактике, диагностике и лечению данной формы гемобластоза.

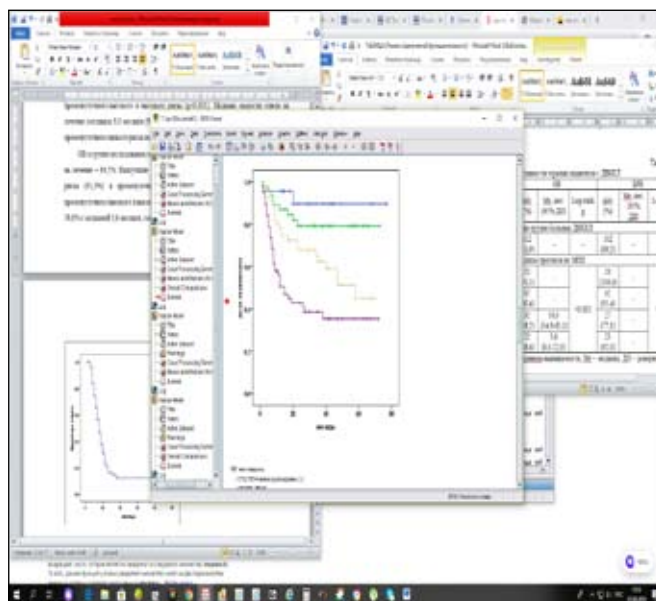


Рис. 1. Показатели общей выживаемости у больных ДВККЛ в зависимости от группы риска по Международному прогностическому индексу

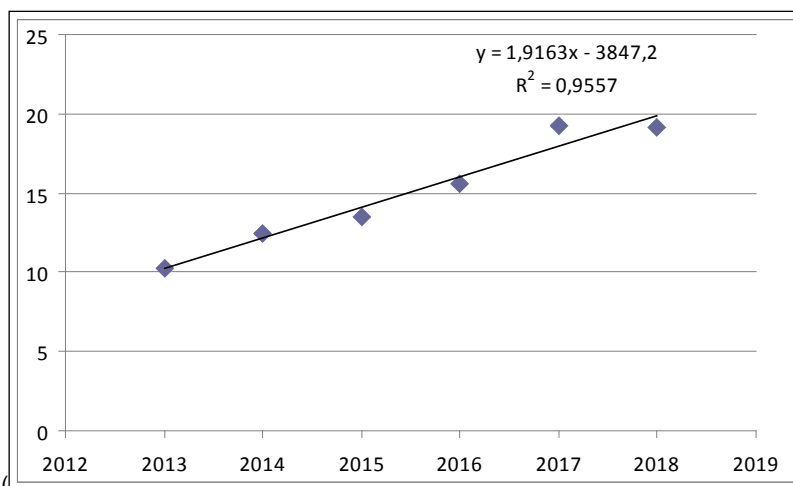


Рис. 2. Динамика распространенности ДВККЛ (на 100 тыс. населения) в г. Новосибирске

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковынев И.Б., Поспелова Т.И., Агеева Т.А., Лосева М.И., Воропаева Е.Н., Дьячкова Н.Ю. Частота и структура неходжкинских злокачественных лимфом в Новосибирске, НСО и городах Сибирского федерального округа. Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2006; 26(4): 175–181.
2. Зубкова Е.В., Дворниченко В.В. Эпидемиология неходжкинских лимфом в Иркутской области. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2012; 3(85): 93–96.
3. Зверев А.М., Ружникова А.А., Левит М.Л., Бурдаева О.Н. Эпидемиология лимфомы Ходжкина и неходжкинских лимфом в Архангельской области за период с 2000 по 2009 г. Гематология и трансфузиология. 2014; 59(Прил. 1): 95.
4. Ботвинкин А.Д., Батороев Ю.К., Моран П., Семенова Т.В., Баянова Т.А., Зубринский К.Г., Лапина Г.Ф., Дворниченко В.В., Плотникова Ю.К. Эпидемиология злокачественных лимфом в регионе с высокой превалентностью ВИЧ-инфекции. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2015; 7(3): 118–125.
5. Воропаева Е.Н., Воевода М.И., Поспелова Т.И., Максимов В.Н. Интронные полиморфизмы антионкогена TP53 у пациентов старшей возрастной группы с индолентными вариантами неходжкинских злокачественных лимфом. // Успехи геронтологии. 2013. Т.26, № 2. С. 258–262.
6. Козяева Е.В., Лосева М.И., Далматов Г.А. Заболеваемость и смертность от гемобластозов с учетом экологических и техногенных факторов. Журнал экспериментальной и клинической медицины. 2003; 1: 29–36.
7. Voropaeva E.N., Voevoda M.I., Maksimov V.N., Orlov Y.L., Pospelova T.I., Seregina O.B. Clinical aspects of TP53 gene inactivation in diffuse large B-cell lymphoma. BMC Medical Genomics. 2019; 12(S2): 35.
8. Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Воевода М.И., Максимов В.Н. Клиническое значение мутационного статуса гена TP53 диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Сибирский научный медицинский журнал. 2019; 39(1): 50–57.
9. Воропаева Е.Н. Ген TP53 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Новосибирск: Наука, 2018. 164 с.
10. Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Воевода М.И. Ассоциация полиморфизма arg399gln гена репарации ДНК XRCC1 с риском развития неходжкинских лимфом высокой степени злокачественности. Гематология и трансфузиология. 2013; 58(1): 10–14.
11. Березина О.В., Вайнер А.С., Воропаева Е.Н. Влияние однонуклеотидных замен в генах фолатного цикла на риск развития агрессивных неходжкинских лимфом. Сибирское медицинское обозрение. 2011; 3(69): 22–26.

АМПЛИФИКАЦИИ ГЕНОВ СТВОЛОВОСТИ – НОВЫЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МАРКЕРЫ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ У БОЛЬНЫХ С РАННЕЙ ФОРМОЙ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

К.А. Гаптулбарова^{1,2}, М.К. Ибрагимова¹, А.М. Певзнер^{1,2}, М.М. Цыганов¹

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

Несмотря на то, что сегодня существуют различные, в том числе и многофакторные, модели прогноза у пациенток с ранним раком молочной железы, практически все они могут лишь с небольшой и относительной точностью прогнозировать исход заболевания таких больных. Согласно нашим предыдущим исследованиям, наличие амплификаций локусов генов стволовости (3q, 5p, 6p, 7q, 8q, 9p, 9q, 10p, 10q21.3, 13q, 16p, 19p) может приводить к их эктопической экспрессии, и это сопряжено с повышенной активностью опухолевых стволовых клеток у этих больных. Это приводит к высокой агрессивности опухоли и развитию метастатической болезни. Цель работы – оценка прогностической значимости наличия амплификаций локусов генов стволовости и их экспрессии у больных ранним раком молочной железы. Материал и методы. В исследование включены 28 больных РМЖ T1NxM0, с морфологически верифицированным диагнозом. В качестве исследуемого материала были использованы биопсийные опухолевые образцы, взятые до лечения. Для 8 пациенток использовался архивный материал – формалин-фиксированные парафиновые блоки (formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE)). ДНК и РНК выделяли из всех образцов опухолевого материала. Для оценки статуса CNA генов стволовости проведен микроматричный анализ на ДНК-чипах высокой плотности фирмы Affymetrix CytoScanTM HD Array. Уровень экспрессии генов оценивали при помощи RT-qPCR. Результаты. Анализ CNA-генетического ландшафта исследуемых опухолей больных показал, что у 17 из 18 (94,4 %) пациенток без метастазов не было двух и более амплификаций хромосомных регионов. У 10 пациенток наблюдались висцеральные метастазы в различные сроки после проведения операции (от 3 до 120 мес). У 9/10 (90 %) этих больных в первичной опухоли отмечалось наличие двух и более амплификаций локусов генов стволовости, и это, по нашему мнению, предопределило неблагоприятный исход у этих пациенток. Показатель 5-летней выживаемости пациенток с отсутствием или одной амплификацией составляет 89 % по сравнению со второй группой, в которой он составляет всего 30 %. Различия статистически значимы (log-rank test p=0,01). Выводы. Таким образом, наши исследования показали, что наличие в первичной опухоли у больных РМЖ T1NxM0 клонов, несущих две и более амплификации локусов генов стволовости, обладает значительной прогностической значимостью и определяет неблагоприятный прогноз в отношении отдаленного метастазирования.

Ключевые слова: ранний рак молочной железы, гены стволовости, амплификация, прогноз.

AMPLIFICATION OF STEM GENES – NEW POTENTIAL METASTATIC MARKERS IN PATIENTS WITH EARLY BREAST CANCER

K.A. Gaptulbarova^{1,2}, M.K. Ibragimova¹, A.M. Pevzner^{1,2}, M.M. Tsyganov¹

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

The National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

Despite the fact that today there are various, including multifactorial prognosis models for patients with early breast cancer, almost all of them can only predict with small and relative accuracy the outcome of the disease in these patients. According to our previous studies, the presence of amplifications of stem locus genes (3q, 5p, 6p, 7q, 8q, 9p, 9q, 10p, 10q21.3, 13q, 16p, 19p) can lead to their ectopic expression and this is associated with increased

tumor activity stem cells in these patients. This leads to high tumor aggressiveness and the development of metastatic disease. Objective: to assess the prognostic significance of the presence of amplifications of stem locus genes and their expression in patients with early breast cancer. Material and Methods. The study included 28 patients with breast cancer T1NxM0, with a morphologically verified diagnosis. As the test material, biopsy tumor samples taken before treatment were used. For 8 patients, formalin-fixed paraffin-embedded blocks (FFPE) were used. DNA and RNA were isolated from all tumor samples. To assess the status of the CNA stem genes, microarray analysis was performed on high-density DNA chips from Affymetrix CytoScan™ HD Array. The level of gene expression was evaluated using RT-qPCR. Results. Analysis of the CNA-genetic landscape of the studied patient tumors showed that 17 of 18 (94.4 %) patients without metastases did not have two or more amplifications of chromosomal regions. In 10 patients, visceral metastases were observed at various times after the operation (from 3 to 120 months). In 9/10 (90 %) of these patients, the presence of two or more amplifications of stem gene loci in the primary tumor was observed and this, in our opinion, predetermined an unfavorable outcome in these patients. The 5-year survival rate for patients with no or one amplification is 89 % compared with the second group, in which this indicator is only 30 %. The differences are statistically significant (log-rank test $p = 0.01$). Conclusions. Thus, our studies have shown that the presence of clones in the primary tumor of breast cancer T1NxM0 carrying two or more amplification of stem gene loci has significant prognostic significance and determine an unfavorable prognosis for distant metastasis.

Key words: early breast cancer, stem genes, neoadjuvant chemotherapy, amplification, prognosis.

Введение

Для ранних форм рака молочной железы было доказано, что размер первичного опухолевого узла в дальнейшем влияет на развитие регионарных и отдаленных метастазов и на показатели общей и безрецидивной выживаемости. В качестве дополнительных прогностических маркеров в настоящее время используют степень злокачественности, гормональный статус опухоли, возраст и т. д. [1]. Несмотря на то, что в настоящее время существуют многофакторные модели прогноза, практически все они могут лишь с небольшой и относительной точностью прогнозировать исход заболевания больных ранним раком молочной железы [2]. Таким образом, появляется необходимость поиска дополнительных прогностических маркеров у больных ранним РМЖ для прогнозирования исхода заболевания и определения целесообразности и объема проведения системной (неоадъювантной и адъювантной) терапии. Согласно полученным результатам наших предыдущих исследований, было установлено, что при проведении неоадъювантной химиотерапии (НХТ) у больных РМЖ происходит клональная эволюция опухоли, при которой наблюдается изменение наличия опухолевых клонов – полное/частичное их исчезновение или появление новых клонов с амплификациями локусов генов стволовости (3q, 5p, 6p, 7q, 8q, 13q, 9p, 9q, 10p, 10q21.1, 16p, 18chr, 19p), которое было сопряжено практически со 100 % метастазированием [3, 4]. Было высказано предположение о том, что наличие амплификаций локусов генов стволовости может приводить к их эктопической экспрессии это сопряжено с повышенной активностью опухолевых стволовых клеток у данных больных. Это приводит к высокой агрессивности опухоли и развитию метастатической болезни.

Цель – определить прогностическую значимость амплификаций локусов генов стволовости и их экспрессию у больных раком молочной железы I стадии без системной химиотерапии.

Материал и методы

В исследование были включены 28 пациенток с раком молочной железы T1NxM0 (T1a, T1b, T1c) с морфологически подтвержденным диагнозом в возрасте 29–64 лет (средний возраст $\pm$ стандартная ошибка, $48,5 \pm 1,22$ года). Все пациентки перенесли операцию. Адъювантную, лучевую терапию и/или гормональную терапию назначали по показаниям. В качестве материала использовались хирургические образцы (около 60–70 мм³). Наличие опухолевой ткани во всех образцах было морфологически подтверждено. Образцы опухоли помещали в раствор RNAlater (Ambion, США) и хранили при -80 °C (после 24 ч инкубации при + 4 °C) для дальнейшего выделения ДНК и РНК. Для 8 пациенток использовали архивный материал из фиксированного формалином парафина (FFPE). ДНК выделяли из 28 образцов опухолевой ткани с использованием набора QIAamp DNA (Qiagen, Germany). Выделение ДНК из FFPE (n=8) проводили с использованием набора ДНК blackPREP FFPE (Analytik Jena, Germany). РНК выделяли из 18 образцов опухоли с использованием набора RNeasy Mini kit Plus (Qiagen, Germany). Уровень экспрессии генов (OCT3, SMO, MYC, SNAI2, MOB3B, KLF4, BMI1, VIM, FLT3, LAT, SMAD2, LMNB3, KLF1, TERT, TGFB1, TGFB1) оценивали с использованием количественной ПЦР с обратной транскриптазой в реальном времени (RT-qPCR) с оригинальными праймерами и зондами с использованием

технологии TaqMan на усилителе Rotor-Gene-6000 (Corbett Research, Australia). В качестве гена рефери использовали GAPDH (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа) и АСТВ (актин бета), уровень экспрессии генов был нормализован по отношению к генам рефери и измерялся в произвольных единицах. Анализ хромосомных aberrаций (CNA – Copy Number Aberration) проводили на ДНК-чипах CytoScan™ HD Array и с использованием микрочипа FFPE OncoScan™ (Affymetrix). Процедуры пробоподготовки, гибридизации и сканирования выполнялись в соответствии с протоколом производителя в системе Affymetrix GeneChip® Scanner 3000 7G (Affymetrix). Для обработки результатов микрочипирования использовалась программа Chromosome Analysis Suite 4.0 (Affymetrix).

Результаты

Анализ CNA-генетического ландшафта исследуемых опухолей показал, что у 17 из 18 (94,4 %) пациентов без метастазов не было двух или более амплификаций хромосомных локусов (3q, 5p, 6p, 7q, 8q, 13q, 9p, 9q, 10p, 10q21.1, 16p, 18chr, 19p). У 5 из 17 пациентов отмечались единичные амплификации этих хромосомных областей. Частота цитобендов с CNA (количество цитобендов с CNA/общее количество цитобендов в геноме человека 862) в группе пациенток без гематогенных метастазов не превышала 25 %. Интересно, что у одной пациентки было шесть амплифицированных участков в опухоли и отсутствовало прогрессирование в течение 6 лет после лечения. Несмотря на это, вероятность метастазирования в более поздние сроки остается.

Десять пациенток имели висцеральные метастазы в разное время после операции (от 3 до 120 мес). У 9/10 (90 %) пациенток в первичной опухоли было две или более амплификации генов стволовости, и это, по нашему мнению, предопределило у них неблагоприятный исход. У одной пациентки в опухоли была только одна амплификация гена стволовости TGFB1 на длинном плече 19 хромосомы, и развитие метастатического заболевания наблюдалось через три года после операции. Далее было проведено сравнение экспрессий генов стволовости в опухолях больных без метастазов, у которых не было амплификации генов стволовости или в опухоли была только одна амплификация. Несмотря на наличие только одной амплификации у данной пациентки, наблюдается очень высокая экспрессия 7 генов стволовости (OCT3, SMO, LAT, LMNB2, KLF1, TGFB1, TGFB1), что в 2–18 раз выше, чем у других обследованных пациенток. В этом случае можно предположить, что гиперэкспрессия генов стволовости происходит не из-за амплификации, а из-за других механизмов, которые могут быть связаны с их регуляцией, например, гипометилирования промоторов этих генов, miRNA и других механизмов.

Используя метод Каплана – Мейера, мы оценили безметастатическую выживаемость в группах пациенток с одной или без амплификаций и с двумя или более амплификациями. Оказалось, что 5-летняя выживаемость пациенток первой группы составляет 89 % по сравнению со второй группой, в которой этот показатель всего 30 %. Различия статистически значимы (log-rank test $p=0,01$) (рис. 1)

Заключение

В результате исследования было показано, что у большинства пациенток с опухолями I стадии, у которых развились метастазы, было увеличение 2 или более стволовых клеток (90 %). В то время как в опухоли пациенток с благоприятным исходом наблюдалась низкая экспрессия генов стволовости и не более одной амплификации. Это показывает, что наличие 2 или более амплификаций стволовых генов является хорошим прогностическим маркером.

Работа поддержана грантом РФФИ 18–29–09131 мк «Феномен «замирания» опухоли в процессе химиотерапии»

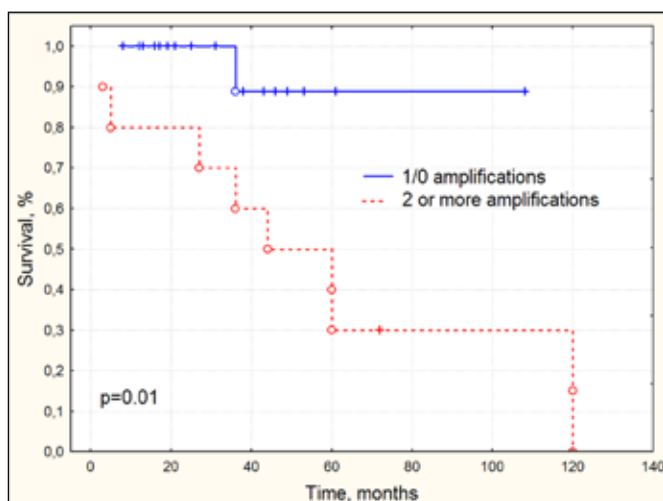


Рис. 1. Безметастатическая выживаемость пациенток с ранним раком молочной железы в зависимости от наличия/отсутствия амплификаций локусов генов стволовости

ЛИТЕРАТУРА

1. Esbah O., Oksuzoglu B. Prognostic & predictive factors for planning adjuvant chemotherapy of early-stage breast cancer. The Indian journal of medical research. 2017; 146(5): 563.
2. Vieira A.F., Schmitt F. An update on breast cancer multigene prognostic tests-emergent clinical biomarkers. Frontiers in medicine. 2018; 5: 248.
3. Litviakov N., Ibragimova M., Slonimskaya E., Skurikhin E., Tsyganov M., Pershina O., Deriusheva I., and Kazantseva P. Somatic transition of tumor cells is a key link in the metastasis. Annals of Oncology. 2018; 29(suppl_8): viii670-viii682.
4. Ibragimova M. K., Tsyganov M. M., Litviakov N. V. Natural and chemotherapy-induced clonal evolution of tumors. Biochemistry (Moscow). 2017; 82(4): 413–425.

ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ БИОПСИИ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ III PI-RADS

А.И. Глупова¹, А.А. Кельн^{1,2,3}, Г.С. Петросян^{2,3}

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень, Россия¹
Государственное автономное учреждение здравоохранения Тюменской области
«Многопрофильный клинический медицинский центр «Медицинский город»», г. Тюмень, Россия²
Областной урологический центр акционерное общество медико-санитарная часть «Нефтяник», г. Тюмень, Россия³

Аннотация

Введение. Стандартная биопсия предстательной железы (ПЖ) с последующей гистологической верификацией в настоящее время является неотъемлемой частью диагностики рака предстательной железы (РПЖ), однако число ложноотрицательных результатов и случаев недооценки степени агрессивности опухоли остается чрезмерно высоким. Внедрена в клиническую практику мультипараметрическая магнитно-резонансная томография, основанная на градации PI-RADS. Оценка PI-RADS не при всех категориях отражает клиническую картину и прогнозируемую степень агрессивности опухоли. При PI-RADS III вопрос о назначении биопсии является спорным и решается индивидуально в сочетании с клиническими данными пациента. **Материал и методы.** В ретроспективный анализ было включено 190 историй болезни и амбулаторных карт пациентов с 2015–2019 гг. Пациенты были разделены на 2 группы: в I группу вошли пациенты, которым была выполнена совмещенная биопсия, во II группу больные, которым выполнялась промежуточная биопсия. Возраст пациентов I группы – 64,3±5,2 года, II группы – 61,7±6,4 года. Объем предстательной железы у больных I группы – 46,4±12,5 см³, у пациентов II группы – 55,9±18,4 см³. Простат-специфический антиген у пациентов I группы – 36,4±16,8 нг/мл, во II группе – 52,9±16,6 нг/мл. Продолжительность расширенной трансперинеальной биопсии в обеих группах 26,8±4,3 мин. Среднее число биоптатов в обеих группах 26. **Результаты.** Рак предстательной железы по результатам промежуточной совмещенной под МРТ/ТРУЗИ навигацией и сатурационной биопсии диагностирован у 54 (42,8 %) больных I группы и у 32 (50 %) II группы. Индекс Глиссона у пациентов I группы: 6 баллов у 35 (76,1 %), 7 баллов – у 10 (21,7 %), 8 баллов – у 1 (2,2 %), во II группе: 6 баллов – у 18 (78,3 %), 7 баллов – у 4 (17,4 %), 8 баллов – у 1 (4,3 %) больного. **Выводы.** Совмещенная

трансперинеальная биопсия под МРТ/ТРУЗИ наведением позволяет точно определить патологическую стадию рака предстательной железы при градации PI-RADs III по данным мпМРТ.

Ключевые слова: рак предстательной железы, трансперинеальная совмещенная биопсия, сатурационная промежностная биопсия.

EXPEDIENCY OF PROSTATE BIOPSY IN III PI-RADS

A.I. Glupova¹, A.A. Kelin^{1,2,3}, G.S. Petsyan^{2,3}

Tyumen State Medical University of the Russia Ministry of Health, Tyumen, Russia

MCMC «Medical City», Tyumen, Russia

Regional Urological Center Health-care unit «Nefteyanik», Tyumen, Russia

Abstract

Prostate biopsy with subsequent histological verification is currently an integral part of the diagnosis of prostate cancer (Pc), but the number of false negative results and cases of underestimation of the degree of aggressiveness of the tumor remains excessively high. Introduction of multiparameter magnetic resonance imaging based on PI-RADs gradation into clinical practice. The PI-RADs score does not reflect the clinical picture and predicted degree of tumor aggressiveness in all categories. In PI-RADs III, the issue of biopsy assignment is decided individually in combination with the patient's clinical data. **Background:** to determine the diagnostic significance of transperineal prostate biopsy in PI-RADs III. **Materials and Methods.** A retrospective analysis was performed on 190 patient histories and outpatient records from 2015–2019. The Patients were divided into 2 groups: group I patients who underwent a combined biopsy and group II patients who underwent a perineal biopsy. Age of patients I – 64.3 ± 5.2 , II – 61.7 ± 6.4 . Prostate volume I 46.4 ± 12.5 cm³, II – 55.9 ± 18.4 cm³. Prostate-specific antigen groups I 36.4 ± 16.8 ng/ml, II – 52.9 ± 16.6 ng/ml. Duration of extended transperineal biopsy in both groups 26.8 ± 4.3 min. Average number of biopsies in both groups 26. **Results.** Prostate cancer was diagnosed in 54 (42.8 %) of group I and 32 (50 %) of group II according to the results of perineal combined MRI/TRUS navigation and saturation. Gleason's index in group I patients: 6 points in 35 (76.1 %), 7 points in 10 (21.7 %), 8 points in 1 (2.2 %), in group II: 6 points in 18 (78.3 %), 7 points in 4 (17.4 %), 8 points in 1 (4.3 %). **Conclusion.** Combined transperineal biopsy under MRI/TRUS guidance allows you to accurately determine the pathological stage of prostate cancer in the PI-RADs III gradation according to mpMRI data.

Key words: prostate cancer, transperineal combined biopsy, perineal saturation biopsy.

Актуальность

Рак предстательной железы (РПЖ) является одним из наиболее частых онкологических патологий у мужчин. Ежегодно в мире РПЖ диагностируется у 900 тыс. мужчин [1, 2]. Стандартная биопсия предстательной железы (ПЖ) с последующей гистологической верификацией в настоящее время является неотъемлемой частью диагностики рака ПЖ (РПЖ), однако число ложноотрицательных результатов и случаев недооценки степени агрессивности опухоли остается чрезмерно высоким [3, 4]. Активное и массовое внедрение в клиническую практику мультипараметрической магнитно-резонансной томографии (мпМРТ) в сочетании с использованием гибридной технологии, на основе слияния результатов исследований мпМРТ и трансректального ультразвукового (ТРУЗИ) и последующей биопсии может существенно повысить выявляемость опухолей среднего и высокого риска. Данные, полученные при мпМРТ, оцениваются по системе PI-RADs [5, 6]. Градация PI-RADs – это характеристика вероятности наличия у пациента изменений предстательной железы, соответствующих клинически значимому РПЖ [7]. Однако не всегда оценка PI-RADs отражает клиническую картину и прогнозируемую степень агрессивности опухоли. При PI-RADs III вопрос о назначении биопсии решается с учетом лабораторных данных, результатов пальцевого ректального исследования и анамнеза. Дело в том, что частота выявления рака при биопсии очагов PI-RADs III характеризуется значительной вариабельностью – от 5 до 26 % [8, 9].

Цель исследования – определить диагностическую значимость трансперинеальной биопсии предстательной железы при PI – RADs III.

Материал и методы

Ретроспективно изучено 190 историй болезни и амбулаторных карт пациентов, получивших стационарное лечение в АО МСЧ «Нефтяник» и прошедших амбулаторное обследование в ГАУЗ ТО МКМЦ «Медицинский Город» с 2015 по 2019 год с подозрением на РПЖ. Пациенты были разделены на 2 группы: в I группу вошли пациенты, которым была проведена совмещенная биопсия, а во II группу – пациенты, которым была выполнена промежностная

биопсия. Возраст пациентов I группы – $64,3 \pm 5,2$ года, а II группы – $61,7 \pm 6,4$ года. Объем предстательной железы у пациентов в I группе – $46,4 \pm 12,5$ см³, во II группе – $55,9 \pm 18,4$ см³. Простат-специфический антиген у пациентов I группы – $36,4 \pm 16,8$ нг/мл, II группы – $52,9 \pm 16,6$ нг/мл. Продолжительность расширенной трансперинеальной биопсии в обеих группах была одинакова и составила $26,8 \pm 4,3$ мин. Среднее число биоптатов в обеих группах не различалось и составило 26.

Результаты

Рак предстательной железы по результатам промежностной совмещенной биопсии под МРТ/ТРУЗИ навигацией и сатурационной биопсии морфологически подтвержден у 54 (42,8 %) и 32 (50 %), доброкачественная гиперплазия предстательной железы у 41 (32,5 %) и 17 (26,6 %); доброкачественная гиперплазия предстательной железы в сочетании с простатической интраэпителиальной неоплазией – 28 (22,3 %) и 14 (21,9 %); доброкачественная гиперплазия предстательной железы и мелкоацинарная пролиферация (ASAP) у 3 (2,4 %) и у 1 (1,5 %) соответственно. Индекс Глиссона у пациентов I группы: 6 баллов – у 35 (76,1 %), 7 баллов – у 10 (21,7 %), 8 баллов – у 1 (2,2 %); у больных II группы: 6 баллов – у 18 (78,3 %), 7 баллов – у 4 (17,4 %), 8 баллов – у 1 (4,3 %).

Пациентам с установленным диагнозом РПЖ проведено специальное лечение. В I группе 7 (21,2 %) пациентам выполнена брахитерапия, аденомэктомия – 2 (6,1 %) с последующей гормональной и дистанционной лучевой терапией, брахитерапия в сочетании с дистанционной лучевой терапией – 1 (3 %), динамическое наблюдение – 1 (3 %); гормональная и дистанционная лучевая терапия 8 (24,2 %), радикальная простатэктомия – 12 (21,3 %) и 2 (6 %) проходят дообследование и находятся в процессе определения тактики. Во II группе 3 (13,1 %) пациентам проведена брахитерапия; аденомэктомия – 1 (4,3 %) с последующей гормональной и дистанционной лучевой терапией, брахитерапия в сочетании с дистанционной лучевой терапией – 2 (8,7 %), под динамическим наблюдением находятся 2 (8,7 %), гормональная и дистанционная лучевая терапия проведена 5 (21,7 %), радикальная простатэктомия – 10 (34,8 %) пациентам.

Выводы

Совмещенная трансперинеальная биопсия под МРТ/ТРУЗИ наведением позволяет точно определить патологическую стадию рака предстательной железы при градации PI-RADs III по данным мпМРТ.

ЛИТЕРАТУРА

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России. 2019. 250 с.
- Мишин К.И., Кельн А.А. Оценка эффективности скрининга рака предстательной железы в Тюменской области. Университетская медицина Урала. 2019; 2: 26–27.
- Кельн А.А., Зырянов А.В., Зотов П.Б., Пономарев А.В., Суриков А.С., Знобищев В.Г. Роль сатурационной трансперинеальной биопсии в диагностике рака предстательной железы в «эру» таргетной fusion-биопсии. Креативная хирургия и онкология. 2018; 8(2): 111–116.
- Коссов Ф.А., Камолов Б.Ш., Абдуллин И.И., Баранова Е.О., Шориков М.А., Панов В.О., Тюрин И.Е., Матвеев В.Б., Григорьев Н.А., Долгушин Б.И. Применение МРТ/УЗИ fusion-биопсии в диагностике клинически значимого рака предстательной железы. Онкоурология. 2017; 13(3): 61–70.
- Кельн А.А., Зырянов А.В., Измайлов А.А., Зотов П.Б., Знобищев В.Г., Пономарев А.В. Сравнительный анализ нежелательных явлений при использовании различных методик биопсии предстательной железы. Онкоурология. 2019; 1: 66–74.
- Niaf E., Lartizien C., Bratan F., Roche L., Rabilloud M., Mège-Lechevallier F., Rouvière O. Prostate focal peripheral zone lesions; characterization at multiparametric MR imaging-influence of computer-aided diagnosis system. Radiology. 2014 Jun; 271(3): 761–9. doi: 10.1148/radiol.14130448.
- Зырянов А.В., Кельн А.А., Суриков А.С., Пономарев А.В., Купчин А.В., Лебедев А.В., Попов И.Б. Диагностическая ценность повторной биопсии предстательной железы под fusion-контролем. Онкоурология. 2017; 3: 71–76.
- Коган М.И., Ибишев Х.С., Белоусов И.И., Набока Ю.Л. Простатит и заболевания имитаторы. Клинические разборы. Медконгресс. 2019; 300 с.
- Зырянов А.В., Попов И.Б., Пономарев А.В., Кельн А.А., Суриков А.С. Прицельная биопсия предстательной железы под фьюжен-контролем МРТ и УЗ. Академический журнал Западной Сибири. 2016; 12 4(65): 28–30.

ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ПРИ МЕТАСТАТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ

П.В. Голубев, А.В. Бухаров, В.А. Державин, А.В. Ядрина

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия

Аннотация

За последние десятилетия, благодаря совершенствованию методик лучевой и лекарственной терапии, достигнут значительный прогресс в лечении пациентов с метастатическим поражением органов и систем, в том числе и с метастазами в кости. При корректно проводимой системной терапии выживаемость больных с отдаленными метастазами в кости может достигать 12–24 мес. Увеличение продолжительности жизни таких пациентов сегодня заставляет более широко использовать хирургические методики паллиативного и радикального хирургического лечения метастазов в кости. Метастазы в кости часто сопровождаются угрозой или состоявшимся патологическим переломом, которые сопровождаются выраженным болевым синдромом, снижением качества жизни и инвалидизацией пациента, а также затрудняют проведение системной лекарственной терапии [1, 2].

Ключевые слова: метастазы в кости, патологический перелом, погружной остеосинтез, эндопротезирование.

SURGICAL TREATMENT OF METASTATIC LESIONS OF LONG BONES

P.V. Golubev, A.V. Bukharov, V.A. Derzhavin, A.V. Yadrina

P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Radiology Research Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

Over the past decades, thanks to the improvement of radiation and drug therapy methods, significant progress has been made in the treatment of patients with metastatic lesions of organs and systems, including bone metastases. With correctly conducted systemic therapy, the survival rate of patients with distant bone metastases can reach 12–24 months. The increase in the life expectancy of such patients today makes it more widely used surgical methods of palliative and radical surgical treatment of bone metastases. Metastases in the bone are often accompanied by a threat or a pathological fracture that is accompanied by a pronounced pain syndrome, a decrease in the quality of life and disability of the patient, and also make it difficult to conduct systemic drug therapy [1, 2].

Key words: bone metastases, pathological fracture, submerged osteosynthesis, endoprosthesis.

Актуальность

В настоящее время в мировом онкологическом сообществе не определен оптимальный объем хирургического лечения пациентов с метастатическим поражением костей [3–6]. В нашей работе мы приводим полученные сравнительные результаты использования двух основных хирургических методик – онкологического эндопротезирования и интрамедуллярного металлоостеосинтеза.

Цель – оценить возможности адекватного ортопедического пособия пациентам с осложненным течением метастатического поражения длинных костей.

Материал и методы

За период с 2006 по 2018 г. по поводу метастазов в длинные кости оперативное лечение проведено 184 пациентам (66 мужчин и 118 женщин). Возраст 17–81 год.

Морфологически первичная опухоль была представлена следующим образом: 66 (36 %) – метастазы рака молочной железы, 52 (28 %) – рак почки, 17 (9 %) – рак предстательной железы, 13 – метастазы БВПО. У 36 пациентов наблюдались другие формы (рис. 1).

Все пациенты были разделены на 2 группы:

Первая группа: 126 (68 %) пациентам выполнены сегментарные резекции с эндопротезированием (ЭП). Из них 95 (75 %) пациентов с метастатическим поражением костей нижней конечности и 31 (25 %) пациент с вторичным поражением костей верхней конечности. Угроза патологического перелома была у 59 (47 %), состоявшийся перелом – у 67 (53 %) пациентов.

Для данной группы пациентов были проанализированы средние показатели функционального состояния больных по шкалам MSTS, Watkins и шкале Карновского (табл. 1).

Вторая группа: 58 (32 %) больным применен погружной остеосинтез (ПО). Из них 45 (78 %) пациентов с метастатическим поражением костей нижней конечности и 13 (22 %)

пациентов с вторичным поражением костей верхней конечности. Угроза патологического перелома была у 21 (36 %) пациента, состоявшийся перелом – у 37 (64 %) пациентов.

Для данной группы пациентов также были проанализированы средние показатели функционального состояния больных по шкалам MSTS, Watkins и шкале Карновского (табл. 2).

Результаты

Среднее время операции в первой группе составило 130 мин, во второй – 110 мин; медиана кровопотери в первой группе – 650 мл, во второй – 350 мл; пациенты активизированы на 2–3-и сут в обеих группах.

Проведено сравнение хирургических и анатомо-функциональных результатов по оценочным шкалам MSTS, Watkins и шкале Карновского между группами пациентов с ЭП и ПО после проведенного хирургического лечения. Показатель по шкале MSTS в группе пациентов с ЭП составил 83 %, в группе пациентов с ПО – 69 %. По шкале Watkins показатель в первой группе составил 76 %, во второй – 66 %. По шкале Карновского – 80 % и 70 % соответственно.

Выводы

Онкологическое эндопротезирование и погружной остеосинтез являются основными методами в хирургическом лечении пациентов с осложненным течением вторичного поражения длинных костей. Однако проведенный анализ свидетельствует в пользу эндопротезирования, так как этот метод позволяет наиболее адекватно провести стабилизацию, купировать болевой синдром и в целом улучшить качество жизни пациентов.

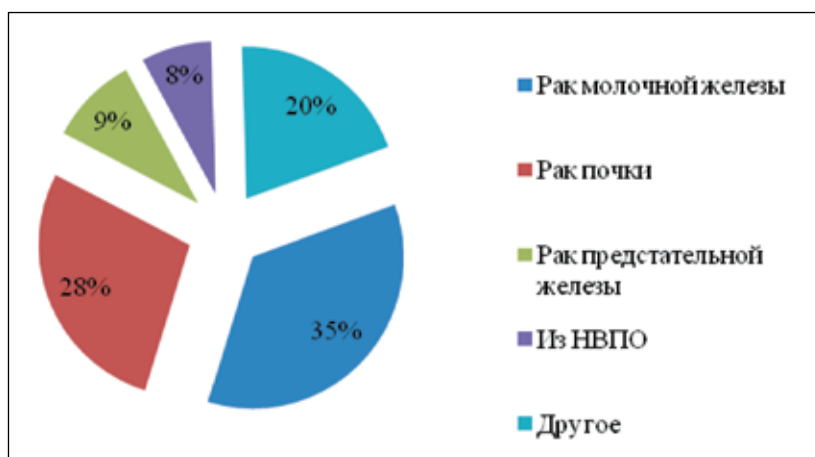


Рис. 1. Распределение пациентов в зависимости от морфологической структуры опухоли

Таблица 1

Средние показатели по шкалам MSTS, Watkins, Карновского у группы пациентов с эндопротезированием до хирургического лечения

	Эндопротезирование	
	Угроза перелома	Состоявшийся перелом
MSTS	56	44
Watkins	54	43
Шкала Карновского	50	30

Таблица 2

Средние показатели по шкалам MSTS, Watkins, Карновского у группы пациентов с погружным остеосинтезом до хирургического лечения

	Погружной остеосинтез	
	Угроза перелома	Состоявшийся перелом
MSTS	53	42
Watkins	49	40
Шкала Карновского	50	30

ЛИТЕРАТУРА

1. Бычкова Н.М., Хмелевский Е.В. Особенности метастатического поражения костей при различных первичных опухолях и их значение для дистанционной лучевой терапии. Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2016; 5(6): 12–20. doi: 10.17116/onkolog20165612–20.

2. Willeumier J.J., van der Linden Y.M., van de Sande M.A.J., Dijkstra P.D.S. Treatment of pathological fractures of the long bones. *EFORT Open Rev.* 2017 Mar 13; 1(5): 136–145. doi: 10.1302/2058–5241.1.000008.

3. Карпенко В.Ю., Державин В.А., Бухаров А.В., Данилова Т.В., Андреев М.С. Ранние результаты реверсивного эндопротезирования плечевого сустава при опухолевом поражении плечевой кости. *Вестник травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова.* 2015; 2: 25–30. doi: 10.32414/0869–8678–2015–2–25–30.

4. Rath B., Tingart M., Migliorini F., Eschweiler J., Zureik R., Haddad J. Differentiated treatment strategies for bone metastases of the extremities. *Orthopade.* 2019 Sep; 48(9): 752–759. doi: 10.1007/s00132–019–03791-w.

5. Willeumier J.J., van der Linden Y.M., van de Sande M.A.J., Dijkstra P.D.S. Treatment of pathological fractures of the long bones. *EFORT Open Rev.* 2017 Mar 13; 1(5): 136–145. doi: 10.1302/2058–5241.1.000008.

6. Szendrői M., Antal L., Szendrői A., Lazáry A., Varga P.P. Diagnostic algorithm, prognostic factors and surgical treatment of metastatic cancer diseases of the long bones and spine. *EFORT Open Rev.* 2017 Sep 1; 2(9): 372–381. doi: 10.1302/2058–5241.2.170006.

СВЯЗЬ УРОВНЕЙ ЭКСПРЕССИИ МРНК РЕЦЕПТОРА ЭНДОЦИТОЗА LRP1 И МРНК МАРКЕРОВ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ

Д.В. Гордий¹, Г.В. Зенгер¹, Е.Н. Менькова²

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Томск, Россия¹

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

Аннотация

В работе провели анализ связи уровня экспрессии мРНК основного рецептора эндоцитоза LRP1 у больных раком гортани и гортаноглотки (РГ) с основными клинико-морфологическими параметрами и маркерами эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) SNAI1, RND3 и виментина (VIM). Отмечено достоверное увеличение экспрессии мРНК LRP1 на 56 % в группе больных РГ Т3–4N0–3M0 по сравнению с группой больных РГ Т2N0–1M0. Экспрессия мРНК LRP1 у больных с метастазами была выше в 2 раза, чем у больных без метастазов. Слабая корреляция отмечена между LRP1 и RND3 и LRP1 и метастатическим статусом. Результаты работы говорят об участии LRP1 в патогенезе рака гортани и гортаноглотки и, в целом, дополняют знания о молекулярных особенностях опухолевого роста.

Ключевые слова: рецептор эндоцитоза, эндоцитоз, эпителиально-мезенхимальный переход, рак гортани и гортаноглотки, прогрессирование, маркеры, метастазирование.

RELATIONSHIP BETWEEN THE MRNA EXPRESSION LEVELS OF LRP1 ENDOCYTOSIS RECEPTOR AND MARKERS OF THE EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION IN SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE LARYNX AND LARYNGEAL PHARYNX.

D.V. Gordiy¹, G.V. Zenger¹, E.N. Menkova²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

The study conducted an analysis of the relationship between the level of mRNA expression of the main receptor for endocytosis LRP1 with the main clinical and morphological parameters and markers of the epithelial-mesenchymal transition (EMT) SNAI, RND3 and vimentin (VIM) in patients with laryngeal and laryngeal pharynx cancer (LC). A significant increase in expression of LRP1 mRNA was noted by 56 % in the group of patients with LC T3–4N0–3M0, compared with the group of patients with LC T2–NO–1M0. The

expression of LRP1 mRNA in patients with metastases was 2 times higher than in patients without metastases. A weak correlation was noted between LRP1 and RND3, LRP1 and metastatic status. The results of the work indicate the involvement of LRP1 in the pathogenesis of LC, and complete the knowledge about the molecular features of tumor growth.

Key words: endocytosis receptor, endocytosis, epithelial-mesenchymal transition, cancer of the larynx and laryngeal pharynx, progression, markers, metastasis.

Актуальность

Рецептор липопротеинов низкой плотности LRP1 (также известен как APO-ER; APR; CD91; IGFBP-3R; CD91; A2MR) является многофункциональным эндоцитарным рецептором, взаимодействует с широким спектром белковых лигандов и широко экспрессируется на поверхности различных клеток, в том числе и опухолевых [1, <http://atlasgeneticsoncology.org>, <https://www.proteinatlas.org>]. Известно, что LRP1 участвует в регуляции протеазного профиля экстраклеточного матрикса, который играет важную роль в прогрессировании опухолей [2, 3]. Есть данные, что члены семейства LRP опосредованно участвуют в модуляции сигнальных путей [4, 5, <https://www.ensembl.org>]. Данные об участии LRP1 в опухолевом росте в литературе достаточно противоречивы [6, 7]. Сведения об участии LRP1 в патогенезе плоскоклеточного рака гортани и гортаноглотки (РГ), одного из самых агрессивных типов рака [8–10], в литературе единичны [6]. Детальное изучение молекулярных основ прогрессирования РГ позволит сформировать базу для разработки новых более специфичных диагностических и терапевтических подходов. Поэтому **целью исследования** явилась оценка уровня экспрессии мРНК LRP1 у больных РГ в связи с основными клинико-морфологическими параметрами и маркерами эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) SNAI1, RND3, VIM (виментина).

Материал и методы

Уровень экспрессии мРНК LRP1 и маркеров ЭМП SNAI1, RND3 и виментина оценивали методом ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) по технологии Sybr Green и рассчитывали по методу $2^{-\Delta\Delta CT}$ в парных образцах ткани относительно гена рефери GAPDH (glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase). В исследование вошли 38 больных РГ (T1–4N0–2M0). Праймеры были подобраны с использованием программы Vector NTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>): SNAI1 (F-CCCAATCGGAAGCCTAACT; R-GTAGAGGAGAAGGACGAAGGA), RND3 (F-AGAGAGCCACAAAGCGGAT; R-TATCCTCTCAAACGCCTCCTA), VIM (F-CAGATGCGTGAAATGGAAGA-; R-TGTAGGTGGCAATCTCAATGT), LRP1 (F-TGTGTGGATGGCAGTGATG; R-CAGTCATCCTCTCCGTCAC), GAPDH (F-GGAAGTCAGGTGGAGCGA; R-GCAACAATATCCACTTTACCAGA). Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0. Результаты приведены в таблицах в условных единицах как $M \pm m$, где M – среднее, m – стандартное отклонение.

Результаты

Было выявлено, что у больных РГ в продвинутых стадиях заболевания T3–4N0–1M0 экспрессия SNAI1 была выше в 6 раз, чем у больных РГ T1–2N0–1M0, что не противоречит общепринятым данным [10]. Повышение экспрессии мРНК LRP1 у больных РГ в продвинутых стадиях заболевания T3–4N0–1M0 было малозначимым ($p=0,051$) (табл. 1).

Достоверное увеличение экспрессионной активности мРНК LRP1 в опухолевой ткани на 56 % отмечено у больных РГ T3–4N0–3M0 по сравнению с группой больных РГ T2N0–1M0 (табл. 2).

Метастатический процесс в представленной выборке больных РГ отражался на уровне экспрессии всех генов (табл. 3). Отмечены тенденция к увеличению уровня экспрессии SNAI1 почти в 9 раз и достоверное увеличение экспрессии LRP1 в 2 раза у больных в группе с метастазами в регионарный шейный лимфатический аппарат.

В представленной выборке пациентов корреляционный анализ выявил слабую взаимосвязь экспрессии LRP1 с метастатическим статусом ($r=0,4$; $p=0,05$) и с уровнем экспрессии маркера ЭМП RND3 ($r=0,3$; $p=0,05$). Есть данные о связи LRP1 с сигнальными путями Ras, с-Мус, MAPK и Akt / PI3K, участвующими в онкогенезе [11], о связи LRP1 с маркерами ЭМП нет данных, поэтому окончательные выводы на данный момент сделать пока невозможно. Однако результаты могут быть обсуждены при увеличении выборки и генов-мишеней.

Выводы

Уровень экспрессии LRP1 в опухолевой ткани у больных РГ зависел от распространенности опухолевого процесса, что не противоречит литературным данным об участии этого

рецептора в опухолевом росте [7, 11]. Учитывая, что LRP1 имеет несколько функциональных доменов и взаимодействует с широким спектром белковых лигандов [11–13], для выяснения его функциональных особенностей при канцерогенезе необходимо включать больше мишеней, которые могут работать в тандеме. Кроме того, полученные результаты дополняют знания о молекулярных особенностях опухолевого роста. Высокая смертность онкологических больных, появление резистентных к терапевтическим воздействиям форм опухолей требует разностороннего изучения биологии опухолевого роста [14].

Таблица 1

Уровень экспрессии мРНК генов, кодирующих LRP1, и маркеры ЭМП в патологически измененной ткани в зависимости от тяжести патологического процесса

мРНК	T1–2N0–1M0	T3–4N0–3M0	p
SNAI1	2.56±4.93	12.22±9.79	0.05
VIM	26.52±24.19	11.46±5.12	0.27
RND3	14.29±27.02	5.61 ±2.63	0.19
LRP1	1.54±0.28	3.88±0.98	0.051

Примечание: p – значимость различий между группами.

Таблица 2

Уровень экспрессии мРНК генов, кодирующих эндоцитарный рецептор LRP1, и маркеры ЭМП в зависимости от тяжести патологического процесса

мРНК	T1N0M0	T2N0–1M0	T3–4N0–3M0	p ₁	p ₂
SNAI1	2.67±1.56	0.70±0.26	12.22±9.79	0.12	0.05
VIM	26.52±12.09	2.35±1.23	11.46±5.12	0.19	0.11
RND3	14.30±9.01	17.3±16.48	5.61 ±2.63	0.67	0.75
LRP1	1.54±8.85	0.74±0.71	3.88±0.98	0.38	0.05

Примечание: p₁ – достоверность различий между группами T1N0M0 и T2N0–2M0; p₂ – достоверность различий между группами T1N0M0 и T3–4N0–2M0.

Таблица 3

Уровень экспрессии мРНК генов, кодирующих LRP1, и маркеры ЭМП в опухолевой ткани больных РГ в зависимости от метастазов в регионарный лимфатический аппарат

мРНК	Без метастазов	Метастазы	p
SNAI1	2,44±4,58	17,78±35,24	0,06
VIM	21,43±30,45	2,34±3,37	0,19
RND3	14,83±34,31	3,02±5,88	0,11
LRP1	2,44±0,89	5,22±6,00	0,05

Примечание: p – значимость различий между группами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bres E.E., Faissner A. Low Density Receptor-Related Protein 1 Interactions With the Extracellular Matrix: More Than Meets the Eye. *Front Cell Dev Biol.* 2019 Mar 15; 7: 31. doi: 10.3389/fcell.2019.00031.
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: 45–50.
3. Малахова Е.В., Кондакова И.В., Черемисина О.В., Какурина Г.В., Меньшиков К.Ю. Экспрессия генов матричных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в тканях опухолей у больных раком гортани и гортаноглотки. *Сибирский онкологический журнал.* 2012; 1: 36–40.
4. Bengoa-Vergniory N., Kupta R.M. Canonical and noncanonical Wnt signaling in neural stem/progenitor cells. *Cell Mol Life Sci.* 2015 Nov; 72(21): 4157–72. doi: 10.1007/s00018-015-2028-6.
5. Grainger S., Willert K. Mechanisms of Wnt signaling and control. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 2018 Mar 30: e1422. doi: 10.1002/wsbm.1422.
6. González-Chavarría I., Fernandez E., Gutierrez N., González-Horta E.E., Sandoval F., Cifuentes P., Castillo C., Cerro R., Sanchez O., Toledo J.R. LOX-1 activation by oxLDL triggers an epithelial mesenchymal transition and promotes tumorigenic potential in prostate cancer cells. *Cancer Lett.* 2018 Feb 1; 414: 34–43. doi: 10.1016/j.canlet.2017.10.035.
7. Harisa G.I., Alanazi F.K. Low density lipoprotein bionanoparticles: From cholesterol transport to delivery of anti-cancer drugs. *Saudi Pharm J.* 2014 Dec; 22(6): 504–15. doi: 10.1016/j.jsps.2013.12.015.
8. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л., Шишкин Д.А., Черемисина О.В. Особенности протеома сыворотки крови больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи. *Сибирский онкологический журнал.* 2013; 2: 62–66.
9. Чойнзонов Е.Л., Кондакова И.В., Спирина Л.В., Лебедев И.Н., Гольдберг В.Е., Чижевская С.Ю., Шишкин Д.А., Уразова Л.Н., Какурина Г.В., Бычков В.А., Хричкова Т.Ю., Мельников А.А. Плоскоклеточный рак головы и шеи: молекулярные основы патогенеза. Москва: Наука, 2016. 221 с.

10. Чойнзонов Е.Л., Старцева Ж.А., Мухамедов М.Р., Стивакова И.О., Черемисина О.В., Грибова О.В., Кульбакин Д.Е., Суркова П.В. Локальная гипертермия в комбинированном лечении рака гортани и гортаноглотки. Сибирский онкологический журнал. 2014; 5: 5–9.
11. Gool B.V., Dedieu S., Emonard H., Roebroek A.J.M. The Matricellular Receptor LRP1 Forms an Interface for Signaling and Endocytosis in Modulation of the Extracellular Tumor Environment. *Front Pharmacol.* 2015 Nov 10; 6: 271. doi: 10.3389/fphar.2015.00271.
12. Xiong H., Yu Q., Gong Y., Chen W., Tong Y., Wang Y., Xu H., Shi Y. Yes-Associated Protein (YAP) Promotes Tumorigenesis in Melanoma Cells Through Stimulation of Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 1. *Sci Rep.* 2017 Nov 14; 7(1): 15528. doi: 10.1038/s41598-017-14764-4.
13. Pires L.A., Hegg R., Freitas F.R., Tavares E.R., Almeida C.P., Baracat E.C., Maranhão R.C. Effect of neoadjuvant chemotherapy on low-density lipoprotein (LDL) receptor and LDL receptor-related protein 1 (LRP-1) receptor in locally advanced breast cancer. *Braz J Med Biol Res.* 2012 Jun; 45(6): 557–64.
14. Смирнова Л.П., Кондакова И.В. Тип тканевой организации опухоли в определении активности антиоксидантных ферментов. Сибирский онкологический журнал. 2002; 1: 65–69.

ЧИСЛЕННОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕДИЦИНСКИХ ЭЛЕКТРОННЫХ ПУЧКОВ С ОБРАЗЦАМИ, ИЗГОТОВЛЕННЫМИ ИЗ ПЛА-ПЛАСТИКА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ФОРМИРУЮЩИХ ЭЛЕМЕНТОВ

А.А. Григорьева¹, А.А. Булавская¹, В.С. Кондратьева¹, И.А. Милойчикова^{1,2}, Ю.М. Черепенников¹, С.Г. Стучебров¹

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 представлены результаты численного моделирования процентных глубинных доз медицинского электронного пучка в образцах, изготовленных методом послойного наплавления из ПЛА-пластика с коэффициентами заполнения материалом 100; 90 и 80 %. Показано, что при уменьшении коэффициента заполнения изделия материалом кривая процентной глубинной дозы смещается в область больших толщин, что обусловлено меньшей плотностью напечатанного изделия. Однако максимальная толщина, необходимая для поглощения электронного пучка, увеличивается на 3 мм для 80 % по сравнению со 100 % наполнением, что является несущественным. Результаты работы показывают, что вариация параметров печати позволит создавать пластиковые элементы, формирующие медицинские электронные пучки с меньшими затратами на расходный материал и время изготовления.

Ключевые слова: численное моделирование, метод Монте-Карло, процентная глубинная доза, лучевая терапия, электронный пучок, трехмерная печать.

NUMERICAL SIMULATION OF MEDICAL ELECTRON BEAM INTERACTION WITH SAMPLES MADE OF PLA PLASTIC FOR BEAM FORMING APPLICATION

A.A. Grigorieva¹, A.A. Bulavskaya¹, V.S. Kondratieva¹, 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 work demonstrates numerical simulation of percentage depth dose for medical electron beam in the samples made of PLA plastic by fused deposition method with filling coefficient of 100 %, 90 %, and 80 %. It is shown that percentage depth dose curve shifts to the larger thicknesses with filling coefficient decreasing as far as 3D-printed sample density also decreases. However, the maximal thicknesses, which is necessary for total absorption of the electron beam, increases by 3 mm for 80 % filling in comparison with 100 % one that

is almost negligible. Results demonstrate that printing parameters changing allows plastic samples creating for medical electron beam forming with lower material and time consuming.

Key words: numerical simulation, Monte Carlo method, percentage depth dose, radiation therapy, electron beam, 3D printing.

Актуальность

На данный момент во всем мире проблема онкологических заболеваний остается актуальной [1]. Своевременная диагностика и правильно подобранное лечение увеличивают вероятность выздоровления пациентов. Основой эффективного лечения онкологических заболеваний является оперативность, безопасность и комплексный подход. Существуют несколько основных методов лечения, к которым относят хирургическое вмешательство, лучевую терапию и химиотерапию [1]. Для воздействия на ткани организма возможно использование различных видов ионизирующего излучения: рентгеновское, тормозное высокоэнергетическое излучение, гамма-излучение от радионуклидов, бета-, нейтронное и протонное излучения [1, 2]. Использование электронных пучков широко распространено при лечении новообразований, расположенных близко к кожному покрову и при проведении интраоперационной лучевой терапии (ИОЛТ) [1, 3]. Благодаря небольшому пробегу электронная терапия позволяет проводить лечение, щадя подлежащие ткани при облучении [1, 3]. Основной задачей лучевой терапии является лечение злокачественных образований с помощью ионизирующего излучения при минимизации повреждения нормальных тканей, находящихся вблизи области облучения [1]. Для этих целей в электронной лучевой терапии создаются специальные формирующие элементы, например болусы, компенсаторы и коллиматоры, которые позволяют создавать заданное глубинное распределение дозы и сложную форму поля для облучения новообразований, расположенных близко к критическим органам [4, 5]. Одним из перспективных направлений в этой области является применение технологии трехмерной печати методом послойного наплавления для изготовления подобных изделий [6, 7]. Это позволит повысить эффективность методов лечения, использующих пучки электронов. Однако для определения форм и толщин таких формирующих элементов необходимо проводить предварительное численное моделирование процесса облучения [6]. Таким образом, актуальной является разработка численной модели терапевтического электронного пучка и параметров материалов, пригодных для изготовления изделий методами трехмерной печати.

Цель исследования – провести численное моделирование глубинных распределений доз пучков электронов в пластиковых образцах, изготовленных с помощью технологии послойного наплавления с разным коэффициентом заполнения материалом.

Материал и методы

Для формирующих элементов из полимерных материалов применяют метод послойного наплавления, так как он прост в использовании и позволяет создавать объекты со сложными геометриями и полостями [8]. В силу своей доступности и высокой прочности ПЛА-пластик (полилактид) был выбран в качестве основного полимерного материала, в котором определялось глубинное распределение [9]. Одним из недостатков ПЛА-пластика является его гигроскопичность, то есть при хранении требуется соблюдение режима влажности, иначе может начаться расслоение материала и в нем могут появиться пузырьки, что приведет к дефектам при изготовлении модели [9]. Чтобы предотвратить расслоение и деформацию образцов изготовленных из ПЛА-пластика, было решено изготавливать детали с разным коэффициентом заполнения материалом. Пластиковые образцы изготавливались с помощью 3D-принтера Ultimaker2 [10] с коэффициентом заполнения 100, 90 и 80 %. Плотность изделий определялась массовым методом. В таблице представлены основные параметры пластиковых образцов.

Численное моделирование проводилось в пакете GEANT4 [11]. Среда моделирования GEANT4 является одним из наиболее популярных пакетов при расчетах процессов взаимодействия элементарных частиц. Она позволяет моделировать частицы в очень широком энергетическом диапазоне (от нескольких электронвольт до многих гигаэлектронвольт), учитывать вклад всех вторичных частиц, возникающих в ядерных реакциях первичных частиц с веществом, и предоставляет широкие возможности для сбора различной информации (выделившуюся в заданном объеме энергию, поглощенную дозу, поток частиц, длины треков и др.) [11].

При численном моделировании глубинных доз пучка электронов в полимерных материалах за основу были выбраны следующие параметры современных клинических ускорителей

электронов: нормальное падение пучка на поверхность пластикового фантома, расстояние от источника до поверхности материала – 1 мм, размер поля (равномерное распределение электронов по площади) – $5 \times 5 \text{ см}^2$, моноэнергетический пучок электронов с энергией 6 МэВ. Параметры пластиковых образцов моделировались в соответствии с данными, представленными в таблице.

Результаты

На рис. 1 представлены процентные глубинные дозы (ПГД) распределения электронного пучка в пластиковых образцах, изготовленных посредством технологий трехмерной печати с разным коэффициентом заполнения материалом. Статистическая погрешность для расчетных результатов составляла менее 1 %.

Отмечено, что при печати образцов с коэффициентами заполнения материалом 100 % и 90 % плотности готового изделия отличаются незначительно (таблица), что проявляется совпадением соответствующих кривых на рис. 1. Таким образом, можно сделать вывод о том, что при создании данных образцов базовые настройки печати не меняются и необходимо дополнительное вмешательство оператора в процесс изготовления. В свою очередь, из данных рис. 1 видно, что при уменьшении коэффициента заполнения до 80 %, кривая процентной глубинной дозы пропорционально смещается вглубь образца, что объясняется уменьшением плотности готового изделия. Таким образом, уменьшая коэффициент заполнения изделия материалом, можно существенно снизить время изготовления и затраты материала, при этом максимальная толщина, необходимая для поглощения электронного пучка, увеличивается на 3 мм.

Выводы

В работе проведена оценка влияния коэффициента заполнения образца, изготовленного методом послойного наплавления, на характер взаимодействия с ним электронного пучка. При проведении дальнейших работ в рамках исследования вопроса формирования электронных пучков с помощью полимерных изделий результаты моделирования позволят определять необходимые формы и размеры таких устройств в соответствии с терапевтической задачей.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-79-10014).

Таблица

Параметры образцов, напечатанных из ПЛА-пластика

Заполнение, %	Плотность, г/см ³	Химический состав	Содержание элементов, %
80	1,05	$\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$	Углерод – 50,00
90	1,20		Водород – 5,60
100	1,22		Кислород – 44,40

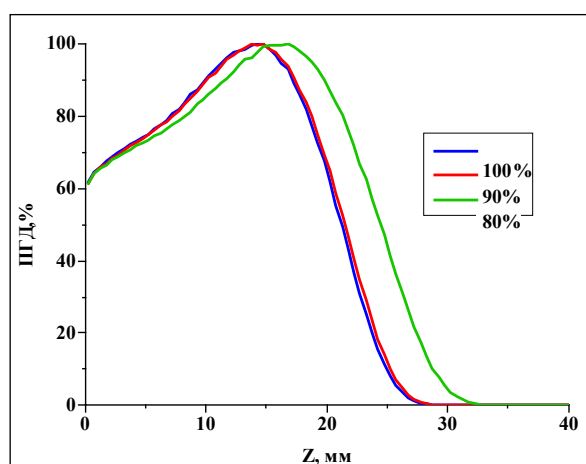


Рис. 1. Расчетные процентные глубинные распределения дозы электронного пучка с энергией 6 МэВ в ПЛА-пластике с разным коэффициентом заполнения

ЛИТЕРАТУРА

1. Khan F.M., Gibbons J.P. Classical Radiation Therapy. Khan's the physics of radiation therapy. Lippincott Williams & Wilkins, 2014. P. 133–405.
2. Чойнзонов Е.Л., Мусабаева Л.И., Авдеенко М.В., Грибова О.В. Комбинированное и лучевое лечение злокачественных новообразований околоушной слюнной железы. Российский онкологический журнал. 2010; 4: 25–28.

3. Мусабаева Л.И., Гарбуков Е.Ю., Усова А.В., Фролова И.Г., Старцева Ж.А., Великая В.В., Кучерова Т.Я. Лучевая реакция молочной железы после органосохраняющей операции, интраоперационной электронной и дистанционной гамма-терапии. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2012; 57(2): 78–82.

4. Климанов В.А. Радиобиологическое и дозиметрическое планирование лучевой и радионуклидной. М.: НИЯУ МИФИ, 2011. 500 с.

5. Григорьева А.А., Красных А.А., Милойчикова И.А., Черепенников Ю.М., Стучебров С.Г. Формирование дозного поля электронного пучка с помощью пластикового компенсатора. Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины. Томск: Национальный исследовательский Томский государственный университет, 2018. С. 210–212.

6. Милойчикова И.А., Стучебров С.Г., Данилова И.Б., Науменко Г.А. Моделирование формирования профиля электронного пучка микротрона с помощью выравнивающих фильтров. Физика элементарных частиц и атомного ядра. 2016; 13 7(205): 1386–1390.

7. Łukowiak M., Jezierska K., Boehlke M., Więcko M., Łukowiak A., Podraza W., Lewocki M., Masojć B., Falco M. Utilization of a 3D printer to fabricate boluses used for electron therapy of skin lesions of the eye canthi. J Appl Clin Med Phys. 2017 Jan; 18(1): 76–81. doi: 10.1002/acm2.12013.

8. Абрамова И.А., Полков Д. Технология послойного наплавления Fused Deposition Modeling. Наука и военная безопасность. 2016; 3: 111–114.

9. Лысыч М.Н., Беличенко Р.А., Шкильный А.А. Материалы для 3D печати. Актуальные направления научных исследований XXI века: теория и практика. 2014; 4: 200–205.

10. Ultimaker2 [Internet]. URL: <https://ultimaker.com/3d-printers/ultimaker-2-plus>.

11. Agostinelli S. Geant4 a simulation toolkit. Nuclear instruments and methods in physics research section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment. 2003; 506(3): 250–303.

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ КОМПОНЕНТОВ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

Я.Р. Гызарь, О.В. Штыгашева

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Аннотация

Колоректальный рак (КРР) занимает одно из ведущих мест в мире в структуре заболеваемости и смертности от онкологических заболеваний. КРР и компоненты метаболического синдрома (МС) часто сочетаются, имея патогенетическую взаимосвязь. Манифестация КРР и МС ассоциирована с увеличением возраста. Абдоминальное ожирение фиксируется у всех пациентов с КРР. Женщины чаще имеют ожирение, сахарный диабет, артериальную гипертензию и атерогенную дислипидемию, а мужчины – избыточную массу тела.

Ключевые слова: колоректальный рак, метаболический синдром, увеличение возраста, абдоминальное ожирение.

FREQUENCY OF METABOLIC SYNDROME COMPONENTS IN COLORECTAL CANCER

Y.R. Guzar, O.V. Shtygasheva

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common malignancies worldwide. CRC and components of the metabolic syndrome (MS) are often combined with a pathogenetic relationship. The manifestation of CRC and MS is associated with an increased age. Abdominal obesity is observed in all patients with CRC. Compared with men, women are more likely to have obesity, diabetes mellitus, arterial hypertension and atherogenic dyslipidemia.

Key words: colorectal cancer, metabolic syndrome, abdominal obesity.

Актуальность

Увеличение возраста как независимый и немодифицируемый фактор риска КРР влияет на рост числа инцидентов как в популяции, так и у индивидуумов. Модифицируемые факторы риска развития злокачественных новообразований толстой кишки связаны с образом жизни.

К ним относят ожирение, курение, избыточное употребление алкоголя, низкую физическую активность. Популяционные исследования подтвердили, что риск развития злокачественных опухолей различных локализаций выше среди лиц, имеющих некоторые метаболические нарушения, входящие в кластер МС, в том числе и КРР [1, 2]. По версии International Diabet Federation (IDF) 2005 г., к критериям МС относят абдоминальное ожирение (окружность талии более 94 см для мужчин и более 80 см для женщин – у европеоидной расы). Абдоминальное ожирение (АО) должно сочетаться как минимум с двумя из четырех дополнительных критериев: повышением триглицеридов (ТГ) более 1,7 ммоль/л или проводимым ранее лечением дислипидемии; снижением холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) менее 1,03 ммоль/л для мужчин и 1,29 ммоль/л для женщин; повышением артериального давления (систолического более 130 мм рт. ст., или диастолического более 85 мм рт. ст., или проводимая терапия артериальной гипертензии); повышением глюкозы крови натощак более 5,6 ммоль/л или нарушением толерантности к глюкозе, или выявленным сахарным диабетом 2-го типа [3, 4].

Цель исследования – изучить частоту встречаемости компонентов МС у пациентов с КРР.

Материал и методы

Исследование проведено в ГБУЗ Республики Хакасия «Республиканский клинический онкологический диспансер» среди пациентов госпитального контингента, на основании добровольного информированного согласия. Случайная выборка пациентов с верифицированным диагнозом КРР составила 96 человек (каждый второй от среднего ежегодного числа пациентов с КРР в Республике Хакасия), всем проведено анкетирование и антропометрия для выявления компонентов МС, согласно IDF.

Результаты

Из числа пациентов (n=96) с раком толстой кишки 92 (95,9 %) пациента имели дистальную локализацию опухоли, среди них 45 (46,9 %) женщин, 47 (49 %) мужчин. Проксимальная локализация опухоли составила 4,1 % генеральной совокупности (4 пациента, все женщины). Средний возраст мужчин составил 66,5 года, а женщин – 62,5 года.

При оценке аспектов МС пациентов с КРР абдоминальное ожирение выявлено в 100 % случаев (у мужчин соответствовало охвату талии (ОТ) ≥ 94 см, у женщин ОТ ≥ 80 см). Кроме того, изучены параметры индекса массы тела (ИМТ) по формуле Кетле. Использованы меньшие пороговые величины для верификации ожирения ≥ 30 кг/м², избыточной массы тела $\geq 25,0$ кг/м². Эксцессивная масса тела фиксировалась у 81,25 % пациентов: избыточная масса тела – у 39,5 % (38 человек), ожирение – у 41,75 % (40 человек). Среди мужчин чаще диагностировали избыточную массу тела (30,2 %), а среди женщин – ожирение разной степени (34,45 %).

Среди пациентов госпитального контингента за несколько лет до манифестации КРР сахарный диабет (СД) был подтвержден у 15,6 % пациентов. Во всех случаях это был сахарный диабет 2-го типа, ассоциированный с наследственным предрасположением (у родственников 1-й и 2-й степени родства также был СД) и эксцессивной массой тела. Среди пациентов с КРР, страдающих СД, женщин было в 4 раза больше, чем мужчин. Все пациенты с КРР и СД 2-го типа находились в возрастной категории старше 50 лет, в то время как у мужчин и женщин в возрасте до 50 лет нарушений углеводного обмена не встречалось (таблица).

Артериальная гипертензия (АГ), как один из компонентов МС, установлена у 46,9 % (45) пациентов, как и СД до 50 лет не выявлялась. После 50 лет АГ была диагностирована у 11,5 % (11 пациентов) мужчин и 35,4 % (34 пациентов) женщин. У женщин АГ встречалась в 3 раза чаще, чем у мужчин (таблица).

Частота атерогенной дислипидемии встречалась у каждого второго пациента с КРР 55,2 % (53 пациента), фиксировалась в группе пациентов после 50 лет. При этом у мужчин атерогенная дислипидемия регистрировалась в 1,5 раза реже, чем у женщин (22,9 % и 32,3 % соответственно) (таблица).

Выводы

Среди пациентов госпитального контингента установлена высокая частота компонентов МС до манифестации КРР. Абдоминальное ожирение зафиксировано у всей генеральной совокупности пациентов, в 81,25 % случаев АО сочеталось с эксцессивной массой тела. Женщины чаще имели абдоминальное ожирение в сочетании с ожирением, а также сахарный диабет, артериальную гипертензию и атерогенную дислипидемию. Мужчины чаще имели абдоминальное ожирение в сочетании с избыточной массой тела. Увеличение числа компонентов метаболического синдрома ассоциировано с увеличением возраста – более 50 лет.

Важным фактором является обратимость МС в целом и его отдельных компонентов. Можно добиться заметного улучшения общего состояния, влияя только на один из компонентов МС, за счет компенсации изменений в других звеньях его патогенеза. Мероприятия будут стать превентивными в отношении КРР, управлении метаболическим профилем пациентов за несколько лет до наступления критического возраста в реализации канцерогенеза.

Таблица

Частота компонентов метаболического синдрома из числа дополнительных критериев у пациентов с КРР до манифестации заболевания, ассоциированная с возрастом

Компоненты метаболического синдрома	Все пациенты, % (n=96)	Мужчины, % (n=47)		Женщины, % (n=49)	
		После 50 (n=45)	До 50 (n=2)	После 50 (n=45)	До 50 (n=4)
Сахарный диабет 2-го типа	15,6 (15)	3,1 (3)	0	12,5 (12)	0
Артериальная гипертензия	46,9 (45)	11,5 (11)	0	35,4 (34)	0
Атерогенная дислипидемия	55,2 (53)	22,9 (22)	0	32,3 (31)	0

ЛИТЕРАТУРА

1. Никитенко Т.М., Щербакова Л.В., Малютина С.К., Мустафина С.В., Вережкин Е.Г., Рагино Ю.И., Войццкий В.Е., Пятибратова А.В., Рымар О.Д. Метаболический синдром как фактор риска колоректального рака. Ожирение и метаболизм. 2017; 14(2): 24–32.
2. Штыгашева О.В., Агеева Е.С., Гузарь Я.Р. Анамнестические предикторы колоректального рака. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019; 2(162): 50–54. doi: 10.31146/1682–8658-esg-162–2-50–54.
3. Рекомендации по ведению больных с метаболическим синдромом. Клинические рекомендации. М., 2013. 43 с.
4. Рекомендации экспертов Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению метаболического синдрома. Второй пересмотр. М., 2009. 43 с.

ПОГРАНИЧНЫЕ ПСИХИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА В ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Е.С. Гураль

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

Аннотация

Психические расстройства у пациентов с онкологическими заболеваниями встречаются чаще, чем в общей популяции, снижая качество жизни и реабилитации. В статье описаны варианты психических расстройств у пациентов с различной онкопатологией (рак легких, желудка, кишечника). В группу исследования вошло 70 человек. Обследование пациентов проводилось с помощью шкалы депрессии Гамильтона (HDRS-21) и клинического метода. Распределение симптомов депрессии при различной психопатологии было следующим: у пациентов с аффективными расстройствами мы наблюдали 18,3 ± 2,1 балла, у пациентов с невротическими и связанными со стрессом расстройствами – 12 ± 2,1 балла, расстройства личности и органические – 5 ± 2,1 и 8 ± 2,1 балла соответственно. В статье обсуждается психотерапевтическая тактика ведения пациентов.

Ключевые слова: психоонкология, психотерапия, психопатология, депрессивные расстройства, рак легкого, рак кишечника, рак желудка.

BORDERLINE MENTAL DISORDERS IN CANCER PRACTICE

E.S. Gural

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

Abstract

Mental disorders in patients with cancer, are more common than in the general population, reducing the quality of life and exercise. rehabilitation. The article describes the options for mental disorders in patients

with various oncological pathologies (lung, stomach, and intestine cancer). The study group included 70 people. Patients were examined using the Hamilton Depression Scale (HDRS-21) and the clinical method. The distribution of symptoms of depression with various psychopathologies was as follows: in patients with affective disorders, we observed 18.3 ± 2.1 points in patients with neurotic and stress-related disorders 12 ± 2.1 points, personality disorders and organic 5 ± 2.1 and 8 ± 2.1 points, respectively. The article discusses the psychotherapeutic tactics of patient management.

Key words: psycho-oncology, psychotherapy, psychopathology, depressive disorders, lung cancer, intestinal cancer, stomach cancer.

Актуальность

По данным экспертов Международного агентства по изучению рака, в 2018 г. в мире зарегистрировано 18,1 млн новых случаев онкологических заболеваний и 9,6 млн случаев смерти от рака, при этом рак лёгких, желудка и кишечника занимает лидирующие позиции [1]. В Российской Федерации наблюдаются те же тенденции. Так, в 2017 г. была выявлена 541 тыс. новых пациентов со злокачественными опухолями [2]. В Сибирском и Дальневосточном федеральных округах также наблюдается рост заболеваемости, кроме того, выявляется снижение среднего возраста впервые заболевших ЗНО, особенно в женской популяции, и увеличение прироста заболеваемости среди женского населения в большей степени, чем среди мужского [3]. Онкологические заболевания коморбидны с пограничными психическими расстройствами, при этом пациенты с коморбидными психическими расстройствами получают помощь специалиста в области психического здоровья позже, чем пациенты без онкологического диагноза [4]. В РФ и за рубежом активно обсуждаются программы реабилитации онкологических больных, в том числе психотерапевтическая реабилитация, однако в настоящее время у нас нет определённых стандартов для лечения пограничных психических расстройств в онкологической практике. Первым звеном психотерапевтической помощи для онкологических пациентов являются врачи-онкологи. Хороший эмоциональный контакт, терпение, доброжелательность при оказании медицинской помощи в совокупности с возможностью инструментального лечения снижают уровень стресса, особенно для тревожных пациентов [5]. Достаточно много исследований посвящено изучению психопатологии и психотерапии пациенток с диагнозом рак груди, в то время как психическое здоровье пациентов с диагнозом рак лёгких, кишечника и желудка менее изучено.

Цель исследования – изучить клиничко-психопатологические особенности у пациентов с диагнозом рака определённой локализации (желудка, лёгких и кишечника).

Материал и методы

Нами было обследовано 70 человек (43 мужчины и 26 женщин), страдающих злокачественными новообразованиями определённой локализации (рак лёгких, желудка и кишечника). Возраст пациентов от 28 до 85 лет, средний возраст составил $58,2 \pm 1,5$ года. Распределение по стадиям рака было следующим: у 15 (21,4 %) – IV стадия рака; у 30 (42,8 %) – III стадия; у 23 (32,9 %) – II стадия и только у 2 (4,3 %) человек – I стадия.

В исследование вошли пациенты, готовящиеся к оперативному лечению, находившиеся в торакальном и абдоминальном отделениях НИИ онкологии Томского НИМЦ. Обследование проводилось с помощью клиничко-психопатологического метода и шкалы депрессии Гамильтона (HDRS-21) [6].

Результаты

У обследованных пациентов нами были выявлены следующие психические нозологии: расстройства, связанные со стрессом, невротические, аффективные расстройства, органические расстройства и расстройства личности.

Распределение пациентов в зависимости от локализации онкопатологии представлено в таблице.

По сравнению с хорошо исследованной группой пациентов с раком молочной железы мы почти не наблюдаем пациентов с расстройствами личности, основную группу пациентов составляют аффективные, невротические и связанные со стрессом, а также кардинально отличает нашу группу наличие пациентов с органическими психическими расстройствами. Распределение симптомов депрессии при различной психопатологии у нас получилось следующим: у пациентов с аффективными расстройствами мы наблюдали $18,3 \pm 2,1$ балла, у пациентов с невротическими и связанными со стрессом расстройствами – $12 \pm 2,1$ балла, расстройства личности и органические – $5 \pm 2,1$ и $8 \pm 2,1$ балла соответственно. При сравнении соотношений по другим позициям корреляции незначимы. Полученные данные мы использовали при разработке реабилитационной программы. Терапия пациентов проводилась

в соответствии с выявленной психопатологией. При ведущей депрессивной симптоматике мы назначали антидепрессанты из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина. Коррекция неврологической симптоматики, при необходимости, проводилась неврологом (сосудистая терапия и ноотропы).

Психотерапевтическая тактика строилась на поддерживающей терапии, с учетом жалоб и соответствующей психопатологии. Во время индивидуальной психотерапевтической работы необходимо уделять внимание обсуждению дня пациента, тревожащим событиям, деталям, которые могут казаться незначительными как самому пациенту, так и специалисту, при этом вызывают внутреннее напряжение и подавленность. На этапе установления диагноза и подготовки к оперативному лечению, а также в послеоперационный период пациенты чрезвычайно чувствительны к окружающей обстановке, любая случайность может быть интерпретирована негативно («потеряла браслет – плохой знак», «мой земляк умер – я тоже умру» и т.д.). Пациенты онкологического стационара нуждаются не только в терпеливом, доброжелательном отношении врача-онколога, важно привлечение специалистов в области психического здоровья, социальных работников, волонтеров, психологов. Позитивным, по нашему мнению, является, обучение студентов, на базе отделений, это отвлекает от грустных мыслей и заставляет пациентов почувствовать себя нужными. На фоне терапии мы наблюдали улучшение эмоционального состояния в виде уменьшения психологического напряжения, снижения страхов и тревоги.

Вывод

Таким образом, при злокачественных новообразованиях определённой локализации (лёгкие, желудок, кишечник) у пациентов встречаются следующие психические расстройства: невротические и связанные со стрессом, аффективные, органические психические расстройства и расстройства личности, своевременная коррекция которых способствует увеличению приверженности к лечению, нормализации настроения и снижению тревоги.

Таблица

Психические расстройства у пациентов с различной онкологической патологией

Нозология	Рак желудка (абс./%)	Рак легких (абс./%)	Рак кишечника (абс./%)	Всего (абс./%)
Невротические и связанные со стрессом	9 (47,4)	4 (23,5)	12 (12)	25 (25)
Аффективные расстройства	7 (36,8)	3 (17,7)	5 (14,7)	15 (21,4)
Органические психические расстройства	2 (10,5)	5 (29,4)	6 (17,6)	13 (18,6)
Расстройства личности	0 (0)	0 (0)	4 (11,8)	4 (2,8)
Без психических расстройств	1 (5,3)	5 (29,4)	7 (20,6)	13 (18,6)
Всего	19 (100)	17 (100)	34 (100)	70 (100)

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I., Mathers C., Parkin D.M., Píceros M., Znaor A., Bray F. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer*. 2019 Apr 15; 144(8): 1941–1953. doi: 10.1002/ijc.31937.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена. 2018. 250 с.
3. Жуйкова Л.Д., Чойнзонов Е.Л., Ананина О.А., Одинцова И.Н. Онкологическая заболеваемость в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах. *Сибирский онкологический журнал*. 2019; 18(6): 5–11. doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-6-5-11.
4. Nakash O., Levav I., Aguilar-Gaxiola S., Alonso J., Andrade L.H., Angermeyer M.C., Bruffaerts R., Caldas-de-Almeida J.M., Florescu S., de Girolamo G., Gureje O., He Y., Hu C., de Jonge P., Karam E.G., Kovess-Masfety V., Medina-Mora M.E., Moskalewicz J., Murphy S., Nakamura Y., Piazza M., Posada-Villa J., Stein D.J., Taib N.I., Zarkov Z., Kessler R.C., Scott K.M. Comorbidity of common mental disorders with cancer and their treatment gap: findings from the World Mental Health Surveys. *Psychooncology*. 2014 Jan; 23(1): 40–51. doi: 10.1002/pon.3372.
5. Salmon P., Young B. The inseparability of emotional and instrumental care in cancer: Towards a more powerful science of clinical communication. *Patient Educ. Couns*. 2017; 100(11): 2138–2140.
6. Hamilton M. A rating scale for depression. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. 1960; 23(1): 56–62.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА У БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Д.С. Долгашева¹, М.К. Ибрагимова², Е.О. Родионов², А.М. Певзнер^{1,2},
К.А. Гаптулбарова^{1,2}, Е.В. Кокорина^{1,2}, М.М. Цыганов²

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Россия¹
Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

В настоящее время к основным причинам возникновения рака легкого относят влияние факторов окружающей среды, статус курения, различные молекулярно-генетические факторы и т. д. Реже рассматривается возможная вирусная этиология данной онкопатологии. В последние годы все чаще встречаются публикации, сообщающие о наличии у пациентов с диагнозом рак легкого папилломавирусной инфекции (ВПЧ). Согласно литературным данным, частота встречаемости вируса в тканях рака легкого варьирует достаточно широко: от полного отсутствия вируса до более 75 %, при этом важно отметить, что на российской популяции не было получено данных о наличии ВПЧ у больных раком легкого. Таким образом, **целью работы** явилось исследование наличия вируса папилломы человека у больных немелкоклеточным раком легкого. Всего в исследование было включено 48 больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) IIA – IIIB стадии. Пациентам проводилась операция в объеме пневмонэктомии или лобэктомии. После хирургического вмешательства больные прошли 3 курса адъювантной химиотерапии. Была проведена оценка частоты встречаемости ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) в нормальной ткани легкого, бронхов и опухолевой ткани легкого. В результате проведенного исследования было установлено, что инфицированность ВПЧ ВКР в изучаемой выборке составила 17 %. Генотипирование ВПЧ-позитивных образцов показало, что у 75 % пациентов (6/8) наблюдалось моно-инфицирование ВПЧ 16 генотипа, а в 25 % случаев (2/8) отмечалась микст-инфекция ВПЧ – одновременное присутствие 16 и 18 генотипов данного вируса.

Ключевые слова: ВПЧ, вирус папилломы человека, рак легкого, немелкоклеточный рак, канцерогенез, папилломавирусная инфекция.

HUMAN PAPILLOMAVIRUS IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER

D.S. Dolgasheva¹, M.K. Ibragimova², E.O. Rodionov², A.M. Pevzner^{1,2},
K.A. Gaptulbarova^{1,2}, E.V. Kokorina^{1,2}, M.M. Tsyganov²

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia¹
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

Today, the main causes of lung cancer include the influence of environmental factors, smoking status, various molecular genetic factors, etc. In recent years, there are more and more studies reporting the presence of papillomavirus infection (HPV) in patients diagnosed with lung cancer. According to literature data, the frequency of the virus in lung cancer tissues varies from complete absence of the virus to more than 75 %. It is important to note that no data on the presence of HPV in lung cancer patients have been obtained in the Russian population. Thus, the purpose of this work was to investigate the presence of human papilloma virus in patients with non-small cell lung cancer. A total of 48 patients with non-small cell lung cancer of IIA–IIIB stage were included in the study. Patients underwent pneumonectomy or lobectomy. Surgery was followed by 3 courses of adjuvant chemotherapy. The incidence of high carcinogenic risk HPV (HCR) in normal lung tissue, bronchi and lung tumor has been assessed. The study found that the HPV infection rate of high carcinogenic risk in the sample under study was 17 %. Genotyping of HPV-positive samples showed that 75 % of patients (6/8) had a monotype 16 HPV infection. And in 25 % of cases (2/8) there was HPV mixt-infection – simultaneous presence of 16 and 18 genotypes of this virus.

Key words: HPV, human papillomavirus, lung cancer, non-small cell cancer, carcinogenesis, papillomavirus infection.

Введение

Рак легкого (РЛ) – наиболее распространенное в мировой популяции злокачественное новообразование. В структуре онкологической заболеваемости РЛ занимает первое место [1]. Основным этиологическим фактором канцерогенеза легкого является статус курения. На него приходится приблизительно 75–80 % случаев смертей, вызванных раком легкого. Долгое время считалось, что именно курение является основной причиной развития данного заболевания. Однако существует большое количество исследований, сообщающих о возникновении рака легкого у некурящих пациентов [2]. Помимо курения, существуют и другие факторы риска развития рака легкого, в частности молекулярно-генетические. Установлено, что несколько генов (гены ацетилхолиновых рецепторов никотина – *CHRNA5*, *CHRNA3*, *CHRNA4*), которые, взаимодействуя с никотином, могут активироваться и приводить к инициации канцерогенеза [3]. Также при раке легкого наблюдается гиперметилирование промоторов различных генов, связанных с важными функциями, включая контроль клеточного цикла, пролиферацию, апоптоз, клеточную адгезию, репарацию ДНК [4]. В двух недавних метаанализах было показано, что микроРНК, в частности miR-196a и miR-200b, значительно гиперэкспрессируются при раке легкого [5].

В последние годы все чаще встречаются исследования, сообщающие о наличии у пациентов с РЛ папилломавирусной инфекции (ВПЧ). Еще в 1979 г. было опубликовано исследование, автор которого впервые предположил связь ВПЧ с раком легкого [6]. Им были обнаружены в бронхах у пациента плоскоклеточные образования, морфологически сходные с генитальными кондиломами, на основании этого K.J. Syrjänen высказал гипотезу, что ВПЧ может быть связана с развитием рака легкого. Согласно литературным данным, частота присутствия вируса в опухолевых тканях легкого достаточно широко варьирует: от полного отсутствия вируса до 75 % и более, с преимущественным наличием 16 и 18 типов вируса [7]. Тем не менее вопрос о роли ВПЧ в развитии рака легкого пока остается открытым. Таким образом, целью настоящей работы явилась оценка частоты встречаемости вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска в опухолевых тканях легкого.

Материал и методы

В исследование включены 48 больных НМРЛ IIА–IIВ стадии, центральной и периферической локализации с морфологически верифицированным диагнозом, находившихся на лечении в клинике НИИ онкологии Томского НИМЦ. Пациентам проводилась операция в объеме пневмонэктомии или лобэктомии. После хирургического вмешательства больным проведено 3 курса адъювантной химиотерапии по схеме: винорелбин-карбоплатин.

В качестве исследуемого материала был использован операционный материал нормальной ткани легкого, нормальной ткани бронхов и опухолевой ткани (~60–70 мм³) после операции, который помещали в раствор RNeasy (Qiagen, Germany). После 24-часовой инкубации при +4 °C образцы биоматериала сохраняли при температуре –80 °C для дальнейшего выделения ДНК. ДНК выделяли из трех образцов, полученных от каждого пациента с помощью набора QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). Выявление и генотипирование ДНК ВПЧ проводили методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на приборе RotorGene 6000 («Corbett Research», Australia) с использованием комплектов реагентов фирмы «Amplisens®» («АмплиСенс® HPV ВКР скрин-титр-FL», кат# R-V31-T-4x (RG,iQ,Mx); «АмплиСенс® HPV ВКР генотип-FL», кат# R-V25(RG,iQ,Mx)) (Москва, Россия). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8.0» (StatSoft Inc., USA). Для проверки гипотезы о значимости различий между исследуемыми группами использовали критерий Вилкоксона – Манна – Уитни. Сравнение частот по качественным данным анализировали при помощи двухстороннего критерия Фишера.

Результаты

Согласно результатам настоящего исследования, инфицированность ВПЧ ВКР в изучаемой выборке составила 17 % (8/48). Полученные результаты полностью согласуются с многочисленными литературными данными, согласно которым частота встречаемости вируса папилломы человека, в зависимости от количества обследованных пациентов, колеблется в широких пределах: от полного отсутствия вируса в опухоли до инфицированности более чем в 75 % случаев [7]. Генотипирование ВПЧ-позитивных образцов показало, что у 75 % пациентов (6/8) наблюдалось моно-инфицирование ВПЧ 16 генотипа, а в 25 % случаев (2/8) отмечалась микст-инфекция ВПЧ – одновременное присутствие 16 и 18 генотипов данного вируса. Полученные данные также соответствуют литературным показателям, согласно ко-

торым в подавляющем большинстве случаев определяют наличие 16 и 18 типов вируса [7]. При этом показано, что в некоторых случаях были также определены 6 и 11 типы ВПЧ НКР, которые на настоящий момент чаще всего обнаруживаются при папилломатозах различной локализации и в опухолях области головы и шеи [8].

Важно отметить, что во многих исследованиях отмечены более высокие показатели безрецидивной и общей выживаемости ВПЧ-положительных пациентов по сравнению с ВПЧ-негативными. Примечательно, что в ходе анализа результатов настоящего исследования выявлена следующая особенность: в группе ВПЧ-положительных пациентов с РЛ выявлена 100 % безрецидивная и общая выживаемость, что статистически значимо превышает аналогичные показатели у пациентов с ВПЧ-негативным раком легкого (log-rank test, $p < 0,005$).

Выводы

Впервые на российской популяции была исследована частота встречаемости ВПЧ ВКР у больных раком легкого. Полученные результаты указывают на важность и перспективность проведения более подробного исследования в этом направлении.

Работа поддержана грантом РФФИ 20-015-00023 А «Исследование роли вируса папилломы человека (ВПЧ) в канцерогенезе немелкоклеточного рака легкого»

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2019. 250 с.
2. Yang Y., Xie Y., Xian L. Breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1) predict clinical outcome in platinum-and taxol-based chemotherapy in non-small-cell lung cancer (NSCLC) patients: a system review and meta-analysis. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2013; 32(1): 1–9. doi: 10.1186/1756-9966-32-15.
3. Hung R.J., McKay J. D., Gaborieau, V. A susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25. Nature. 2008 Apr 3; 452(7187): 633–7. doi: 10.1038/nature06885.
4. Herceg Z., Vaissiere T. Epigenetic mechanisms and cancer: an interface between the environment and the genome. Epigenetics. 2011 Jul; 6(7): 804–19. doi: 10.4161/epi.6.7.16262.
5. Vosa U., Vooder T., Kolde R., Vilo J., Metspalu A., Annilo T. Meta-analysis of microRNA expression in lung cancer. Int J Cancer. 2013 Jun 15; 132(12): 2884–93. doi: 10.1002/ijc.27981.
6. Syrjänen K.J. Condylomatous changes in neoplastic bronchial epithelium. Respiration. 1979; 38(5): 299–304. doi: 10.1159/000194095.
7. Tsyganov M., Pevzner A., Ibragimova M., Deryusheva I., Litviakov N. Human papillomavirus and lung cancer: an overview and a meta-analysis. J Cancer Res Clin Oncol. 2019 Aug; 145(8): 1919–1937. doi: 10.1007/s00432-019-02960-w.
8. Певзнер А.М., Цыганов М.М., Ибрагимова М.К., Литвяков Н.В. Вирус папилломы человека и злокачественные новообразования головы и шеи (обзор литературы). Опухоли головы и шеи. 2019; 9(2): 43–51.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОТОКОЛА УСКОРЕННОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ В КОЛОРЕКТАЛЬНОЙ ХИРУРГИИ У ПОЖИЛЫХ ПАЦИЕНТОВ

Е.С. Дроздов, Д.Н. Костромицкий, М.Ю. Грищенко

ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия

Аннотация

Актуальность. В настоящее время программы ускоренной реабилитации получают все более широкое внедрение у пациентов с колоректальным раком, перенесших оперативные вмешательства. Однако вопрос о возможности применения данных программ у пожилых пациентов остается спорным и не вполне изученным. **Цель исследования** – оценка результатов внедрения протоколов ускоренной реабилитации в колоректальной хирургии у пожилых пациентов на опыте одного центра. **Материал и методы.** В исследование включено 100 пациентов старше 70 лет с верифицированным колоректальным раком (50 пациентов (контрольная группа) – стандартное периоперационное ведение, 50 пациентов (основная группа) – периоперационное ведение по протоколам ускоренной реабилитации). **Результаты.** Пациенты в анализируемых группах были сопоставимы по полу, возрасту, индексу массы тела, стадии опухолевого процесса, а также вариантам оперативных вмешательств. Частота и тяжесть послеоперационных осложнений в основной группе были статистически ниже. Восстановление функции ЖКТ достоверно быстрее проходило в основной группе по сравнению с контрольной группой ($p = 0,04$), также в основной группе наблюдалось статистически значимое уменьшение длительности послеоперационного койко-дня (6 против 11 дней соответственно, $p < 0,001$). **Выводы.** Внедрение протоколов ускоренной реабилитации у пожилых пациентов с колоректальным раком, перенесших оперативные вмешательства, является безопасным и позволяет уменьшить тяжесть послеоперационных осложне-

ний, ускорить восстановление функции желудочно-кишечного тракта, а также сократить длительность послеоперационной госпитализации

Ключевые слова: колоректальная хирургия, рак ободочной кишки, рак прямой кишки, ускоренное восстановление после операции.

THE RESULTS OF THE APPLICATION OF THE ACCELERATED REHABILITATION PROTOCOL IN COLORECTAL SURGERY IN ELDERLY PATIENTS

E.S. Drozdov, D.N. Kostromickij, M.Yu. Grishchenko

Tomsk Regional Oncology Hospital, Tomsk, Russia

Abstract

Relevance. At present, accelerated rehabilitation programs are gaining wider adoption in patients with colorectal cancer who have undergone surgical interventions. However, the question of the possibility of using these programs in elderly patients remains controversial and not fully understood. **Purpose of the study.** Evaluation of the results of the implementation of accelerated rehabilitation protocols in colorectal surgery in elderly patients on the experience of one center. **Material and Methods.** The study included 100 patients over 70 years old with verified colorectal cancer (50 patients, control group – standard perioperative management, 50 patients, the main group – perioperative management according to accelerated rehabilitation protocols). **Results.** Patients in the analyzed groups were comparable by sex, age, body mass index, stage of the tumor process, as well as options for surgical interventions. The frequency and severity of postoperative complications in the main group was statistically lower. Recovery of the gastrointestinal tract function was significantly faster in the main group compared with the control group ($p = 0.04$), and a statistically significant decrease in the duration of the postoperative hospital stay was observed in the main group (6 versus 11 days, respectively, $p < 0.001$). **Conclusions.** The introduction of accelerated rehabilitation protocols in elderly patients with colorectal cancer after surgery is safe and can reduce the severity of postoperative complications, accelerate the restoration of gastrointestinal function, and shorten the duration of postoperative hospitalization.

Key words: colorectal surgery, colon cancer, colorectal cancer, accelerated recovery after surgery.

Актуальность

Программы ускоренной реабилитации после операции (ERAS) – стандартизированные, мультимодальные, мультидисциплинарные – объединяют применение различных принципов доказательной медицины в периоперационном периоде, направленных на оптимальное восстановление пациента после оперативного вмешательства. Их главная цель – облегчение и ускорение выздоровления больных [1]. Анализ результатов внедрения программ ERAS в колоректальной хирургии по сравнению с традиционным периоперационным ведением пациентов показал снижение частоты послеоперационных осложнений, а также сокращение продолжительности пребывания в стационаре [2, 3]. Некоторые из исследований продемонстрировали возможность применения протоколов ERAS у пожилых пациентов (>70 лет), тем не менее вопрос о применении данных программ у пожилых пациентов при операциях по поводу колоректального рака остается спорным и не вполне изученным [4, 5].

Цель исследования – оценка результатов внедрения протоколов ускоренной реабилитации в колоректальной хирургии у пожилых пациентов на опыте одного центра.

Материал и методы

Проведено ретроспективно-проспективное, одноцентровое исследование. В исследование включено 100 пациентов старше 70 лет с верифицированным колоректальным раком. Пациенты были разделены на две группы. В контрольную группу вошли 50 пациентов, периоперационное ведение которых проводилось по стандартной методике. Больные в эту группу были отобраны ретроспективно. Основную группу составили 50 пациентов, периоперационное ведение которых осуществлялось по протоколу ускоренной реабилитации. Всем пациентам, включенным в исследование, проводилось хирургическое лечение. Пациентов госпитализировали в плановом порядке, после прохождения комплексного обследования на амбулаторном этапе. Тяжесть послеоперационных осложнений оценивали по классификации Clavien – Dindo [6]. Осложнения I–II степени расценивали как малые, III–IV степени – как

большие. Анестезиологический риск оценивали по классификации Американского общества анестезиологов (ASA) [7].

Применяемый нами периоперационный протокол ускоренной реабилитации основан на опыте клиники и рекомендациях общества ERAS [8].

Результаты

Пациенты в анализируемых группах были сопоставимы по полу, возрасту, индексу массы тела, стадии опухолевого процесса, а также вариантам оперативных вмешательств (табл. 1).

В таблице 2 представлены основные послеоперационные результаты. При анализе послеоперационных результатов обнаружено статистически значимое снижение частоты и тяжести послеоперационных осложнений в сравниваемых группах. Послеоперационная летальность была сопоставимой в обеих группах. Восстановление функции ЖКТ достоверно быстрее проходило в основной группе по сравнению с контрольной группой ($p=0,04$), также в основной группе наблюдалось статистически значимое уменьшение длительности послеоперационного койко-дня (6 против 11 дней соответственно, $p<0,001$).

Выводы

Внедрение протоколов ускоренной реабилитации у пожилых пациентов с колоректальным раком, перенесших оперативные вмешательства, является безопасным и позволяет уменьшить тяжесть послеоперационных осложнений, ускорить восстановление функции желудочно-кишечного тракта, а также сократить сроки послеоперационной госпитализации.

Таблица 1

Характеристика пациентов, включенных в исследование

	Основная группа (n=50)	Контрольная группа (n=50)	p
Возраст, лет	78,7 ± 5	79 ± 5	0,7
Пол: мужчины/женщины	32/18	27/23	0,6
Индекс массы тела кг/м ² , медиана, (мин – макс)	27,2 (18,3–38,3)	26,5 (17,8–36,9)	0,6
Стадия заболевания			
I стадия	5 (10 %)	6 (12 %)	0,6
II стадия	23 (46 %)	24 (48 %)	
III стадия	22 (44 %)	20 (40 %)	
Оперативные вмешательства			
- правосторонняя гемиколэктомия	21 (42 %)	19 (38 %)	0,8
- левосторонняя гемиколэктомия	4 (8 %)	5 (10 %)	
- резекция сигмовидной кишки	15 (30 %)	16 (32 %)	
- передняя резекция прямой кишки	10 (20 %)	10 (20 %)	
Лапароскопические вмешательства	30 (60 %)	31 (62 %)	0,9

Таблица 2

Послеоперационные результаты, осложнения

	Основная группа (n=50)	Контрольная группа (n=50)	p
Осложнения			0,02
- без осложнений	29 (58 %)	32 (64 %)	
Степень тяжести (по Clavien–Dindo)			
- I, II	16 (32 %)	11 (22 %)	
- III, IV	10 (20 %)	12 (24 %)	
Летальность	1 (2 %)	2 (6 %)	0,4
Восстановление функции ЖКТ, сут, медиана	2	4	0,04
Послеоперационный койко-день, медиана	6	11	<0,001

ЛИТЕРАТУРА

1. Ljungqvist O., Scott M., Fearon K.C. Enhanced recovery after surgery: a review. JAMA surgery. 2017; 152(3): 292–298.
2. Adamina M., Kehlet H., Tomlinson G.A., Senagore A.J., Delaney C.P. Enhanced recovery pathways optimize health outcomes and resource utilization: a meta-analysis of randomized controlled trials in colorectal surgery. Surgery; 2011; 149(6): 830–840.
3. Greco M., Capretti G., Beretta L., Gemma M., Pecorelli N., Braga M. Enhanced recovery program in colorectal surgery: a meta-analysis of randomized controlled trials. World journal of surgery. 2014; 38(6): 1531–1541.
4. Pawa N., Cathcart P.L., Arulampalam T.H., Tutton M.G., Motson R.W. Enhanced recovery program following colorectal resection in the elderly patient. World journal of surgery. 2012; 36(2): 415–423.

5. Bagnall N. M., Malietzis G., Kennedy R.H., Athanasiou T., Faiz O. A systematic review of enhanced recovery care after colorectal surgery in elderly patients. *Colorectal Disease*. 2014; 16(12): 947–956.

6. Dindo D., Demartines N., Clavien P.A. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Annals of surgery*. 2004; 240(2): 205–213.

7. Daabiss M. American Society of Anaesthesiologists physical status classification. *Indian journal of anaesthesia*. 2011; 55(2): 111–115.

8. Gustafsson U.O., Scott M.J., Hubner M., Nygren J., Demartines N., Francis N., Rockall T.A., Young-Fadok T.M., Hill A.G., Soop M., de Boer H.D., Urman R.D., Chang G.J., Fichera A., Kessler H., Grass F., Whang E.E., Fawcett W.J., Carli F., Lobo D.N., Rollins K.E., Balfour A., Baldini G., Riedel B., Ljungqvist O. Guidelines for perioperative care in elective colorectal surgery: Enhanced Recovery After Surgery (ERAS®) society recommendations: 2018. *World journal of surgery*. 2019; 43(3): 659–695.

TGFβ-СВЯЗАННЫЕ БЕЛКИ КАК ФАКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ТАМОКСИФЕНОМ У БОЛЬНЫХ РЕЦЕПТОР-ПОЗИТИВНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С РАЗНЫМ ФЕНОТИПОМ HER2

Т.А. Дронова^{1,2}, С.В. Паталяк¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Проблема развития резистентности к гормональной терапии рака молочной железы (РМЖ) остается предметом интенсивных исследований. Одним из актуальных направлений в этой связи является изучение различных биологических маркеров, участвующих в механизмах регуляции опухолевого роста. **Цель работы** – оценить особенности TGFβ-связанных белков в опухолевой ткани больных люминальным В и люминальным-HER2-позитивным РМЖ и проанализировать их связь с эффективностью гормональной терапии тамоксифеном и показателями безметастатической выживаемости. **Результаты** исследования свидетельствуют, что TGFβ-связанные белки могут вносить вклад в формирование тамоксифен-чувствительного фенотипа в опухолях люминального В типа.

Ключевые слова: рецептор-позитивный рак молочной железы, HER2 статус, адъювантная гормонотерапия, тамоксифен, трансформирующий фактор роста β.

TGFβ-RELATED PROTEINS AS FACTORS FOR TAMOXIFEN EFFICACY IN PATIENTS WITH RECEPTOR-POSITIVE BREAST CANCER WITH DIFFERENT HER2 PHENOTYPE

Т.А. Dronova^{1,2}, S.V. Patalyak¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Tomsk State University, Russia, Tomsk²

Abstract

Resistance to hormone therapy remains a major problem in the treatment of receptor-positive breast cancer patients. In this regard, the study of various biological markers involved in the mechanisms of tumor growth regulation is very important. The aim of the study was to evaluate the features of TGFβ-related proteins in the tumor tissue of patients with luminal B as well as with receptor-positive HER2-positive breast cancer and to analyze their relationship with the tamoxifen efficacy and survival rates. Our data suggest that the TGFβ-related proteins can contribute to tamoxifen-sensitive phenotype in the luminal B tumors.

Key words: receptor-positive breast cancer, HER2 status, adjuvant hormone therapy, tamoxifen, transforming growth factor β.

Актуальность

Рецептор-позитивные опухоли молочной железы составляют до 75 % всего РМЖ, в настоящее время их принято классифицировать на люминальный А, люминальный В и люминальный HER2-позитивный подтипы [1]. Несмотря на наличие основной мишени для действия гормональных препаратов, люминальный В и люминальный HER2-позитивный молекулярные варианты РМЖ крайне гетерогенны и не всегда чувствительны к данной терапии [2]. Механизмы формирования гормональной резистентности затрагивают фундаментальные характеристики опухолевых клеток и связаны с изменением активности многочисленных сигнальных каскадов, в том числе непосредственно и опосредованно активируемых белками семейства трансформирующего фактора роста β (TGF β). Однако, несмотря на фундаментальную значимость TGF β сигнального пути в процессах опухолевого роста и прогрессирования [3], вклад TGF β -связанных белков как потенциальных биологических факторов в механизмы лекарственной резистентности недостаточно изучен.

Цель исследования – оценить особенности TGF β -связанных белков в опухолевой ткани больных люминальным В и люминальным HER2-позитивным РМЖ и проанализировать их связь с эффективностью гормональной терапии тамоксифеном и показателями безметастатической выживаемости.

Материал и методы

В исследование включены 60 больных с операбельным раком молочной железы, T1–4N0–3M0, получавших лечение в отделении общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2002 по 2016 г. Все пациентки получали комбинированное лечение с последующей адъювантной гормональной терапией тамоксифеном (20 мг/сут). Исследование проведено в двух группах больных РМЖ – люминальный В (ER+/HER2-) и люминальный HER2-позитивный (ER+/HER2+), которые в зависимости от эффекта тамоксифена (прогрессирование или отсутствие прогрессирования заболевания) были разделены на соответствующие подгруппы.

В образцах опухолевой ткани с использованием ПЦР в режиме реального времени изучены полиморфные варианты генов *ESR1* (rs2228480, rs2077647, rs1801132, rs3798577), *TGF- β 1* (rs334354) и *TGF- β 2* (rs2228048). Для оценки уровня экспрессии mRNA генов *ESR1*, *TGF β 1*, *TGF- β 1* и *TGF- β 2* в парных образцах опухолевой и прилежащей нормальной ткани использован метод ПЦР с обратной транскрипцией. Характер распределения ER α в опухоли определен иммуногистохимически. Уровень экспрессии белков TGF β 1, TGF- β 1 и TGF- β 2 изучен методом проточной цитометрии. Статистическая обработка проведена с использованием "STATISTICA 7.0". Показатели безметастатической выживаемости больных РМЖ проанализированы с использованием кривых Каплана – Майера.

Результаты

Установлено, что мутантные варианты гена *ESR1* rs2077647 ассоциированы с люминальным HER2-позитивным РМЖ ($p = 0,022$), носительство дикого генотипа *TGF- β 1* rs334354 – с люминальным В РМЖ ($p = 0,023$).

Анализ исследуемых факторов в зависимости от эффективности тамоксифена показал высокий уровень транскрипционной активности гена *ESR1* в опухолях люминального В подтипа у больных без прогрессирования заболевания по сравнению с пациентками с прогрессированием опухолевого процесса ($p = 0,046$). Кроме того, у больных без прогрессирования с люминальным В вариантом РМЖ выявлен высокий уровень экспрессии TGF- β 1 в опухоли ($p = 0,021$). Для данной подгруппы опухолей отмечен высокий процент гомогенного характера распределения ER α по сравнению с опухолями люминального В подтипа у больных с прогрессированием ($p = 0,011$).

Анализ безметастатической выживаемости в зависимости от исследуемых TGF β -связанных белков выявил взаимосвязи только с содержанием TGF- β 1 в опухолевой ткани. Показано, что безметастатическая выживаемость была значительно выше у больных люминальным В РМЖ с высоким уровнем экспрессии TGF- β 1 ($p = 0,010$).

Таким образом, TGF β -связанные белки, а именно TGF- β 1, могут рассматриваться в качестве потенциальных факторов, вовлеченных в механизмы чувствительности к тамоксифену, преимущественно в опухолях люминального В РМЖ. Возможная взаимосвязь TGF β -связанных белков с развитием тамоксифен-резистентного фенотипа люминальных HER2-позитивных опухолей требует дальнейшего изучения.

Выводы

Результаты исследования свидетельствуют о том, что полиморфные варианты гена *TGF- β 1* rs334354 и его белковые продукты могут являться потенциальными факторами устойчивости к тамоксифену и маркерами благоприятного исхода заболевания у больных люминальным В РМЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-29-06037 офи м «Геномные механизмы регуляции опухолевой прогрессии рака молочной железы в условиях лекарственной терапии»

ЛИТЕРАТУРА

1. Curigliano G., Burstein H.J., Winer E.P., Gnant M., Dubsky P., Loibl S., Colleoni M., Regan M.M., Piccart-Gebhart M., Senn H.J., Thürlimann B.; St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017, André F., Baselga J., Bergh J., Bonnefoi H., Brucker S.Y., Cardoso F., Carey L., Ciruelos E., Cuzick J., Denkert C., Di Leo A., Ejlersen B., Francis P., Galimberti V., Garber J., Gulluoglu B., Goodwin P., Harbeck N., Hayes D.F., Huang C.S., Huober J., Hussein K., Jassem J., Jiang Z., Karlsson P., Morrow M., Orecchia R., Osborne K.C., Pagani O., Partridge A.H., Pritchard K., Ro J., Rutgers E.J.T., Sedlmayer F., Semiglazov V., Shao Z., Smith I., Toi M., Tutt A., Viale G., Watanabe T., Whelan T.J., Xu B. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the primary therapy of early breast cancer 2017. *Ann Oncol.* 2017; 8: 1700–1712.
2. Burstein H.J., Curigliano G., Loibl S., Dubsky P., Gnant M., Poortmans P., Colleoni M., Carsten D., Piccart-Gebhart M., Regan M., Senn H.-J., Winer E.P., Thürlimann B. Estimating the benefits of therapy for early stage breast cancer the St Gallen International Consensus Guidelines for the primary therapy of early breast cancer 2019. *Ann Oncol.* 2019; 30(10): 1541–1557.
3. Yeh H.W., Lee S.S., Chang C.Y., Lang Y.D., Jou Y.S. A new switch for TGFβ in cancer. *Cancer Res.* 2019; 79(15): 1700–1712.

ОДНОФОТОННАЯ ЭМИССИОННАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ С ^{99m}Tc-1-Тео-Д-Глюкозой В ДИАГНОСТИКЕ И МОНИТОРИНГЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ ЛИМФОМ

Е.А. Дудникова, А.В. Данилова, Н.М. Гончарова

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

Аннотация

Цель работы – оценка возможности использования однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) с новым радиофармпрепаратом (РФП) ^{99m}Tc-1-тио-Д-глюкоза (^{99m}Tc-ТГ) для диагностики и оценки результатов лечения злокачественных лимфопролиферативных заболеваний. Исследование показало, что ОФЭКТ с ^{99m}Tc-ТГ может успешно применяться в качестве дополнительного метода обследования пациентов со злокачественными лимфомами для диагностики, стадирования и мониторинга результатов терапии.

Ключевые слова: лимфомы, лимфома Ходжкина, неходжкинские лимфомы, однофотонная эмиссионная компьютерная томография, ^{99m}Tc-1-тио-Д-глюкоза.

SINGLE-PHOTON EMISSION COMPUTERIZED TOMOGRAPHY WITH ^{99m}Tc-1-thio-D-glucose IN THE DIAGNOSIS AND TREATMENT MONITORING OF LYMPHOMAS

E.A. Dudnikova, N.M. Goncharova, A.V. Danilova

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

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the feasibility of ^{99m}Tc-TG SPECT using in the detection and treatment monitoring of malignant lymphoma. The results had showed that ^{99m}Tc-TG SPECT can be useful for visualization, staging and treatment monitoring of malignant lymphoma.

Key words: lymphomas, Hodgkin's lymphoma, non-Hodgkin's lymphomas, single-photon emission computed tomography, ^{99m}Tc-1-thio-D-glucose.

Актуальность

Методы ядерной медицины широко используются в диагностике и лечении неврологических, кардиологических и онкологических заболеваний [1–9]. На данный момент ПЭТ

с ^{18}F -ФДГ входит в стандарты диагностики, стадирования и мониторинга лечения лимфом [10, 11]. Однако применение этого высокоинформативного метода в Российской Федерации ограничено недостаточной оснащенностью регионов ПЭТ центрами. Перспективным радиофармпрепаратом (РФП) для визуализации злокачественных новообразований является $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -1-тио-D-глюкоза ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ). Применение данного РФП возможно на обычном ОФЭКТ томографе. Томским НИМЦ совместно с Томским политехническим университетом в рамках ФЦП «Фарма-2020» разработан метод получения и анализа $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ [12–14]. Показано, что $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ не обладает токсичностью, кумулятивностью, аллергизирующими свойствами [15]. Доказано, что $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ характеризуется высокой аккумуляцией в опухолевых клетках *in vivo* и *in vitro* [16–19], а также позволяет визуализировать рак молочной железы [20] и стадировать лимфомы [21].

Цель исследования – оценка возможности применения ОФЭКТ с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ в диагностике и мониторинге результатов лечения лимфопролиферативных заболеваний.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 40 пациентов (средний возраст 46 ± 16 , от 22 до 82 лет) с впервые диагностированными лимфомами (21 пациент с лимфомой Ходжкина, 16 пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой, 2 пациента с фолликулярной лимфомой и 1 пациент с лимфомой из В-клеток маргинальной зоны), ранее не получавших противоопухолевого лечения. У 12 пациентов установлена IIА стадия, у 3 – IIВ стадия, у 2 – IIЕ стадия, у 6 – IIIА стадия, у 2 – IIIВ стадия, у 9 – IVА стадия, у 6 – IVВ стадия. Сцинтиграфическое исследование выполняли на гамма-камере Е.САМ 180 фирмы «Siemens» (Германия) через 4 ч после внутривенного введения $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ в режиме «2 bed». У 25 пациентов ОФЭКТ проводили трижды: до начала лечения, через 2 курса химиотерапии и после окончания лечения.

Результаты

По результатам ОФЭКТ с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ патологическое включение РФП в лимфатические узлы наблюдалось у 38 (95 %) из 40 пациентов. Чаще всего патологическое накопление $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ было выявлено в аксиллярных, над-, подключичных и шейных лимфатических узлах. Экстранодальные поражения по результатам стандартных методов исследования выявлены у 23 пациентов. При помощи ОФЭКТ с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ экстралимфатические гиперметаболические очаги визуализировались у 17 (74 %) из них. По результатам ОФЭКТ у 4 пациентов были выявлены гиперметаболические очаги, которые не диагностировались при КТ. По результатам проведенного исследования в 3 случаях было выявлено повышенное накопление $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ в желчном пузыре, связанное с хроническим холециститом, что говорит о необходимости анализа всех клинических данных при обработке результатов ОФЭКТ с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ.

Сцинтиграфическая оценка результатов лечения показала, что полный метаболический ответ на два курса химиотерапии наблюдался у 17 пациентов (68 %). У 16 (94 %) из них эффект сохранялся после завершения лечения. При этом полный метаболический ответ на лечение удалось достигнуть лишь у 7 (54 %) пациентов с наличием патологической гиперфиксации $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ после 2 курсов химиотерапии.

Заключение

ОФЭКТ с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ТГ может успешно применяться в качестве дополнительного метода обследования пациентов со злокачественными лимфомами для диагностики, стадирования и мониторинга результатов терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ефимова Н.Ю., Чернов В.И., Ефимова И.Ю., Афанасьева Н.Л., Лишманов Ю.Б. Когнитивные дисфункции и состояние мозгового кровообращения у больных артериальной гипертензией: возможности медикаментозной коррекции. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2008; 11(108): 10–15.
2. Чернов В.И., Зельчан Р.В., Тицкая А.А., Синилкин И.Г., Чижевская С.Ю., Суркова П.В., Чойнзонов Е.Л. Применение гамма-сцинтиграфии с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -технетрилом в комплексной диагностике и оценке эффективности неадьювантной химиотерапии злокачественных опухолей гортани и гортаноглотки. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2011; 2(56): 38–43.
3. Лишманов Ю.Б., Чернов В.И., Кривоногов Н.Г., Ефимова И.Ю., Веснина Ж.В., Завадовский К.В., Минин С.М., Сазонова С.И., Скуридин В.С., Панькова А.Н., Саушкин В.В., Ильющенкова Ю.Н., Ефимова Н.Ю. Радионуклидные методы исследования в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний. Сибирский медицинский журнал (г. Томск). 2010; 41(25): 8–13.
4. Чернов В.И., Гарсанеева А.А., Веснина Ж.В., Лишманов Ю.Б. Перфузионная сцинтиграфия миокарда в оценке результатов курсового лечения триметазидином больных ишемической болезнью сердца. Кардиология. 2001; 8(41): 14–16.
5. Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радионуклидная тераностика злокачественных образований. Вестник рентгенологии и радиологии. 2016; 5(97): 306–313.
6. Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радиоиммунотерапия в лечении злокачественных образований. Сибирский онкологический журнал. 2016; 2(15): 101–106. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-2-101-106.
7. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойнзонов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных новообразований. Бюллетень сибирской медицины. 2018; 1(17): 220–231.
8. Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Чернов В.И. Диагностические радиофармацевтические препараты на основе производных глюкозы в современной онкологической практике. Сибирский онкологический журнал. 2018; 2(17): 71–81. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-2-71-81.

9. Чернов В.И., Брагина О.Д., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Ларькина М.С., Стасюк Е.С., Нестеров Е.А., Скуридин В.С. Меченые аналоги соматостатина в тераностике нейроэндокринных опухолей. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2017; 3(62): 42–49.
10. Новиков С.Н., Гиришвили М.М. Диагностика и стадирование лимфомы Ходжкина. Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2007; 2(8): 65–72.
11. Чернов В.И., Дудникова Е.А., Гольдберг В.Е., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Попова Н.О., Гольдберг А.В. Позитронная эмиссионная томография в диагностике и мониторинге лимфопролиферативных заболеваний. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2018; 6(63): 41–50.
12. Stasyuk E.S., Skuridin V.S., Ilina E.A., Rogov A.S., Nesterov E.A., Sadkin V.L., Larionova L.A., Varlamova N.V., Zelchan R.V. Development new radiopharmaceutical based on 5-thio-D-glucose labeled technetium-99m. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 8. Сер. «VIII International Scientific Conference «Issues of Physics and Technology in Science, Industry and Medicine». 2016. P. 012044.
13. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Скуридин В.С. Опыт разработки инновационных радиофармпрепаратов в Томском НИИ онкологии. Сибирский онкологический журнал. 2015; S2: 45–47.
14. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д. Разработка радиофармпрепаратов для радионуклидной диагностики в онкологии. Медицинская визуализация. 2016; 2: 63–66.
15. Зельчан Р.В., Медведева А.А., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Чернов В.И., Стасюк Е.С., Тагирова Е.А., Скуридин В.С. Изучение общей острой токсичности нового радиофармпрепарата ^{99m}Tc -1-тио-D-глюкоза в эксперименте. Молекулярная медицина. 2019; 1(17): 58–64.
16. Zelchan R., Medvedeva A., Sinilkin I., Chernov V., Stasyuk E., Rogov A., Skuridin V. Study of potential utility of new radiopharmaceuticals based on technetium-99m labeled derivative of glucose. AIP Conference Proceedings 1760, 020072 (2016). doi: 10.1063/1.4960291.
17. Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Чернов В.И., Стасюк Е.С., Ильина Е.А., Скуридин В.С. Изучение функциональной пригодности туморотропного радиофармпрепарата ^{99m}Tc -1-ТИО-6-глюкоза в эксперименте. Молекулярная медицина. 2018; 3(16): 54–57.
18. Zelchan R., Medvedeva A., Sinilkin I., Chernov V., Bragina O., Stasyuk E., Rogov A., Il'ina E., Larionova L., Skuridin V., Dergilev A. Experimental study of radiopharmaceuticals based on technetium-99m labeled derivative of glucose for tumor diagnosis. OP Conference Series: Materials Science and Engineering 8. Сер. «VIII International Scientific Conference «Issues of Physics and Technology in Science, Industry and Medicine». 2016. P. 012054.
19. Вернадский Р.Ю., Медведева А.А., Гарбуков Е.Ю., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Зельчан Р.В., Слонимская Е.М., Чернов В.И. Метаболическая визуализация рака молочной железы методом однофотонной эмиссионной компьютерной томографии с ^{99m}Tc -1-тио-D-глюкозой. Российский электронный журнал лучевой диагностики. 2019; 9(4): 82–96.
20. Чернов В.И., Дудникова Е.А., Зельчан Р.В., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Гольдберг В.Е., Гольдберг А.В., Фролова И.Г. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография с ^{99m}Tc -1-тио-D-глюкозой в диагностике и стадировании злокачественных лимфом: первый опыт использования. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17(4): 81–87. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-4-81-87.

ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ЖЕЛЕЗА

А.А. Евтина, М.А. Булдаков

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

Аннотация

Уникальные свойства наноразмерных частиц открывают новые и интересные возможности применения таких материалов в различных отраслях медицины, одной из задач которой является лечение онкологических заболеваний. В качестве объекта исследования в данной статье были использованы наночастицы, синтезированные на основе железа как биodeградируемой основы в различных модификациях. При исследовании эффектов наночастиц *in vitro* было показано, что наночастицы на основе железа ингибируют пролиферацию опухолевых клеток до 60 %. По результатам экспериментов *in vivo* было обнаружено незначительное противоопухолевое действие наночастиц железа, поскольку размеры и масса опухолевого узла статистически значимо не отличались от контрольной группы. Однако было установлено выраженное антиметастатическое действие. Снижение количества метастазов в легких по сравнению с контрольной группой составляло 50 %. Полученные результаты экспериментов *in vivo* и *in vitro* показывают, что данные типы наночастиц рекомендуются к дальнейшему исследованию и могут являться потенциальными противоопухолевыми и антиметастатическими средствами.

Ключевые слова: наночастицы, карцинома легких Льюис, метастазирование, опухолевые клетки.

ANTITUMOR EFFECT EVALUATION OF IRON-BASED NANOPARTICLES

A.A. Evtina, M.A. Buldakov

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

Abstract

The unique properties of nanoscale particles open up new and interesting possibilities for using such materials in various fields of medicine, one of the tasks of which is the treatment of cancer. As the object of this study were used nanoparticles, which were synthesized on the basis of iron as a biodegradable base in various modifications. When studying the effects of nanoparticles *in vitro* it was shown that iron-based nanoparticles inhibit the proliferation of tumor cells by up to 60 %. According to the results of *in vivo* experiments, a slight antitumor effect of iron nanoparticles was detected, since the size and mass of the tumor node didn't significantly differ from the control group. However, a pronounced anti-metastatic effect was found. The decrease in the number of metastases in the lungs compared to the control group was 50 %. The results of *in vivo* and *in vitro* experiments show that these types of nanoparticles are recommended for further research and may be potential anti-tumor and anti-metastatic agents.

Key words: nanoparticles, Lewis lung carcinoma, metastasis, tumor cells.

Применение нанотехнологий для лечения, диагностики, мониторинга и управления биологическими системами открывает новые возможности в биологии и медицине и даже выведено в отдельную отрасль, именуемую «наномедициной» и «нанобиологией».

Наноразмерные частицы (НЧ) обладают рядом преимуществ в качестве фармацевтических систем доставки и фактора улучшения средств диагностики [1]. Актуальность использования НЧ заключается в их способности проявлять свойства, зависящие от размера, который варьируется от 1 до 1000 нм [2]. Уменьшение размера позволяет не только увеличить площадь поверхности, доступную для взаимодействия, но и приводит к возникновению различных физических, химических, оптических или магнитных свойств, благодаря которым они открывают новые перспективы применения различных наноборков для многочисленных физических, биологических, биомедицинских и фармацевтических исследований [3].

Наночастицы сами по себе не являются простыми молекулами и состоят из трех слоев [4]: ядра; оболочки, отличной от ядра во всех аспектах, и, как правило, поверхностного слоя, представляющего собой поверхностно-активные вещества. Таким образом, можно модифицировать поверхность НЧ различными компонентами, функциональными группировками для более эффективного использования этих объектов в наномедицине.

Большая часть исследований в этой области посвящена разработке новых лекарственных препаратов, основанных на применении магнитных наночастиц в качестве носителя лекарственных средств – как фактора доставки в ткани и клетки-мишени, а также в качестве самостоятельных терапевтических агентов [5]. В последнее время большое внимание уделяется биологически значимому синтезу железосодержащих НЧ для применения в онкологической наномедицине. Это обусловлено их биологической совместимостью, а, следовательно, их биоразлагаемостью, а также физико-химической стабильностью и относительно низкой токсичностью, что в совокупности снижает побочные эффекты различных терапий.

В данной работе проводилась оценка противоопухолевого действия НЧ на основе железа *in vivo* и *in vitro*.

Материал и методы

НЧ были получены в лаборатории инновационных технологий Томского политехнического университета (НИ ТПУ) методом электрического взрыва проводника на комплексе УДП-15, а затем помещались в реактор с рабочей атмосферой определенного состава для создания новых соединений железа. Были синтезированы образцы наночастиц № 5 и № 115. В качестве клеточных линий использовали клетки рака шейки матки (HeLa – Российская коллекция клеточных культур позвоночных, ИНИЦ РАН, Санкт-Петербург) и нормальные фибробласты крысы (3Т3 – Российская коллекция клеточных культур позвоночных, ИНИЦ РАН, Санкт-Петербург).

На первом этапе исследования проводилась оценка пролиферативной активности с помощью системы многопараметрического анализа клеточных культур в режиме реального

времени – RTCA iCELLigence (США). Второй этап включал в себя экспериментальное исследование *in vivo*, которое было выполнено на 28 половозрелых мышах-самках линии C57BL/6 (интактные) с трансплантированной карциномой легких Льюис. Перевиваемую опухоль внутримышечно вводили в левую заднюю конечность животного. Раствор НЧ вводился внутриопухолево в различных концентрациях 7-кратно, каждые вторые сутки.

Результаты

При добавлении полученных НЧ в низких концентрациях (до 70 мкг/мл) реакция опухолевых клеток отсутствует. Увеличение концентрации до 107 и 140 мкг/мл приводит к торможению роста клеток в среднем на 50–60 % (рис. 1).

При оценке противоопухолевого действия НЧ *in vivo* все животные во всех экспериментальных группах выжили. Не было отмечено некрозов в области роста опухоли. Рост опухоли наблюдался во всех экспериментальных группах и не отличался от группы контроля.

После взвешивания опухолей во всех группах животных не было выявлено статистически значимых отличий. Однако при подсчете количества метастазов в легких наблюдалось значимое снижение исследуемого показателя в группах с модифицированными НЧ №115. Снижение количества метастазов в этих группах достигало 30 % (рис. 2). Максимальный эффект наблюдался в группе с введением раствора модифицированных НЧ № 115 (4 атм), где он составлял 50 %.

Выводы

Представленные выше результаты показывают, что использованные концентрации НЧ образца № 115 и № 5 не обладают противоопухолевым действием. Особого внимания заслуживает способность образца № 115 ингибировать метастазирование карциномы Льюис. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования синтезированных НЧ на основе железа в онкологической практике, но также требуют большего количества исследований их биологической активности.

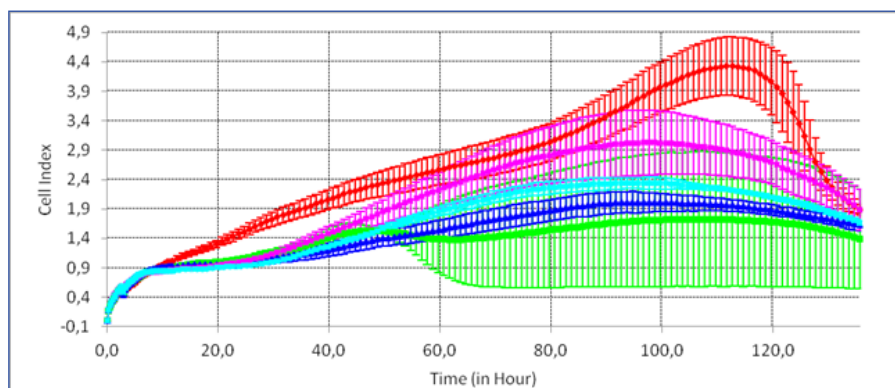


Рис 1. Клеточный индекс в клетках HeLa после добавления наночастиц № 5 и № 115

Примечание: красная линия – группа контроля; зеленая – наночастицы № 5, 107 мкг/мл; синяя – наночастицы № 5, 140 мкг/мл; розовая – наночастицы № 115, 107 мкг/мл; голубая – наночастицы № 115, 140 мкг/мл

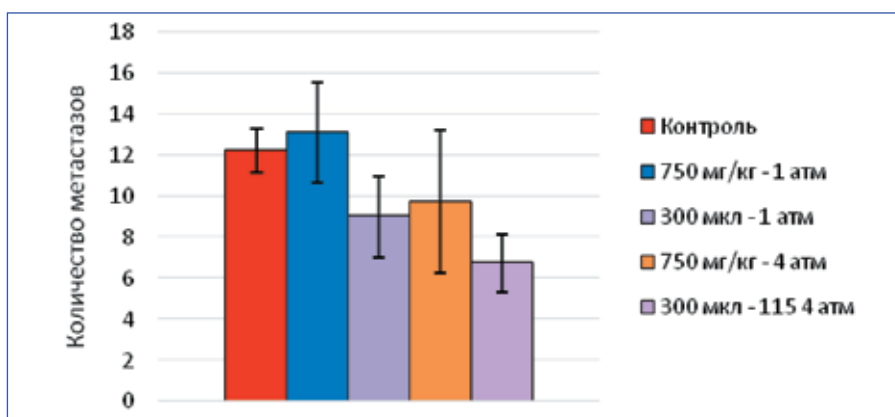


Рис 2. Количество метастазов в легких

ЛИТЕРАТУРА

1. Khan I., Saeed K., Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*. 2019; 12(7): 908–931.
2. Laurent S., Forge D., Port M., Roch A., Robic C., Vander Elst L., Muller R.N. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chem Rev*. 2008 Jun; 108(6): 2064–110. doi: 10.1021/cr068445e.
3. Su K.P., Liu Z.W., Zeng D.C., Huo D.X., Li L.W., Zhang G.Q. Structure and size-dependent properties of NdFeB nanoparticles and textured nano-flakes prepared from nanocrystalline ribbons. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 2013; 46(24): 1–5.
4. Shin W.K., Cho J., Kannan A.G., Lee Y.S., Kim D.W. Cross-linked Composite Gel Polymer Electrolyte using Mesoporous Methacrylate-Functionalized SiO₂ Nanoparticles for Lithium-Ion Polymer Batteries. *Sci Rep*. 2016 May 18; 6: 26332. doi: 10.1038/srep26332.
5. Михайлов Г.А., Васильева О.С. Технология будущего: использование магнитных наночастиц в онкологии. *Бюллетень СО РАМН*. 2008; 131(3): 18–22.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ НА ОСНОВании ДАННЫХ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ

Р.В. Ермоленко, И.Г. Фролова, С.А. Тузиков, С.А. Величко, С.В. Миллер

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

Аннотация

Целью исследования являлось изучение возможностей спиральной компьютерной томографии с контрастированием в оценке результатов системной химиотерапии больных с колоректальными метастазами в печени. Показано, что на основании проведенного исследования для оценки ответа опухоли на лечение, кроме использования критериев RECIST 1.1, можно предложить количественные критерии (анализ коэффициента контрастного усиления в артериальную фазу), которые позволяют косвенно судить об ответе МТС очага на проводимое лечение.

Ключевые слова: СКТ, коэффициент контрастного усиления (ККУ), метастатическое поражение печени, колоректальный рак (КРР).

ROLE OF COMPUTED TOMOGRAPHY IN THE ASSESSMENT OF RESPONSE TO CHEMOTHERAPY IN COLORECTAL CANCER PATIENTS WITH LIVER METASTASES

R.V. Ermolenko, I.G. Frolova, S.A. Tuzikov, S.A. Velichko, S.V. Miller

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

Abstract

The aim of the study was to analyze the role of contrast-enhanced spiral CT in assessing the response to systemic chemotherapy in patients with colorectal liver metastases. It was shown that not only the RECIST 1.1 criteria but also quantitative criteria (analysis of the coefficient of contrast enhancement in the arterial phase) can be used to indirectly assess the response to treatment in patients with colorectal liver metastases.

Key words: spiral CT, contrast enhancement factors (CEF), liver metastases, colorectal cancer.

Актуальность

КРР занимает второе место по смертности от злокачественных новообразований среди мужчин и женщин [1]. Печень является наиболее частым органом метастатического поражения после регионарных лимфоузлов, при этом до 80 % в печень метастазирует именно колоректальный рак, в 50 % случаев сразу выявляется метастатическое поражение печени или оно развивается в течение болезни [2]. Кроме того, от 30 до 55 % пациентов, получивших

потенциально радикальное лечение по поводу рака толстой кишки, имеют риск прогрессирования заболевания в виде метастазов в печени.

До недавнего времени больные, имеющие колоректальные метастазы в печени, получали только симптоматическое лечение, но в последние годы существенно пересмотрена позиция в отношении тактики лечения. Это обусловлено совершенствованием хирургической техники, достижениями химиотерапии и появлением новых алгоритмов и схем лечения с включением различных вариантов абляции и химиоэмболизации.

Однако низкий процент резектабельности (15–20 %), высокий процент рецидива опухолей (60 % и более) требуют поиска новых, более эффективных подходов к решению этой проблемы. В настоящее время наиболее распространено комбинированное лечение колоректальных метастазов печени путем сочетания резекции печени, различных вариантов химиотерапии, методов локальной деструкции опухолей и химиоэмболизации [4]. Стандартными схемами предоперационного адъювантного лечения является назначение цитотоксических препаратов (оксалиплатин или иринотекан) в комбинации с 5-фторурацилом и лейковорином (схемы FOLFOX и XELOX) [5].

Наиболее объективной методикой оценки эффективности проведенного любого варианта лечения, безусловно, является морфологическое исследование с оценкой терапевтического патоморфоза [6]. Тем не менее для своевременной коррекции схемы лечения клиницистам в определенных ситуациях необходимо иметь данные об эффективности проводимой терапии на этапах реализации. Для этого в последние годы широко используют различные методы лучевой диагностики.

По мнению некоторых исследователей, СКТ позволяет определить точную локализацию патологического очага. Метод также информативен в плане выбора оптимальной тактики дальнейшего лечения с учетом данных топической диагностики. По данным некоторых авторов, чувствительность СКТ составляет от 96 до 98 % [7].

Непосредственный ответ на лечение оценивается по шкале RECIST 1.1, основанных на одномерном измерении размера опухоли. С момента введения в клиническую практику RECIST 1.1 прошло около 11 лет, и за это время стали ясны важные ограничения этих критериев при ряде заболеваний. Может быть недостаточной оценка, основанная исключительно на размерах очага. Следует отметить, что достаточно частым явлением при проведении химиотерапии может быть первоначальное увеличение очагов в размерах, а также визуально определяться размытость и нечеткость контуров, что нередко воспринимается как прогрессирование заболевания в процессе лечения [8].

Многими исследованиями показано, что изменение структуры и степени васкуляризации метастатического очага в процессе лечения не коррелирует с его размерами, поэтому получение дополнительной информации об изменениях способствовало бы более точной оценке результатов лечения.

В последние годы среди исследователей обсуждаются вопросы о возможностях использования для оценки эффективности химиотерапевтического лечения различных показателей васкуляризации при использовании многофазного сканирования при СКТ с контрастированием. Согласно этому предположению, жизнеспособная опухоль может определяться по объему контрастирования в артериальной фазе при КТ, а снижение площади или объема контрастирования вплоть до полного исчезновения может означать ответ опухоли на терапию. Многими исследователями активно обсуждается вопрос относительно времени задержки введенного контрастного вещества. Не до конца изучены методологические вопросы проведения многофазного сканирования с контрастными агентами [8].

Количественный анализ динамики накопления контрастного агента при многофазном СКТ является наиболее перспективной методикой в улучшении качества диагностики метастатического поражения печени и контроля эффективности проводимого лечения.

В доступной литературе нет исследований, посвященных мониторингованию метастатических очагов после лечения, не разработаны КТ критерии оценки эффективности химиотерапевтического лечения. Поэтому, несмотря на большое число проведенных исследований по лечению метастатического колоректального рака печени, однозначного ответа на ряд вопросов, касающихся эффективности лечения с позиции использования методов лучевой диагностики, до сих пор нет. Все вышеперечисленное и определило актуальность рассматриваемой проблемы.

Цель – изучить возможности спиральной компьютерной томографии с контрастированием в оценке результатов системной химиотерапии больных с колоректальными метастазами в печени.

Материал и методы

Были обследованы 52 больных в возрасте от 31 до 79 лет, средний возраст составил $49 \pm 14,7$ года, которые получили системную химиотерапию в количестве 4 курсов по схеме FOLFOX и XELOX.

FOLFOX-4

Оксаплатин – 85 мг/м² 2-часовая в/в инфузия в 1-й день. Фолинат кальция (Лейковорин) – 200 мг/м² 2-часовая инфузия в 1-й и 2-й день. Фторурацил – 400 мг/м² в/в струйно, затем 600 мг/м² в/в 22-часовая инфузия в 1-й и 2-й день.

Повторный курс через 14 дней, в течение 6 мес.

FOLFOX-6

Оксаплатин – 85 мг/м² 2-часовая инфузия в 1-й день. Фолинат кальция (Лейковорин) 400 мг/м² в/в в течение 2-ч с последующим болюсом фторурацила 400 мг/м² в/в струйно и 46-часовой инфузией фторурацила 2400 мг/м².

Повторный курс через 14 дней, в течение 6 мес.

XELOX

Оксаплатин – 130 мг/м² в 1й день, капецитабин 2000 мг/м²/сут 1–14-й дни. Повторный курс через 3 нед.

Компьютерная томография выполнялась на спиральном компьютерном томографе «Somatom Emotion 6» фирмы «Siemens» (Германия). Нативное сканирование обязательно для всех больных. При проведении болюсного внутривенного контрастного усиления толщина реконструируемого среза составит 1,25 мм. Для контрастного усиления будет применяться неионное контрастное вещество иогексол (Omnipaque, Nycomed) с концентрацией 350 мг/мл, в объеме 100 мл. Сканирование будет выполняться в артериальную, портальную, венозную и отсроченную фазы для анализа характера васкуляризации метастатических очагов. При мультифазном сканировании будут определены тип васкуляризации и рассчитаны индексы васкуляризации.

При КТ анализировались: количество метастазов, размеры, объём, анатомическая локализация, форма, контуры, структура, визуальный характер накопления контраста (диффузное, неравномерное, краевое контрастное усиление типа “ободка”). Индексы васкуляризации рассчитывались в заранее определенных точках, в пределах одного среза, площадь измерения составила $10 \pm 0,5$ мм (рис. 1).

Результаты

При проведении КТ до лечения число измеряемых МТС очагов колебалось от 2 до 5, размеры варьировали от 17 до 74 мм, очаги имели неровные, четкие контуры, по плотности очаги были разнородны, поэтому мы применили коэффициенты контрастного усиления (ККУ), так как они отражали индивидуальные характеристики плотности, и значения их менялись соответственно степени васкуляризации МТС очагов.

У 34 пациентов размеры и количество МТС очагов в печени после 2 курсов химиотерапии практически не изменились. Наличие новых МТС очагов не выявлено, таким образом, согласно RECIST 1.1 можно говорить о стабилизации процесса. При анализе характера васкуляризации (степени артериального кровоснабжения в очаге) отмечено уменьшение рассчитанного коэффициента контрастного усиления в артериальную фазу с $1,08 \pm 0,05$ до $1,05 \pm 0,05$ в центральной зоне метастаза, с $1,73 \pm 0,05$ до $0,95 \pm 0,05$ в периферической зоне метастаза, в прилежащей неизменной паренхиме печени коэффициент составил с $1,28 \pm 0,05$ до $0,96 \pm 0,05$. Таким образом, данный эффект расценен как стабилизация процесса, при этом полученные результаты свидетельствовали об уменьшении опухолевого кровотока в артериальную фазу сканирования и могут говорить о частичном ответе на терапию. Нами также выявлен факт пропорционального повышения коэффициента контрастного усиления: у 18 пациентов при прогрессировании метастатического процесса в артериальную фазу с $1,5 \pm 0,05$ до $1,9 \pm 0,05$ в центральной зоне метастаза, с $1,63 \pm 0,05$ до $2,0 \pm 0,05$ в периферической зоне метастаза, в прилежащей неизменной паренхиме печени коэффициент составил от $1,68 \pm 0,05$ до $2,19 \pm 0,05$.

В дальнейшем после проведения 4 курсов химиотерапии у 29 пациентов эффект оценен как стабилизация, размер, количество и ККУ практически не изменились. У 5 пациентов было выявлено повышение ККУ в артериальную фазу до $2,0 \pm 0,15$, в периферической зоне метастаза, что позволило отнести их к группе пациентов, у которых отмечается прогрессирование. Стоит отметить тот факт, что при обобщении полученных данных отмечается, что в центральной зоне участков МТС-поражения накопление контрастного вещества остается постоянным либо снижается при увеличении размеров участков МТС-поражения, что свидетельствует о недостаточном кровоснабжении центральной зоны в массиве участка МТС-

поражения ввиду несовершенного ангиогенеза, и развивающегося некроза.

Выводы

Таким образом, на основании проведенного исследования для оценки ответа опухоли на лечение, кроме использования критериев RECIST 1.1, можно предложить количественные критерии (анализ коэффициента контрастного усиления в артериальную фазу), которые позволяют косвенно судить об ответе МТС очага на проводимое лечение.

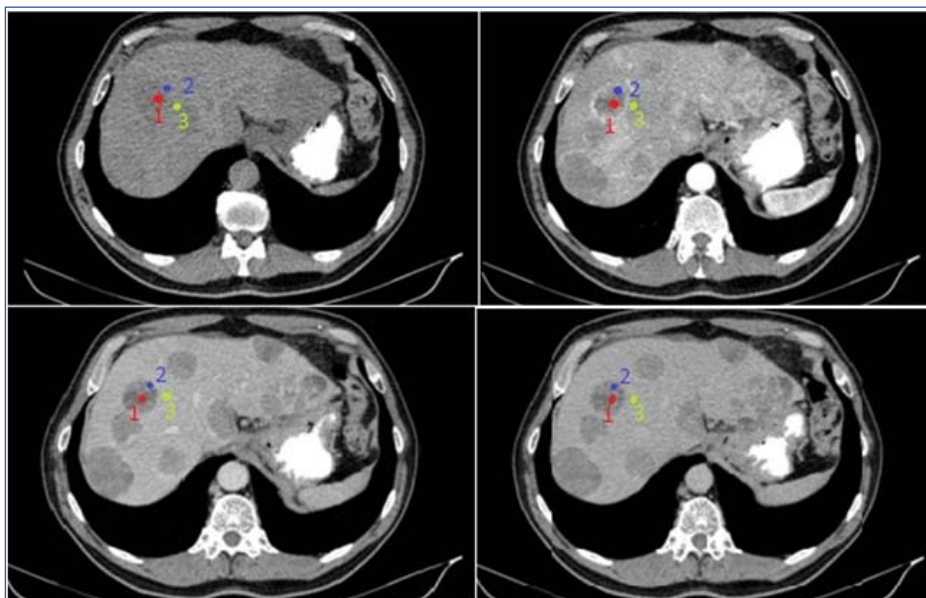


Рис. 1. КТ печени в нативную, артериальную, портальную и отсроченную фазы контрастирования, в аксиальной проекции. Измерения производились в центре (1), по периферии (2) МТС очага и прилежащей паренхиме (3) печени

ЛИТЕРАТУРА

1. Winawer S., Classen M., Lambert R., Fried M., Dite P., Goh K.L., Guarner F., Lieberman D., Eliakim R., Levin B., Saenz R., Khan A.G., Khalif I., Lanas A., Lindberg G., O'Brien M.J., Young G., Krabshuis J., Smith R., Schmiegel W., Rex D., Amrani N., Zauber A. Colorectal cancer screening world gastroenterology organisation/international digestive cancer alliance practice guidelines. South African Gastroenterology Review. 2008; 6(1): 13–20.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году. М., 2018. 250 с.
3. Бебезов Б.Х., Осомбаев М.Ш., Мамашев Н.Д., Мурзалиев Э.М., Джекишенов М.Д., Самаков А.А. Непосредственные результаты хирургического лечения колоректального рака в печень. Вестник КРСУ, 2016; 16(11): 19–21.
4. Переводчикова Н.И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. 4 изд., расширенное и дополненное. 2018. 688 с.
5. Черноглазова Е.В., Вышинская Г.В., Гуторов С.Л., Сагайдак И.В., Поляков А.Н., Вишневская Я.В., Патютко Ю.И., Личиницер М.Р. Непосредственная эффективность предоперационной химиотерапии при метастазах колоректального рака в печени. Онкологическая колопроктология. 2014; 3: 29–34.
6. Данзанова Т.Ю., Синокова Г.Т., Лепэдату П.И. Особенности современной диагностики метастазов колоректального рака в печени. Онкологическая колопроктология. 2013; 4: 21–28.
7. Гележе П.В., Морозов С.П., Мандельблат Ю.Э., Либсон Е.И. Что нового в критериях оценки онкологических заболеваний в лучевой диагностике: recist vs. perist? Лучевая диагностика и терапия. 2014; 2: 28–36.
8. Гележе П.В., Морозов С.П., Мандельблат Ю.Э., Либсон Е.И. Современные критерии лучевой диагностики в оценке эффективности специального противоопухолевого лечения. Российский онкологический журнал. 2014; 19(3): 39–46.

ЭКЗОСОМАЛЬНЫЕ ТЕТРАСПАНИНЫ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

Е.А. Замбалова, А.А. Димча, М.Р. Патышева

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

Аннотация

Проведено исследование тетраспанинов экзосом плазмы крови больных колоректальным раком. Выявлены значимые различия в уровне экспрессии Tspan8/CD151 субпопуляции экзосом в зависимости от стадии заболевания. Возникновение у больных гематогенных метастазов значимо связано

со снижением доли дважды-негативной Tspan8-CD151- популяции и ростом смешанных популяций, экспрессирующих либо Tspan8, либо CD151. Необходимы дальнейшие исследования экзосомальных тетраспанинов больных колоректальным раком для выяснения роли экзосомальных мембранных белков в развитии и прогрессировании рака.

Ключевые слова: колоректальный рак, экзосомы, тетраспанины.

EXOSOMAL TETRASPANINS IN COLORECTAL CANCER

E.A. Zambalova, A.A. Dimcha, M.R. Patysheva

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

Аннотация

In this work, a study of the tetraspanins of plasma exosomes of colorectal cancer patients was carried out. Significant differences in the level of Tspan8/CD151 subpopulation of exosomes, depending on the stage of the colorectal cancer were revealed. The occurrence of hematogenous metastases in patients is significantly associated with a decrease of doubly negative Tspan8-CD151- populations and an increase in mixed populations expressing either Tspan8 or CD151. Further studies of tetraspanins of exosomes colorectal cancer patients are need for elucidating the role of exosomal membrane proteins in cancer development and progression.

Key words: colorectal cancer, exosomes, tetraspanins.

Актуальность

Колоректальный рак (КРР) является одним из наиболее распространенных видов опухолей желудочно-кишечного тракта и занимает 2–3-е место в структуре онкологической заболеваемости в большинстве стран мира. В настоящее время большое значение в процессах инвазии и метастазирования опухолей придают экзосомам (внеклеточные везикулы размером 30–100 нм). Они обнаружены практически во всех биологических жидкостях и участвуют во многих физиологических и патологических процессах. К общим белкам экзосом относят белки высококонсервативного семейства тетраспанинов. Тетраспанины CD9, CD63, CD81 являются экзосомальными биомаркерами [1]. Другими важными тетраспанинами являются Tspan8 и CD151. Tspan8 ответствен за подвижность клеток, CD151 вносит вклад в адгезию и деградацию матрикса, участвуя в метастазировании опухолей. **Целью исследования** являлась оценка экспрессии тетраспанинов экзосом плазмы крови больных колоректальным раком с различной распространенностью опухолевого процесса.

Материал и методы

В исследование были включены 30 больных колоректальным раком (T2–4N0–2M0–1) и 10 контрольных пациентов. Материалом для исследования послужили образцы КЗЭДТА-плазмы крови. Экзосомы из плазмы крови были выделены методом ультрафильтрации с двойным ультрацентрифугированием [2]. Уровни экспрессии тетраспанинов Tspan8 и CD151 определяли методом проточной цитометрии [3].

Результаты

Мы использовали латексные частицы с антителами против CD9 для обнаружения субпопуляций Tspan8/CD151 экзосом в плазме КРП и больных КРР. Оценка экспрессии мембранных белков экзосом путем сочетания конъюгированных и неконъюгированных антител позволяет идентифицировать различные субпопуляции экзосом. Распределение субпопуляций Tspan8/CD151 у КРП и больных КРР оказалось сходным. Субпопуляция Tspan8-CD151- преобладала в обеих группах (КРР – 95,74±0,66 (%) и КРП – 91,98±1,31 (%), $p>0,05$) по сравнению с другими субпопуляциями экзосом. Внутри групп больных КРР происходит перераспределение субпопуляций экзосом, экспрессирующих Tspan8 и CD151 (таблица). Выявлены статистически значимые различия в уровне экспрессии субпопуляции Tspan8-CD151- экзосом у больных метастатическим КРР по сравнению с больными локализованным КРР: 93,98±1,20 и 97,05±0,42 соответственно, ($p<0,05$). Значительные различия обнаружены в уровне экспрессии Tspan8+CD151+ субпопуляции с локализованным и метастатическим КРР с гематогенными метастазами: 2,02±0,34 и 3,66±0,25 соответственно ($p<0,05$).

Известно, что экспрессия Tspan8 коррелирует с метастатическим потенциалом карциномы печени, толстой кишки и поджелудочной железы. CD151- и Tspan8-позитивные экзосомы поддерживают деградацию внеклеточного матрикса, участвуют в ремоделировании стромы, метастазировании опухолей, что доказано на BSp73ASML клеточной линии аденокарциномы поджелудочной железы крыс [5].

Выводы. В результате анализа полученных данных обнаружены значимые различия в уровне экспрессии субпопуляций Tspan8/CD151 экзосом у больных локализованным КРР по сравнению с больным метастатическим КРР. Возникновение у больных гематогенных метастазов значимо связано со снижением доли дважды-негативной Tspan8-CD151- популяции и ростом смешанных популяций, экспрессирующих либо Tspan8, либо CD151. Необходимы дальнейшие исследования тетраспанинов экзосом у больных КРР для выяснения роли тетраспанин-ассоциированных экзосомальных мембранных белков в развитии и прогрессировании рака.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и администрации Томской области в рамках научного проекта № 18-415-703006

Таблица

Экспрессия Tspan8 и CD151 на поверхности экзосом плазмы крови контрольных пациентов и больных колоректальным раком. Среднее значение медианы интенсивности флуоресценции (MFI) ± ошибка среднего

Группы	Tspan8- CD151-	Tspan8+ CD151-	Tspan8- CD151+	Tspan8+ CD151+
Контрольные пациенты	91,98±1,31	2,20±0,62	0,90±0,24	4,31±0,79
Локализованный КРР	97,05±0,42	0,70±0,09	0,21±0,03	2,02±0,34
Местнораспространенный КРР	95,49±1,59	0,90±0,27	0,36±0,08	3,20±1,25
Метастатический КРР	93,98±1,20*	1,24±0,06	1,09±0,07	3,66±0,25*

Примечание: * – значимые различия между локализованным КРР и метастатическим КРР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yunusova N.V., Tugutova E.A., Tamkovich S.N., Kondakova I.V. The role of exosomal tetraspanins and proteases in tumor progression. Biomed Khim. 2018 Mar; 64(2): 123–133. doi: 10.18097/PBMC20186402123.
2. 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. Biomed Khim. 2017 Mar; 63(2): 165–169. doi: 10.18097/PBMC20176302165.
3. 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 exosome from biological fluids of patients with different types of cancer. AIP Conference Proceedings. 2017; 1882: 020080.
4. Tian Y., Ma L., Gong M., Su G., Zhu S., Zhang W., Wang S., Li Z., Chen C., Li L., Wu L., Yan X. Protein profiling and sizing of extracellular vesicles from colorectal cancer patients via flow cytometry. ACS Nano. 2018 Jan 23; 12(1): 671–680. doi: 10.1021/acsnano.7b07782.
5. Yue S., Mu W., Zöller M. Tspan8 and CD151 promote metastasis by distinct mechanisms. Eur J Cancer. 2013 Sep; 49(13): 2934–48. doi: 10.1016/j.ejca.2013.03.032.

РАЗРАБОТКА НОВЫХ РАДИОФАРМПРЕПАРАТОВ ДЛЯ РАДИОНУКЛИДНОЙ ДИАГНОСТИКИ В ОНКОЛОГИИ

Р.В. Зельчан

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

Аннотация

В представленном материале обобщен опыт научного коллектива Томского НИИ онкологии по разработке новых оригинальных радиофармпрепаратов для ядерной медицины. Рассмотрены основные тенденции и перспективы развития ядерной медицины, ближайшие трудности на пути развития и возможные решения. Описаны основные научные направления в разработке радиофармпрепаратов.

Представлены результаты собственной деятельности по разработке препаратов. Продемонстрирована функциональная пригодность разрабатываемых препаратов, перспективы развития.

Ключевые слова: ядерная медицина, радиофармацевтические препараты, онкология, молекулярная визуализация.

DEVELOPMENT OF NEW RADIOPHARMACEUTICALS FOR NUCLEAR MEDICINE IN ONCOLOGY

R.V. Zelchan

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

Abstract

The paper describes the experience of the scientific team of Tomsk Cancer Research Institute in the development of new radiopharmaceuticals for nuclear medicine. The basic trends and prospects for the development of nuclear medicine as well as challenges have been considered. The main research trends in the development of radiopharmaceuticals have been described. The functional suitability of the radiopharmaceuticals and development prospects have been demonstrated.

Key words: nuclear medicine, radiopharmaceuticals, oncology, molecular imaging.

Актуальность

Преимущества, а в ряде случаев и незаменимость методов ядерной медицины в диагностике и лечении злокачественных новообразований обусловили её устойчивое развитие и превращение в неотъемлемую часть клинической онкологии в развитых странах [1–6]. Мировое производство и потребление радиофармацевтических препаратов (РФП) растут ежегодно на 10 %. К 2017 году ожидается рост мирового рынка радиофармпрепаратов до 8 млрд долларов в год, при этом на нужды ядерной медицины расходуется более 80 % годового производства радионуклидов во всем мире. Успешное применение методов ядерной медицины в практике Томского НИИ онкологии доказало эффективность и целесообразность их использования в онкологической практике. Например, проведенные исследования продемонстрировали положительный вклад применения онкотропных РФП в оценке эффективности лечения больных раком гортани и гортаноглотки. Кроме того, результаты исследований показали эффективность комбинации радионуклидных методов и традиционных рентгенологических методик в диагностике опухолей головы и шеи. Кроме того, большое количество работ, выполненных в нашем учреждении, доказало необходимость использования маммосцинтиграфии как в первичной диагностике, так и на этапах комбинированного лечения у больных раком молочной железы.

Цель исследования – разработка новых, оригинальных РФП для онкологической практики.

Результаты

В настоящее время в Томском НИИ онкологии при тесном сотрудничестве с Томским политехническим университетом накоплен огромный опыт по разработке и проведению доклинических испытаний инновационных РФП. В современной онкологической практике все больший интерес вызывает выявление сторожевых лимфатических узлов (СЛУ) – первых узлов, стоящих на пути метастазирования злокачественных новообразований [6]. Поэтому идет непрерывный поиск более специфичных РФП для молекулярной визуализации СЛУ. В нашем учреждении для этих целей был разработан оригинальный РФП на основе гамма-оксида алюминия «Нанокolloид-Al₂O₃», а также проведены его доклинические исследования. За рубежом для выявления СЛУ используются нанокolloидные препараты, изготовленные на основе соединений, образующих устойчивые гидрозоли. Большая часть из них представляет собой неорганические комплексы ^{99m}Tc с сульфидами рения и сурьмы, и их производство – достаточно сложный технологический процесс. Вместе с тем предварительные исследования показали, что устойчивые коллоидные соединения могут быть получены более простым способом – путем проведения адсорбции восстановленного ^{99m}Tc на гамма-оксиде алюминия. При этом величина адсорбции радионуклида на поверхности оксида

превышает 93 %. Основными предпосылками для использования гамма-оксида в качестве «носителя» метки ^{99m}Tc явились его более низкая токсичность, чем у сульфидов, в сочетании с хорошими адсорбционными свойствами, доступностью и низкой стоимостью. Проведенные доклинические испытания «Нанокolloид- Al_2O_3 » продемонстрировали его эффективность, безопасность и оптимальность фармакокинетических параметров для интраоперационного выявления СЛУ. Исследование фармакокинетики препарата «Нанокolloид- Al_2O_3 » показало, что через 24 ч после введения в лимфатическом узле аккумулируется около 12 % от введенной дозы РФП, что позволяет достоверно производить детекцию СЛУ. В настоящее время в Томском НИИ онкологии начаты исследования по использованию «Нанокolloид- Al_2O_3 » в клинической практике.

Учитывая широкую доступность скинтиграфического оборудования в нашей стране (более 200 радиодиагностических подразделений, оснащенных гамма-камерами), весьма перспективной для практической онкологии является разработка туморотропных РФП на основе ^{99m}Tc . Одним из таких РФП является « ^{99m}Tc -1-тио-D-глюкоза» для радионуклидной диагностики онкологических заболеваний, разработка которого сегодня проводится в Томском НИИ онкологии совместно с Томским политехническим университетом. Главным достоинством РФП на основе производных глюкозы, меченных технецием-99м, является то, что визуализация опухоли с их использованием может быть произведена с помощью гамма-камеры, а это значительно снижает стоимость диагностической процедуры. Радиофармпрепарат представляет собой комплекс производного глюкозы в виде 1-тио-D-глюкоза и ^{99m}Tc , в котором 1-тио-D-глюкоза выполняет функцию транспорта радиоизотопной метки (^{99m}Tc). Радиофармпрепарат в виде раствора для инфузий вводится внутривенно и распределяется в кровяном русле, накапливаясь в опухолевых клетках и в тканях с гиперинтенсивным метаболизмом. В настоящее время идут клинические испытания данного РФП. С использованием указанного препарата с высокой эффективностью выявляются опухоли головного мозга, молочной железы, злокачественные лимфомы [7, 8].

Линейку туморотропных РФП, разрабатываемых в Томском НИИ онкологии, продолжает технециевый препарат на основе противоопухолевого антибиотика доксорубинина – «Доксорубинин, ^{99m}Tc ». Доксорубинин многие десятилетия является одним из самых популярных химиотерапевтических препаратов при лечении злокачественных новообразований. Создание нового технециевого РФП на основе противоопухолевого антибиотика позволит не только улучшить качество диагностики злокачественных новообразований, но и прогнозировать эффективность использования доксорубинина у каждого конкретного пациента. Радиофармпрепарат представляет собой раствор для внутривенного введения, содержащий доксорубинин, меченный радиоактивным изотопом технецием-99м. В настоящее время разработаны методики синтеза РФП, проведена валидация методик контроля качества РФП и выполнена серия экспериментов по оценке функциональной пригодности нового РФП на лабораторных животных. Полученные результаты свидетельствуют о выраженных туморотропных свойствах нового РФП. В настоящее время в НИИ онкологии ТНИМЦ продолжаются клинические исследования оригинального туморотропного РФП « ^{99m}Tc -1-тио-D-глюкоза».

Еще одним инновационным препаратом, разработанным в нашем центре, является меченный технецием-99м октреотид. Данный препарат планируется использовать для диагностики нейроэндокринных опухолей [9].

Прорывом мирового значения в ядерной медицине является разработанный и апробированный в нашем учреждении РФП на основе адресных молекул $\text{DARpIn}_9\text{29}$ для рецепторной визуализации опухолей молочной железы [10, 11].

В ближайшие годы мировую ядерную медицину ожидает острый дефицит в препаратах на основе изотопа ^{99m}Tc , с помощью которого ежедневно выполняется 70 тыс. исследований. Это обусловлено изношенностью реакторной базы, производящей материнский ^{99}Mo по урановой технологии, где образуется огромное количество радиоактивных отходов. Дефицит ^{99m}Tc может привести к острейшему кризису в ядерной медицине в связи с закрытием в 2016 г. реактора ChalkRiver (Канада), на котором производилось более 40 % мирового объема ^{99}Mo . Это закрытие и отмена государственных субсидий, по экспертным оценкам, приведут к семикратному росту стоимости молибдена-99. А полный переход в 2020 г. на низкообогащенное урановое топливо увеличит его стоимость еще на 40 %. Таким образом, цена ^{99m}Tc поднимется в 15 раз.

Одним из вариантов выхода из молибденового кризиса является создание полностью автоматизированного модуля ^{99m}Tc , работающего по безотходной технологии. Модули

^{99m}Tc предназначены для эксплуатации в условиях медицинских лабораторий, не требуют дополнительной биологической защиты, количество примесей снизится в 10 раз по сравнению с сорбционными генераторами, а, следовательно, повысится качество радиоактивной метки. Кроме того, расчетная себестоимость изотопов, полученных из автоматизированного модуля, будет в 2–3 раза ниже по сравнению с генераторным нуклидом. Разработка указанного модуля ведется в Томском политехническом университете совместно с Томским НИИ онкологии.

Выводы

Научные коллективы Томского НИИ онкологии и Томского политехнического университета накапливают и успешно используют опыт разработки инновационных РФП, которые востребованы в онкологической практике и отвечают современным условиям рынка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Van Noorden R. Radioisotopes: The medical testing crisis. *Nature*. 2013 Dec 12; 504(7479): 202–4. doi: 10.1038/504202a.
2. Vercher-Conejero J.L., Pelegrí-Martínez L., López-Aznar D., Cózar-Santiago Mdel P. Positron Emission Tomography in Breast Cancer. *Diagnostics* (Basel). 2015 Mar 16; 5(1): 61–83. doi: 10.3390/diagnostics5010061.
3. Kroselj M., Socan A., Zalete K., Dreger T., Knopp R., Gmeiner T., Kolenc Peitl P. A novel, self-shielded modular radiosynthesis system for fully automated preparation of PET and therapeutic radiopharmaceuticals. *Nucl Med Commun*. 2016 Feb; 37(2): 207–14. doi: 10.1097/MNM.0000000000000411.
4. Merrill J.R., Krajewski K., Yuan H., Frank J.E., Lalush D.S., Patterson C., Veleva A.N. Synthesis and comparative evaluation of novel ^{64}Cu -labeled high affinity cell-specific peptides for positron emission tomography imaging of tumor vasculature. *Data Brief*. 2016 Mar 4; 7: 480–4. doi: 10.1016/j.dib.2016.02.080.
5. Чернов В.И., Дудникова Е.А., Гольдберг В.Е., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Попова Н.О., Гольдберг А.В. Позитронная эмиссионная томография в диагностике и мониторинге лимфопролиферативных заболеваний. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2018; 6(63): 41–50.
6. Chernov V.I., Sinilkin I.G., Zelchan R.V., Medvedeva A.A., Lyapunov A.Yu., Bragina O.D., Varlamova N.V., Skuridin V.S. Experimental study of ^{99m}Tc -aluminum oxide use for sentinel lymph nodes detection. *AIP Conference Proceedings*. 2016. 020012-020012-5.
7. Zelchan R., Medvedeva A., Sinilkin I., Chernov V., Bragina O., Stasyuk E., Rogov A., Il'ina E., Larionova L., Skuridin V., Dergilev A. Experimental study of radiopharmaceuticals based on technetium- ^{99m} labeled derivative of glucose for tumor diagnosis. *IOP Conference series: Materials science and engineering*. 2016. 012054.
8. Зельчан Р.В., Медведева А.А., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Чернов В.И., Стасюк Е.С., Тагирова Е.А., Скуридин В.С. Изучение общей острой токсичности нового радиофармпрепарата ^{99m}Tc -1-тио- β -D-глюкоза в эксперименте. *Молекулярная медицина*. 2019; 17(1): 58–66.
9. Чернов В.И., Брагина О.Д., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Ларькина М.С., Стасюк Е.С., Нестеров Е.А., Скуридин В.С. Меченые аналоги соматостатина в тераностике нейроэндокринных опухолей. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2017; 3(62): 42–49.
10. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойнзонов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных новообразований. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17(1): 220–231.
11. Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Тицкая А.А., Зельчан Р.В. Радиоиммунотерапия в лечении злокачественных образований. *Сибирский онкологический журнал*. 2016; 15(2): 101–106. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-2-101-106.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ КОФИЛИНА 1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ВЗВЕСИ У БОЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ

Г.В. Зенгер¹, В.Е. Скурихина¹, Е.Н. Менькова²

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия¹

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

Аннотация

В работе представлены предварительные результаты сравнительного анализа содержания кофилина 1 в сыворотке крови и лейкоцитарной взвеси у больных раком гортани и гортаноглотки (РГ) с разными стадиями заболевания в сравнении с группой практически здоровых доноров. Содержание белка определяли методом иммуноферментного анализа. Отмечено, что в лейкоцитарной взвеси, выделенной из крови больных РГ, содержание кофилина 1 было почти в 10 раз меньше, чем в сыворотке крови этих же больных. Базовое содержание кофилина 1 в сыворотке крови у больных РГ без рецидивов было ниже на 30 %, чем у больных РГ, у которых в течение двух лет после комбинированного лечения были обнаружены рецидивы (метастазы или продолженный рост). Результаты работы говорят об участии кофилина 1 в патогенезе рака гортани и гортаноглотки. Данные о значительном снижении содержания

кофилина в лейкоцитарной взвеси требуют дальнейшего изучения. В целом, полученные результаты дополняют знания о молекулярных особенностях опухолевого роста.

Ключевые слова: лейкоцитарная взвесь, кофилин, рак гортани и гортаноглотки, прогрессирование, маркеры, метастазирование.

COMPARATIVE ANALYSIS OF COFILIN 1 CONTENT IN BLOOD SERUM AND LEUKOCYTE SUSPENSION IN PATIENTS WITH LARYNGEAL AND LARYNGOPHARYNGEAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA

G.V. Zenger¹, V.E. Skurikhina¹, E.N. Menkova²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

The paper presents preliminary results of the comparative analysis of cofilin 1 content in blood serum and leukocyte suspension in patients with laryngeal and laryngopharyngeal carcinoma and in healthy donors. The protein content was determined by enzyme-linked immunosorbent assay. It was found that the content of cofilin 1 in the leukocyte suspension taken from the blood of patients with laryngeal carcinoma was approximately 10 times lower than that taken from the blood serum of the same patients. The baseline content of cofilin 1 in blood serum of laryngeal carcinoma patients having no relapse was 30 % lower than that in patients with recurrence (metastases) detected within two years after treatment. The results obtained indicate the involvement of cofilin 1 in laryngeal and laryngopharyngeal carcinoma pathogenesis. Findings regarding a significant decrease in the content of cofilin in leukocyte suspension require further study. The results obtained complement the knowledge about the molecular features of tumor growth.

Key words: leukocyte suspensions, cofilin, laryngeal and laryngopharyngeal carcinoma, progress, markers, metastasis.

Актуальность

Плоскоклеточный рак гортани и гортаноглотки (РГ) является высокоагрессивным типом рака, характеризуется высокой однолетней смертностью, быстрым ростом, множественными метастазами и частыми рецидивами, с трудом поддается лечению. Несмотря на «визуальную» доступность рака этой локализации, существуют объективные трудности в мониторинге течения заболевания [1]. Поэтому актуален поиск маркеров течения РГ для формирования групп риска прогрессирования заболевания. Агрессивность опухолевых клеток опосредуется мобильностью актинового цитоскелета, в регуляции динамики которого принимают участие различные актин-связывающие белки, в том числе кофилин [2, 3]. Кофилин способствует фрагментации F-актина и накоплению его коротких фрагментов, которые используются для сборки новых актиновых филаментов [4]. Показана важная роль кофилина в регуляции сборки актиновых филаментов и в лейкоцитах во время хемотаксиса, что имеет важное значение для процесса рекрутирования клеток иммунной системы в микроокружение опухоли [5]. Детальное изучение молекулярных основ прогрессирования рака головы и шеи позволит сформировать базу для разработки новых более специфичных диагностических и терапевтических подходов.

Поэтому целью исследования явилась сравнительная оценка содержания кофилина 1 в сыворотке крови и лизате взвеси лейкоцитов периферической крови больных плоскоклеточным раком гортани и гортаноглотки и здоровых волонтеров.

Материал и методы

Материалом для анализа явилась сыворотка крови и лейкоцитарная взвесь 12 больных РГ (T1–4N0–2M0) с гистологически верифицированным диагнозом, и 10 здоровых лиц сопоставимого возраста (группа контроля). Средний возраст больных составил 54±5,3 года. Материал для исследования забирался до проведения специального лечения по утвержденному протоколу. Доля нейтрофилов в лейкоцитарной суспензии составляла 50–60 %. Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии

с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан», получено разрешение этического комитета института. Анализ образцов проводили с помощью ИФА-набора Human Cofilin 1 ELISA Kit ELISA kit (cloud-clone corp., USA) на микропланшетном ИФА-ридере Anthos Reader 2020 (Biochrom).

Результаты, представленные в таблице, выражены как содержание белка (нг) в 1 мл сыворотки крови. Статистический анализ проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0. Результаты, представлены в таблице как Me (Q1;Q3), где Me – медиана, Q1 и Q3 – нижний и верхний квартили, N– количество человек, p – уровень значимости различий.

Результаты

В результате проведенных исследований получены предварительные данные о суммарном содержании кофилина 1 в сыворотке крови и лейкоцитарной взвеси больных РГ и здоровых доноров (таблица). Суммарное содержание кофилина 1 в сыворотке крови больных РГ (T1–4N0–2M0) достоверно не отличалось от аналогичного показателя у здоровых добровольцев ($p=0,11$). В лейкоцитарной взвеси, выделенной из крови больных РГ, содержание кофилина 1 было намного меньше, чем в сыворотке крови этих же больных и в лейкоцитарной взвеси здоровых доноров (таблица). Нужно отметить, что у здоровых доноров концентрация этого белка в лейкоцитарной взвеси существенно превышала его концентрацию в сыворотке ($p=0,001$), тогда как у больных РГ в лейкоцитарной взвеси регистрировалось очень низкое содержание кофилина – ниже порогового уровня чувствительности набора, используемого для ИФА ($\leq 0,05$).

При анализе содержания кофилина 1 в сыворотке крови больных РГ с разными стадиями заболевания не было выявлено различий между подгруппами ($p \geq 0,05$) (рис. 1А).

Статистический анализ содержания кофилина 1 в лейкоцитарной взвеси на данном этапе работы не проводился из-за низкого содержания этого белка, недостаточного для чувствительности ИФА. Анализ содержания кофилина 1 в сыворотке крови больных РГ в зависимости от наличия метастазов в регионарный шейный аппарат (рис. 1Б) и от степени дифференцировки опухоли (рис. 1В) также не выявил достоверных различий.

У больных РГ, вошедших в исследование, дополнительно был проведен анализ связи содержания кофилина 1 в сыворотке крови с риском развития рецидивов после комбинированного лечения в течение двух лет (рис. 2).

Показано, что содержание кофилина 1 в сыворотке крови у больных РГ без рецидивов было ниже на 30 %, чем у больных РГ с рецидивами (метастазы или продолженный рост) в течение 2 лет после комбинированного лечения (рис. 2).

Показано, что содержание кофилина 1 в сыворотке крови у больных РГ без рецидивов было ниже на 30 %, чем у больных РГ с рецидивами (метастазы или продолженный рост) в течение 2 лет после комбинированного лечения (рис. 2).

Заключение

В целом результаты работы указывают на участие кофилина 1 в патогенезе опухолевого процесса при плоскоклеточном раке гортани и гортаноглотки и не противоречат литературным данным. Низкое содержание кофилина 1 в лейкоцитарной взвеси больных РГ, возможно, отражает нарушение миграционной активности лейкоцитов на фоне сформировавшейся опухоли, что не противоречит современным представлениям об иммунопатогенезе опухолевого роста. Однако эти результаты нуждаются в более детальном изучении. Дальнейшего изучения требуют также данные об изначально повышенном содержании кофилина 1 у больных РГ с развившимися в течение 2 лет рецидивами. В целом, полученные результаты дополняют знания о молекулярных механизмах опухолевого роста.

Таблица

Сравнительный анализ содержания кофилина 1 в сыворотке и лейкоцитарной взвеси в группах больных раком гортани и гортаноглотки и здоровых волонтеров

	N	Рак гортани и гортаноглотки	Контроль	p
Кофилин в сыворотке крови	12	1,22 (0,85; 1,09)	0,81 (0,76; 0,90)	0,11
Кофилин в лейкоцитарной взвеси	10	$\leq 0,05$	1,52 (1,10; 2,04)	-
p1		-	0,001	

Примечание: p – уровень значимости различий между группами «рак гортани и гортаноглотки» и «контроль»; p1 – уровень значимости различий между содержанием кофилина в сыворотке крови и в лейкоцитарной взвеси.

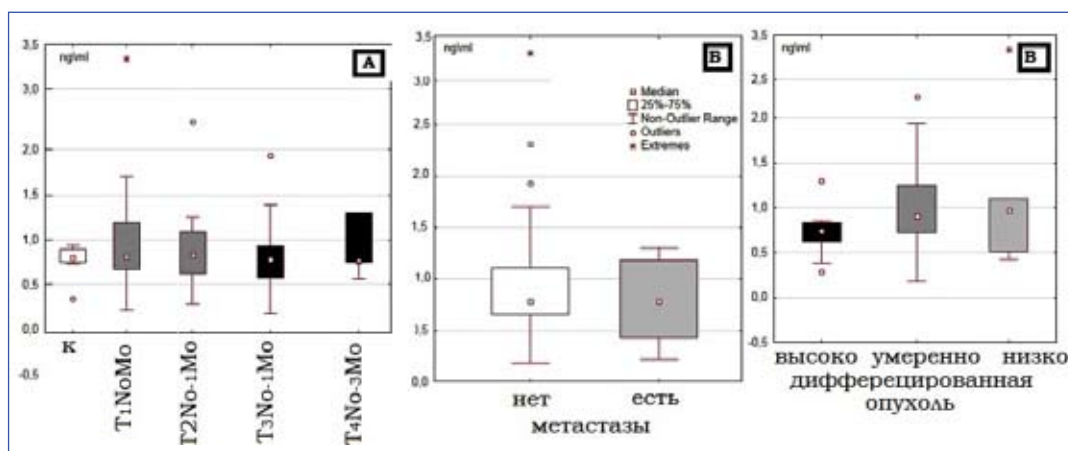


Рис 1. Содержание кофилина 1 в сыворотке крови в зависимости от тяжести патологического процесса

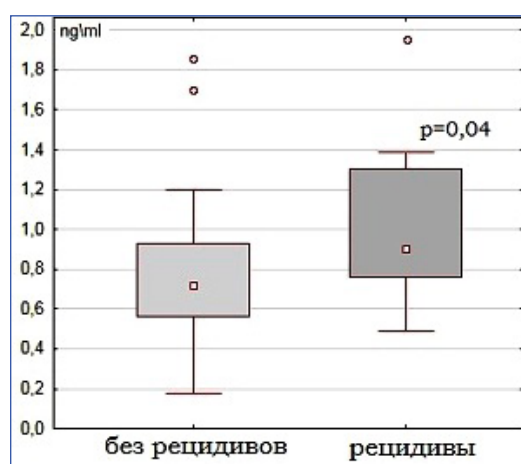


Рис 2. Содержание кофилина 1 в сыворотке крови в зависимости от выявления рецидивов в течение двух лет после проведения специального противоопухолевого лечения

ЛИТЕРАТУРА

1. Чойнзонов Е.Л., Кондакова И.В., Спирина Л.В., Лебедев И.Н., Гольдберг В.Е., Чижевская С.Ю., Шишкин Д.А., Уразова Л.Н., Какурина Г.В., Бычков В.А., Хричкова Т.Ю., Мельников А.А. Плоскоклеточный рак головы и шеи: молекулярные основы патогенеза. Томский научно-исследовательский институт онкологии. М.: Наука, 2016. 221 с.
2. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л., Шишкин Д.А., Черемисина О.В. Особенности протеома сыворотки крови больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи. Сибирский онкологический журнал. 2013; 2: 62–66.
3. Малахова Е.В., Кондакова И.В., Черемисина О.В., Какурина Г.В., Меньшиков К.Ю. Экспрессия генов матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в тканях опухолей у больных раком гортани и гортаноглотки. Сибирский онкологический журнал. 2012; 1: 3640.
4. Ковалева Т.Ф., Максимова Н.С., Жуков И.Ю., Периш В.И., Мухина И.В., Гайнуллин М.Р. Кофилин: молекулярно-клеточные функции и роль в функционировании нервной системы. Нейрохимия. 2019; 36(1): 14–23.
5. Roussos E.T., Condeelis J.S., Patsialou A. Chemotaxis in cancer. Nat Rev Cancer. 2011 Jul 22; 11(8): 573–87. doi: 10.1038/nrc3078.

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ НА ФОНЕ СТЕРЕОТАКСИЧЕСКОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ МЕТАСТАЗОВ ПЕЧЕНИ

А.Ю. Зозуля, С.Н. Новиков, И.А. Балдуева, Н.В. Емельянова, Д.В. Гирдюк, Е.И. Тюреева, Е.А. Федосова, Ф.Е. Антипов

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Цель – изучить динамику иммунного статуса у пациентов с метастатическими формами колоректального рака (КРР) на фоне стереотаксической лучевой терапии (СТЛТ). **Материал и методы.** Проведен анализ иммунологических показателей крови до облучения, через 3–4 нед и через 6–8 нед после осуществления СТЛТ у больных с КРР, имеющих олигометастазы в печени. Все образцы периферической крови анализировали методом проточной цитометрии. Статистический анализ проводили с использованием критериев Фридмана и Немени. **Результаты.** В динамике, через 3–4 нед и через 6–8 нед после СТЛТ определяется статистически значимое повышение содержания активированных Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺). Напротив, через 3–4 нед после СТЛТ наблюдается снижение показателей В-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺). **Выводы.** Таким образом, полученные результаты позволяют сформулировать выводы об интенсификации Т-клеточной активации преимущественно в эффекторной фазе (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺) на фоне снижения активности антителопродуцирующих клеток (CD3⁺CD19⁺).

Ключевые слова: метастатический опухолевый процесс; колоректальный рак; стереотаксическая лучевая терапия (СТЛТ); иммунотерапия; иммунный статус; активация Т-лимфоцитов.

DYNAMICS OF INDICATORS OF THE IMMUNE STATUS IN PATIENTS WITH ADVANCED COLORECTAL CANCER DURING STEREOTACTIC BODY RADIATION THERAPY OF LIVER METASTASES

A.Yu. Zozulya, S.N. Novikov, I.A. Baldueva, N.V. Emelyanova, D.V. Girdyuk,
E.I. Tyuryaeva, E.A. Fedosova, F.E. Antipov

FSBU «N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology» Ministry of health of Russian Federation, St. Petersburg, Russia

Abstract

Purpose: to study the dynamics of the immune status in patients with metastatic forms of colorectal cancer (CRC) during stereotactic body radiation therapy (SBRT). **Material and Methods.** Analysis of the immunological parameters of blood was conducted before irradiation, via 3–4 weeks and via 6–8 weeks after SBRT in patients with CRC with liver oligometastases. All peripheral blood samples were analyzed by flow cytometry. Statistical analysis was performed using the Friedman and Nemeny criteria. **Results.** In dynamics, via 3–4 weeks and via 6–8 weeks after SBRT, we detected statistically significant increase in activated T-helpers (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺). On the contrary, 3–4 weeks after the end of SBRT, decrease in B-lymphocyte counts (CD3⁺CD19⁺) is observed. **Conclusions.** Thus, we detected the intensification of T-cell activation in the effector phase (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺) against decreasing in the activity of antibody-producing cells (CD3⁺CD19⁺).

Key words: metastatic tumor process; colorectal cancer; stereotactic radiation therapy (SBRT); immunotherapy; immune status; activation of T-lymphocytes.

Актуальность

Традиционно лучевая терапия рассматривается как метод локорегионарного воздействия на опухоль и зоны регионарного метастазирования. На протяжении последнего десятилетия появляется всё больше указаний, что радиотерапии, в особенности стереотаксической лучевой терапии (СТЛТ), свойственны и системные эффекты, наиболее значимыми и обсуждаемыми из которых являются иммунологические [1]. Среди вышеуказанных иммунологических явлений отдельного внимания заслуживает так называемый абскопальный эффект. «Эффект свидетеля» (коммунальный эффект, абскопальный эффект) – немишеный эффект радиации, заключающийся в передаче радиационных сигналов от облученных клеток необлученным [2, 3]. Однако в рутинной клинической практике данный феномен встречается крайне редко.

На настоящий момент иммунологические изменения, которые встречаются при радиотерапии, изучены недостаточно. Описание механизмов и наблюдаемых явлений в иммунологической сфере на фоне проведения стереотаксической лучевой терапии представлено в ограниченном перечне публикаций, а в отечественной литературе практически не встречается.

Цель – изучение основных сдвигов и изменений показателей иммунного статуса у пациентов с метастатическим колоректальным раком на фоне СТЛТ.

Материал и методы

В 3 контрольных точках (до начала лучевого лечения (точка 1), через 3–4 нед (точка 2) и через 6–8 нед (точка 3) после завершения) была исследована динамика иммунного статуса у 15 пациентов (8 женщин и 7 мужчин; средний возраст пациентов – 64,2 года [95 % ДИ 60,52 – 67,88] с распространенными формами колоректального рака (слепая кишка – 1; ободочная кишка – 4; сигмовидная кишка – 1; ректосигмоидное соединение – 5; прямая кишка – 4) с метастатическим поражением печени, подвергшихся стереотаксической лучевой терапии в условиях ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

СТЛТ проводилась на линейном ускорителе электронов «Novalis Tx» EX=6 МэВ. При облучении метастатических очагов в печени использовали следующие режимы фракционирования дозы: 3 фракции по 15 Гр, 3 фракции по 20 Гр.

Имунофенотипирование лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии на цитофлюориметре FACS Canto™ II (BD Bioscience, США); для обработки данных использовали программное обеспечение BD FACSDiva (версия v 8.0.1). Оценивали изменения количества Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻); В-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺); Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺); активированных Т-хелперов с различными фенотипами (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺ и CD4⁺CD25⁺); цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺); активированных цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺); NK-клеток (CD3⁺CD16⁺56⁺); NKT-клеток (CD3⁺CD16⁺56⁺); Т-регуляторных лимфоцитов (CD4⁺CD25^{bright}CD127^{low}); двойных положительных Т-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺CD8⁺); двойных отрицательных Т-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁻CD8⁻); иммунорегуляторного индекса (CD4⁺/CD8⁺).

Систематизация и статистический анализ исходной информации производили в Microsoft Excel 2010 с помощью R (ver. 3.5.3). Для определения статистически значимых изменений динамики показателей применяли критерий Фридмана. Множественные попарные сравнения в случае отклонения нулевой гипотезы об отсутствии различий проводили при помощи теста Nemenyi (попарное р).

Результаты

В 1-й и 2-й контрольных точках по сравнению с исследованием до лечения выявлено статистически значимое повышение активированных Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺) [χ^2 Фридмана = 17,2, $p < 0,001$; попарное $p = 0,001$ и 0,003 соответственно] (рис.1).

В первой контрольной точке (после лечения) по сравнению с исследованием до лечения были обнаружены статистически значимые различия: снижение количества В-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺) [χ^2 Фридмана = 12,9; $p = 0,001$; попарное $p = 0,001$] (рис.2).

Статистически значимых различий в содержании Т-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺); Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺); активированных Т-хелперов (CD4⁺CD25⁺); цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺); активированных цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺); двойных положительных Т-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺CD8⁺); двойных отрицательных Т-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁻CD8⁻); цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺); NK-клеток (CD3⁺CD16⁺56⁺); NKT-клеток (CD3⁺CD16⁺56⁺); иммунорегуляторного индекса (CD4⁺/CD8⁺); Т-регуляторных лимфоцитов (CD4⁺CD25^{bright}CD127^{low}) через 3–4 и 6–8 нед после завершения стереотаксической лучевой терапии у исследуемой группы пациентов не было обнаружено.

Выводы

Полученные результаты позволяют сформулировать выводы об интенсификации Т-клеточной активации преимущественно в эффекторной фазе (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺) на фоне снижения активности антителопродуцирующих клеток (CD3⁺CD19⁺). Из вышесказанного следует, что у пациентов с метастатическими формами КРР на фоне стереотаксической лучевой терапии очагов в печени активно развивается клеточно-опосредованный иммунный ответ на фоне угнетения показателей гуморального иммунитета.

Заключение

Стереотаксическая лучевая терапия играет важную роль в лечении пациентов с олигометастатическими формами колоректального рака и других первичных локализаций. В эпоху онкоиммунологии существует огромный интерес к сочетанию облучения с системной иммунотерапией, в связи с чем понимание иммунологических механизмов и изменений на фоне лучевого лечения сможет помочь в реализации комбинированных терапевтических подходов.

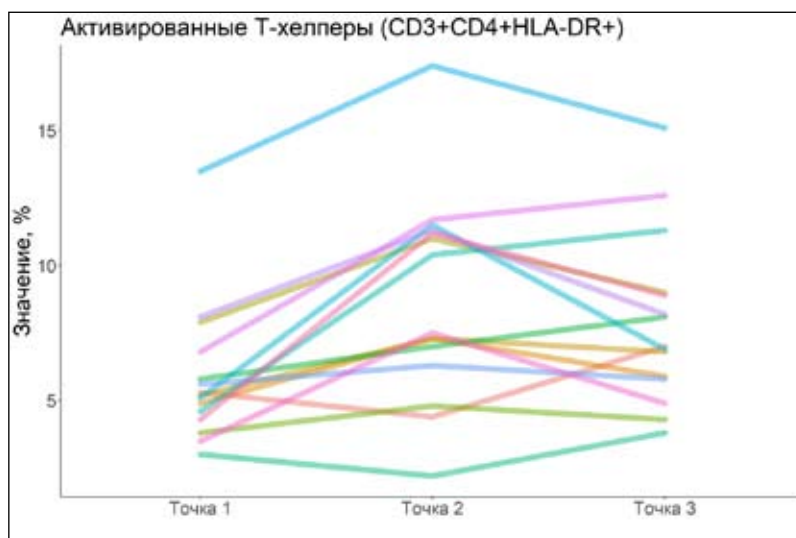


Рис. 1 Динамика (визуальный ряд) активированных Т-хелперов на фоне СТЛТ

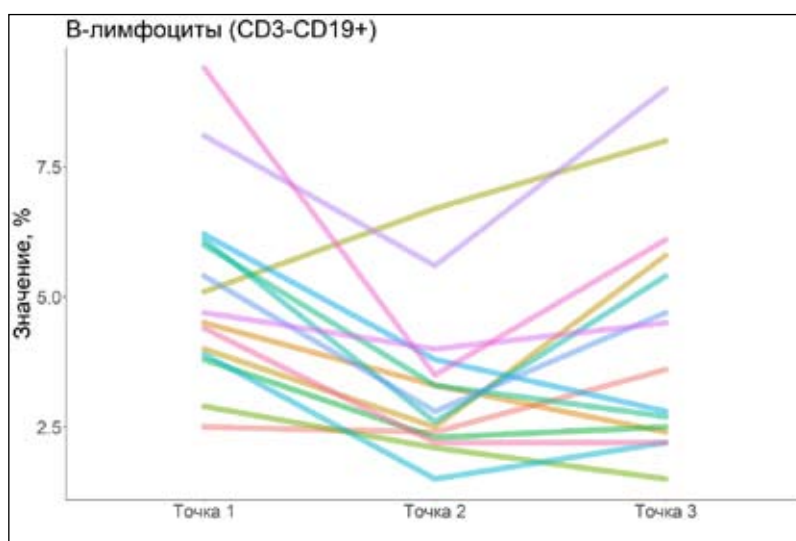


Рис. 2 Динамика (визуальный ряд) В-лимфоцитов на фоне СТЛТ

ЛИТЕРАТУРА

1. Demaria S., Ng B., Devitt M.L., Babb J.S., Kawashima N., Liebes L., Formenti S.C. Ionizing radiation inhibition of distant untreated tumors (abscopal effect) is immune mediated. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004 Mar 1; 58(3): 862–70. doi: 10.1016/j.ijrobp.2003.09.012.
2. Луттл Д.Б. Немишенные эффекты ионизирующих излучений: выводы применительно к низкодозовым воздействиям. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2007; 47(3): 262–272.
3. Mothersill C., Seymour C. Relevance of radiation-induced bystander effects for environmental risk assessment. *Radiat Biol Radioecol.* 2002 Nov-Dec; 42(6): 585–7.

УРОВЕНЬ HIF-1 α И TGF- β 1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОК С ИНВАЗИВНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.Ю. Зубарева^{1,2}, Д.Н. Колчина¹, Л.Р. Давлетьярова¹, М.Р. Зубарев¹

ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер», г. Оренбург, Россия¹
ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет», г. Оренбург, Россия²

Аннотация

В настоящее время связь сывороточных уровней гипоксией индуцируемого фактора (HIF-1 α) и трансформирующего фактора роста β 1 (TGF- β 1) с клинико-морфологическими характеристиками

и молекулярно-биологическими подтипами рака молочной железы (РМЖ) изучена недостаточно. В проспективное исследование случай-контроль были включены 59 пациенток с впервые выявленным инвазивным РМЖ. Методом иммуноферментного анализа исследованы уровни HIF-1 α и TGF- β 1 в сыворотке крови пациенток. Полученные результаты сопоставлены с клинико-морфологическими и молекулярно-биологическими особенностями опухоли. Было установлено, что уровень TGF- β 1 коррелирует с наличием микрокальцинатов на маммограммах ($p=0,009$) с молекулярно-биологическим подтипом опухоли ($p=0,042$) и наличием отдаленных метастазов ($p=0,03$). Уровень TGF- β 1 составил $393,7\pm166,1$ пг/мл и $330,4\pm102,3$ пг/мл соответственно при наличии и отсутствии микрокальцинатов на маммограммах ($p=0,22$); $477,8\pm130,2$ пг/мл, $313,2\pm110,3$ пг/мл, $295,3\pm64,5$ пг/мл, $522,3\pm72,1$ пг/мл и $328,0\pm129,8$ пг/мл соответственно при люминальном А, люминальном В, Her2-негативном, люминальном В, Her2-позитивном, Her2-позитивном и тройном негативном РМЖ ($p=0,096$); $349,8\pm142,8$ пг/мл, $356,9\pm119,8$ пг/мл и $289,9\pm67,1$ пг/мл при I – IIa, IIb–IIIc и IV стадиях РМЖ соответственно ($p=0,38$). В свою очередь, уровень HIF-1 α коррелировал с наличием отдаленных метастазов ($p=0,00035$) и наличием микрокальцинатов на маммограммах ($p=0,01$). Уровень HIF-1 α составил $0,12\pm0,1$ нг/мл и $0,07\pm0,06$ нг/мл соответственно при наличии и отсутствии отдаленных метастазов ($p=0,01$) и $0,077\pm0,07$ нг/мл и $0,056\pm0,08$ нг/мл при наличии и отсутствии микрокальцинатов на маммограммах соответственно ($p=0,07$). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований для установления прогностической и предсказывающей роли HIF-1 α и TGF- β 1 при РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, молекулярно-биологические подтипы, микрокальцинаты, HIF-1 α , TGF- β 1.

LEVELS OF HIF-1 α AND TGF- β 1 IN SERUM OF PATIENTS WITH INVASIVE BREAST CANCER

E.Yu. Zubareva^{1,2}, D.N. Kolchina¹, L.R. Davletyarova¹, M.R. Zubarev¹

Orenburg Regional Oncology Clinic, Orenburg, Russia¹
Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia²

Abstract

Currently, the relationship of the serum levels of hypoxia inducible factor 1 α (HIF-1 α) and transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) with clinical and morphological characteristics and molecular biological subtypes of breast cancer (BC) is not well understood. In this prospective case-control study, 59 patients with newly diagnosed invasive BC were included. The levels of HIF-1 α and TGF- β 1 in the blood serum were investigated using the ELISA test. The results are compared with the clinical, morphological and molecular biological characteristics of BC. It was found that the level of TGF- β 1 correlates with the presence of microcalcifications on mammograms ($p=0.009$), with BC molecular biological subtype ($p=0.042$) and with the presence of distant metastases ($p=0.03$). The level of TGF- β 1 was $393,7\pm166,1$ pg/ml and $330,4\pm102,3$ pg/ml, respectively, in the presence and absence of microcalcifications in mammograms ($p=0,22$); $477,8\pm130,2$ pg/ml, $313,2\pm110,3$ pg/ml, $295,3\pm64,5$ pg/ml, $522,3\pm72,1$ pg/ml and $328,0\pm129,8$ pg/ml, respectively in Luminal A, Luminal B, Her2-negative, Luminal B, Her2- positive, Her2 – positive and triple negative BC ($p=0,096$); $349,8\pm142,8$ pg/ml, $356,9\pm119,8$ pg/ml and $289,9\pm67,1$ pg/ml, respectively in I – IIa, IIb–IIIc and IV stages of BC ($p=0,38$). In turn, the level of HIF-1 α correlated with the presence of distant metastases ($p= 0,00035$) and the presence of microcalcifications in mammograms ($p= 0,01$). The level of HIF-1 α was 0.12 ± 0.1 ng/ml and 0.07 ± 0.06 ng/ml, respectively in the presence and absence of distant metastases ($p=0.01$); 0.077 ± 0.07 ng/ml and 0.056 ± 0.08 ng/ml, respectively in the presence and absence of microcalcifications in mammograms ($p= 0.07$). Thus, the results indicate the need for further studies to establish the prognostic and predictive role of HIF-1 α and TGF- β 1 in BC.

Key words: breast cancer, molecular biological subtype, microcalcifications, HIF-1 α , TGF- β 1.

Актуальность

К числу наиболее перспективных молекулярных маркеров, вовлеченных в процессы, связанные с опухолевой прогрессией, относятся индуцируемый фактор (HIF-1 α) и трансформирующий фактор роста β (TGF β 1). Установлено, что при РМЖ гиперэкспрессия HIF-1 α наблюдается примерно в 24–56 % случаев [1, 2], и ее наличие связано с усилением ангиогенеза [3], повышением степени злокачественности опухоли и ухудшением прогноза заболевания [4]. TGF β 1 – многофункциональный цитокин, который на ранних стадиях РМЖ действует как опухолевый супрессор, ингибируя пролиферацию эпителиальных клеток, индуцируя апоптоз и снижая активность теломеразы. В то же время на более поздних стадиях TGF β 1

стимулирует прогрессирование опухоли, активируя процессы ЭМТ, ангиогенеза, иммунной супрессии [5, 6]. Следует отметить, что исследования, связанные с изучением роли HIF-1 α и TGF β 1 в прогрессировании РМЖ, проводились в основном с определением уровня экспрессии данных маркеров в опухолевой ткани методом иммуногистохимии. Исследований, касающихся значимости определения уровня HIF-1 α и TGF- β 1 в сыворотке крови, крайне мало, и результаты их достаточно противоречивы.

Цель исследования – оценить связь уровней HIF-1 α и TGF- β 1 в сыворотке крови у пациенток с РМЖ с клинико-морфологическими и молекулярно-биологическими характеристиками опухоли.

Материал и методы

В исследование включены 59 пациенток с впервые выявленным инвазивным РМЖ. Средний возраст пациенток составил 53,3 года $\pm$ 12,2 (30–77 лет). Уровни HIF-1 α и TGF- β 1 в сыворотке крови определяли с помощью иммуноферментного анализа. Полученные данные сопоставлены с клинико-морфологическими характеристиками и молекулярно-биологическими подтипами РМЖ. Статистическую обработку результатов выполняли с использованием программы Statistica 6.

Результаты

У пациенток, включенных в исследование, I–IIa стадии РМЖ были диагностированы в 44 %, IIb–IIIc – в 45,8 %, IV – в 10,2 % случаев. Инвазивный РМЖ неспецифического типа выявлен в 45,8 % наблюдений, инвазивный дольковый рак – в 37,3 %, другие гистологические типы – в 16,9 %. Опухоли низкой степени злокачественности наблюдались у 3,4 % пациенток, средней – у 57,6 % и высокой – у 39 %. Люминальный А молекулярно-биологический подтип РМЖ диагностирован в 10,5 % наблюдений, люминальный В, Her2-негативный – в 59,6 %, люминальный В, Her2-позитивный – в 15,8 %, Her2-позитивный – в 5,3 % и тройной негативный – в 8,8 % наблюдений. Микрокальцинаты на маммографии выявлены в 24 % случаев.

Установлено, что уровень HIF-1 α коррелировал с наличием микрокальцинатов на маммограммах ($p=0,01$) и наличием отдаленных метастазов ($p=0,0003$). Уровень TGF- β 1, в свою очередь, коррелировал с наличием микрокальцинатов на маммограммах ($p=0,009$), молекулярно-биологическим подтипом опухоли ($p=0,04$) и наличием отдаленных метастазов ($p=0,03$). Значения уровней HIF-1 α и TGF- β 1 в зависимости от клинико-морфологических характеристик и молекулярно-биологического подтипа РМЖ представлены в таблице.

Согласно полученным данным, уровень HIF-1 α был достоверно выше при наличии отдаленных метастазов ($p=0,01$) и значимо выше – при наличии микрокальцинатов на маммограммах ($p=0,07$). Так, уровень HIF-1 α выше 0,059 нг/мл (пороговое значение) достоверно чаще наблюдался при наличии отдаленных метастазов (в 8; 3,8 и 40 % случаев соответственно при I–IIa, IIb–IIIc и IV стадиях, $p=0,009$).

В то же время повышенные уровни TGF- β 1 были выявлены при наличии микрокальцинатов на маммограммах ($p=0,22$), при люминальном А и Her2-позитивном молекулярно-биологических подтипах РМЖ (0,096), а наиболее низкие – при наличии отдаленных метастазов РМЖ ($p=0,39$), однако эти различия статистически недостоверны. Повышенный уровень TGF- β 1 (383,4 пг/мл и выше – 65 перцентиль) был отмечен: при наличии микрокальцинатов у 50 % пациенток, при отсутствии – у 23,1 % ($p=0,07$); при I–IIa стадии – в 36 % случаев, при IIb–IIIc – в 38 %, при IV – 0 % ($p=0,14$).

Выводы

Уровни HIF-1 α и TGF- β наиболее значимо коррелировали с наличием отдаленных метастазов, микрокальцинатов на маммограммах и молекулярно-биологическими подтипами РМЖ.

Уровень HIF-1 α был достоверно выше у пациенток с отдаленными метастазами. Аналогичные результаты были получены Feng-Feng Cai, 2016 [7].

Наиболее низкие значения TGF- β в сыворотке крови были отмечены у пациенток с отдаленными метастазами. Эти данные соответствуют результатам, полученным в исследовании С. Panis, в котором наиболее высокие значения маркера были отмечены у пациенток с ранними стадиями РМЖ, а наиболее низкие – при наличии метастазов [8].

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований для установления прогностической и предсказывающей роли HIF-1 α и TGF- β 1 при РМЖ.

Таблица

Уровни HIF-1α и TGF-β1 в зависимости от клинико-морфологических характеристик и молекулярно-биологического подтипа РМЖ

		Уровни HIF-1α и TGF-β1		Уровень значимости (p)
		HIF-1α	TGF-β1	
Возраст				
До 35 лет		0,059±0,00	381,6±202,1	p ¹ =0,38 p ² =0,43
35–55 лет		0,066±0,020	378,9±130,8	
Старше 55 лет		0,078±0,084	332,4±118,9	
Стадия				
I–IIa		0,076±0,085	349,8±142,8	p ¹ =0,03 p ² =0,38
IIb–IIIc		0,060±0,006	356,9±119,8	
IV		0,119±0,096	289,9±67,1	
Т-стадия				
T1		0,0597±0,0122	354,2±161,4	p ¹ =0,89 p ² =0,98
T2		0,086±0,092	353,2±109,9	
T3		0,059±0,00	410,1±142,1	
T4		0,062±0,009	304,2±103,7	
N-стадия				
N0		0,0758±0,088	352,2±148,5	p ¹ =0,58 p ² =0,77
N1		0,065±0,020	323,4±106,1	
N2		0,08±0,063	376,5±122,3	
N3		0,059±0,00	321,5±88,8	
М-стадия				
M0		0,0679±0,059	351,5±129,9	p ¹ =0,011
M1		0,1194±0,096	289,9±67,1	p ² =0,39
Наличие микрокацинатов на маммограммах				
Нет		0,078±0,077	330,4±102,3	p ¹ =0,07
Есть		0,057±0,008	393,7±166,1	p ² =0,22
Гистологический тип опухоли				
Инвазивный РМЖ неспецифического типа		0,0679±0,05	315,2±123,7	p ¹ =0,96 p ² =0,91
Инвазивный дольковый РМЖ		0,065±0,019	364,7±122,5	
Прочие гистологические типы		0,102±0,136	366,5±137,0	
Молекулярно-биологический подтип				
Люминальный А		0,059±0,00	477,8±130,2	p ¹ =0,38 p ² =0,096
Люминальный В, Her2-негативный		0,067±0,04	313,2±110,3	
Люминальный В, Her2-позитивный		0,069±0,03	295,3±64,5	
Her2-позитивный		0,059±0,00	522,3±72,1	
Тройной негативный		0,065±0,014	328,0±129,8	

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhang W., Shi X., Peng Y., Wu M., Zhang P., Xie R., Wu Y., Yan Q., Liu S., Wang J. HIF-1α Promotes Epithelial-Mesenchymal Transition and Metastasis through Direct Regulation of ZEB1 in Colorectal Cancer. PLoS One. 2015 Jun 9; 10(6): e0129603. doi: 10.1371/journal.pone.0129603.
2. Zonneville J., Safina A., Truskinovsky A.M., Arteaga C.L., Bakin A.V. TGF-β signaling promotes tumor vasculature by enhancing the pericyte-endothelium association. BMC Cancer. 2018 Jun 19; 18(1): 670. doi: 10.1186/s12885-018-4587-z.
3. Nalwoga H., Ahmed L., Arnes J.B., Wabinga H., Akslen L.A. Strong Expression of Hypoxia-Inducible Factor-1α (HIF-1α) Is Associated with Ax1 Expression and Features of Aggressive Tumors in African Breast Cancer. PLoS One. 2016 Jan 13; 11(1): e0146823. doi: 10.1371/journal.pone.0146823.
4. D'Ignazio L., Batie M., Rocha S. Hypoxia and Inflammation in Cancer, Focus on HIF and NF-κB. Biomedicines. 2017 May 9; 5(2): pii: E21. doi: 10.3390/biomedicines5020021.
5. Dave H., Shah M., Trivedi S., Shukla S. Prognostic utility of circulating transforming growth factor beta 1 in breast cancer patients. Int J Biol Markers. 2012 Jan-Mar; 27(1): 53–9. doi: 10.5301/IJBM.2011.8736.
6. Бабышкина Н.Н., Малиновская Е.А., Стахеева М.Н., Волкоморов В.В., Уфандеев А.А., Слонимская Е.М. Роль трансформирующего ростового фактора TGF-β1 в патогенезе рака молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2010; 6(42): 63–70.
7. Cai F.F., Xu C., Pan X., Cai L., Lin X.Y., Chen S., Biskup E. Prognostic value of plasma levels of HIF-1α and PGC-1α in breast cancer. Oncotarget. 2016 Nov 22; 7(47): 7779377806. doi: 10.18632/oncotarget.12796.
8. Panis C., Herrera A.C., Victorino V.J., Aranome A.M., Cecchini R. Screening of circulating TGF-β levels and its clinicopathological significance in human breast cancer. Anticancer Res. 2013 Feb; 33(2): 737–42.

АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ АССОЦИИ ВПЧ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ОНКОПАТОЛОГИЙ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЙ

М.К. Ибрагимова¹, А.М. Певзнер^{1,2}, М.М. Цыганов¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Проблема ВПЧ (вирус папилломы человека)-ассоциированных заболеваний крайне актуальна в настоящее время. Основной эпидемиологической особенностью данной инфекции является её широкое распространение. Известно, что папилломавирусная инфекция (ПВИ) является одной из наиболее распространенных инфекций, передаваемых половым путем. При этом повсеместно распространенная папилломавирусная инфекция в настоящее время не имеет типоспецифической терапии. Однако уже выявлены и изучены высоко- и низкоонкогенные типы вируса папилломы человека, ассоциированные с риском возникновения и малигнизации плоскоклеточных интраэпителиальных поражений аногенитальной области (шейки матки, полового члена, вульвы, влагалища, анального канала), головы и шеи, кожи, а также других злокачественных новообразований (ЗНО). Известно также, что, помимо ЗНО, ВПЧ является этиологическим агентом различных видов вирусных бородавок, аногенитальных кондилом и папилломатоза гортани [1]. В настоящий момент лишь в немногочисленных работах особое внимание уделяется вопросу изучения влияния вируса папилломы человека на развитие таких онкопатологий, как рак легкого, рак молочной железы, рак яичника и т. д. Обсуждаются пути инфицирования, возможные молекулярные механизмы злокачественной трансформации с участием ВПЧ и значение инфицированности для постановки тактики лечения и выживаемости больных. Но так или иначе, данный вопрос остается открытым. Таким образом, **целью данной работы** явилась оценка ассоциации инфицированности ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) с риском развития ЗНО 5 локализаций с приведением данных метаанализов. Согласно полученным результатам, необходимо отметить значительный относительный риск развития рака легкого, гортани и ротоглотки, прямой и толстой кишки, молочной железы и рака яичника при наличии инфицирования ВПЧ. Это еще раз доказывает важность своевременного мониторинга папилломавирусной инфекции и подчеркивает необходимость дальнейшего включения ВПЧ-вакцинации в Национальный календарь профилактических прививок.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, колоректальный рак, рак гортани и ротоглотки, рак молочной железы, рак легкого, рак яичника, метаанализ.

ANALYSIS OF THE RESULTS OF STUDIES OF THE ASSOCIATION OF HPV WITH THE RISK OF DEVELOPING CANCER OF VARIOUS LOCALIZATIONS

М.К. Ibragimova¹, А.М. Pevzner^{1,2}, М.М. Tsyganov¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

The problem of HPV (human papilloma virus) – associated diseases is extremely urgent at present. The main epidemiological feature of this infection is its wide distribution. Human papillomavirus infection is known to be one of the most common sexually transmitted infections. Moreover, the ubiquitous papillomavirus infection currently does not have type-specific therapy. However, to date, high and low oncogenic types of human papillomavirus have been identified and studied, associated with the risk of occurrence and malignancy of squamous intraepithelial lesions of the anogenital region (cervix, penis, vulva, vagina, anal canal), head and neck, skin, and also other malignant neoplasms. It is also known that in addition to malignant neoplasms, HPV is the etiological agent of various types of viral warts, anogenital warts, and laryngeal papillomatosis [1]. Currently, only a few studies pay special attention to the study of the effect of human papillomavirus on the development of such malignant neoplasms as lung cancer, breast cancer, ovarian cancer, etc. Infection

pathways, possible molecular mechanisms of malignant transformation involving HPV are discussed and the importance of infection for setting treatment tactics and patient survival. But anyway, this issue remains open. Thus, the aim of this work was to assess the association of HPV infection with high carcinogenic risk with the risk of developing malignant neoplasms of 5 localizations with the data from meta-analyses. According to the results, it is necessary to note a significant relative risk of developing cancer of the lung, larynx and oropharynx, rectum and colon, breast and ovarian cancer in the presence of HPV infection. Therefore, monitoring of human papillomavirus infection is of great importance, and further inclusion of HPV vaccination in the National calendar of vaccinations is needed.

Key words: human papillomavirus, colorectal cancer, cancer of the larynx and oropharynx, breast cancer, lung cancer, ovarian cancer, meta-analysis.

Актуальность

Проблема ВПЧ-ассоциированных заболеваний крайне актуальна, она носит не только индивидуальный характер, но прежде всего популяционный. Основной эпидемиологической особенностью данной инфекции является ее широкое распространение. На протяжении всей жизни 8 из 10 человек инфицируются ВПЧ, и у 2–5 % из них ВПЧ-инфекция персистирует, приводя к онкологическим заболеваниям [2]. При этом в настоящее время данный вирус все более активно рассматривается в качестве этиологического фактора не только рака шейки матки [3], но и опухолей других локализаций.

Целью работы является анализ мировых литературных данных о распространенности ВПЧ у больных с наличием ЗНО 5 локализаций (толстый кишечник, гортань и ротоглотка, молочная железа, легкое и яичник).

Материал и методы

Был проведен поиск на глубину 26 лет по базам данных PubMed и Web of Science. Проведен метаанализ распространенности ВПЧ при помощи программы Comprehensive Meta-Analysis 3.0. Критериями включения исследования в метаанализ были определение ВПЧ в опухоли методом ПЦР и наличие контроля в виде нормальной ткани этого же органа. В качестве исследуемых образцов использовались парафиновые блоки и замороженная ткань. В результате анализа литературных данных в метаанализ по колоректальному раку (КРР) было включено 19 публикаций (в которых проанализированы данные по инфицированности 2049 опухолей и 830 образцов нормальной ткани). Для рака гортани и ротоглотки был проведен анализ 28 публикаций с общим числом больных – 4381. Метаанализ для рака молочной железы (РМЖ) включал 29 исследований (2446 опухолей молочной железы и 1144 образца нормальной ткани). Метаанализ для рака легкого (РЛ) включал 30 публикаций – 2916 опухолей и 1487 образцов нормальной ткани. Метаанализ для рака яичника включал 29 публикаций – 2173 опухоли и 872 образца нормальной ткани.

Результаты

Частота инфицированности ВПЧ в опухоли при КРР составила 16 %, в нормальной ткани – 3 %. В результате метаанализа установлен статистически значимый уровень распространенности ВПЧ в опухолевой ткани, результирующий относительный риск (RR) развития КРР при ВПЧ-инфекции составил $RR(95 \% CI)=2,97(1,42-6,22)$ при $p = 0,0039$ (рис. 1) [4].

Также показана высокая частота инфицированности ВПЧ карцином головы и шеи – 40,8 % (1,6–100 %). При анализе полученных данных было показано, что чаще всего вирус обнаруживался при раке полости рта (54 %), гортани (50 %) и ротоглотки (39 %) [5].

Распространенность ВПЧ в опухолевой ткани молочной железы составила 25 % при показателе инфицированности 4,5 % в нормальной ткани. Показатель относительного риска развития РМЖ при ВПЧ-инфекции составил $RR(95 \% CI)=3,6(2,3-5,6)$, при $p = 2,82 \times 10^{-8}$ (рис. 2) [6].

Установлен статистически значимый уровень распространенности ВПЧ в опухолевой ткани легкого, по сравнению с нормальной тканью легкого, и результирующий относительный риск развития РЛ при любом типе ВПЧ составил $RR(95 \% CI)=3,49(2,43-5,01)$ при $p = 0,000001$. Распространенность ВПЧ в опухолевой ткани при РЛ составила 28,7 % при показателе инфицированности 7,3 % в нормальной ткани легкого (рис. 3) [7].

Распространенность ВПЧ в опухолевой ткани яичника составила 22,4 % при показателе инфицированности 9,5 % в нормальной ткани.

Выводы

Таким образом, результаты метаанализов показывают значительный относительный риск развития рака легкого, гортани и ротоглотки, прямой и толстой кишки, молочной железы и рака яичника при наличии инфицирования ВПЧ. Предполагают, что ВПЧ может быть этио-

логическим фактором для многих опухолей, развивающихся из эпителия эктодермального происхождения. Возможен прямой путь проникновения вируса, например при сексуальных контактах (шейка матки, толстый кишечник, ротовая полость, пищевод, яичник), и не прямой – через кровь (молочная железа).

Работа поддержана грантом РФФИ 20–015–00023 А «Исследование роли вируса папилломы человека (ВПЧ) в канцерогенезе немелкоклеточного рака легкого»

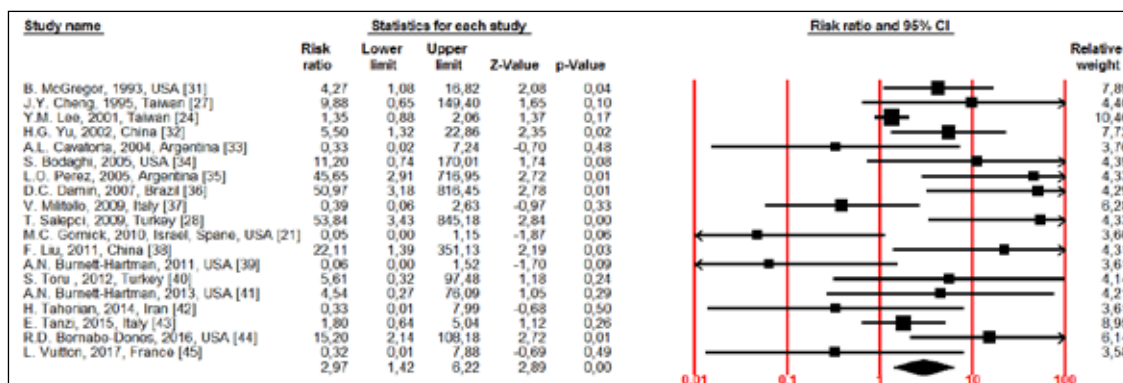


Рис. 1. Результаты метаанализа частоты инфицированности ВПЧ при КРР

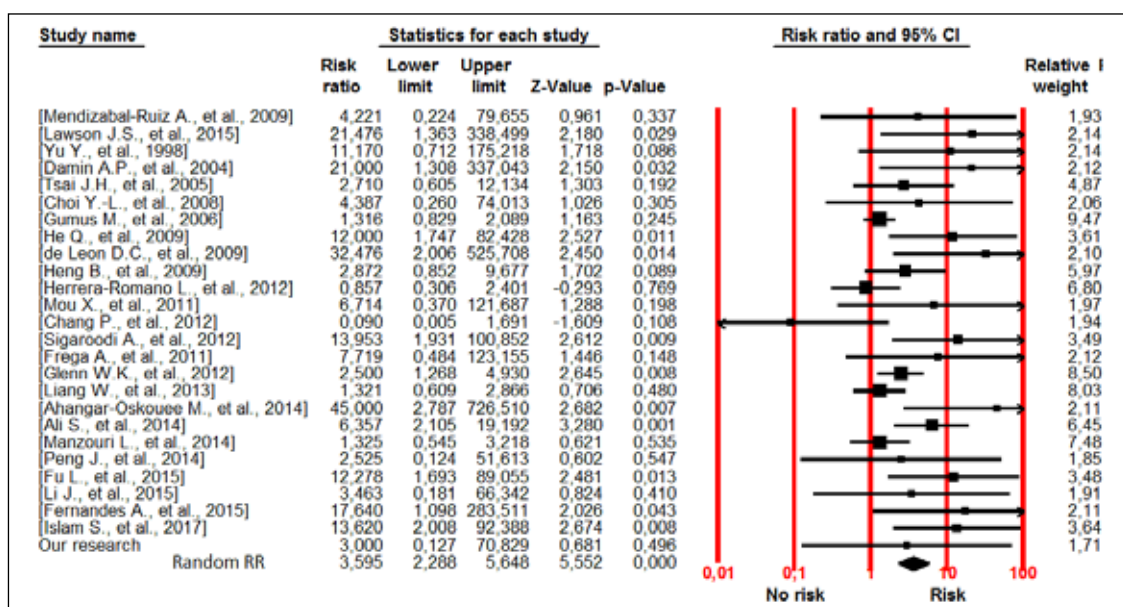


Рис. 2. Результаты метаанализа частоты инфицированности ВПЧ при РМЖ

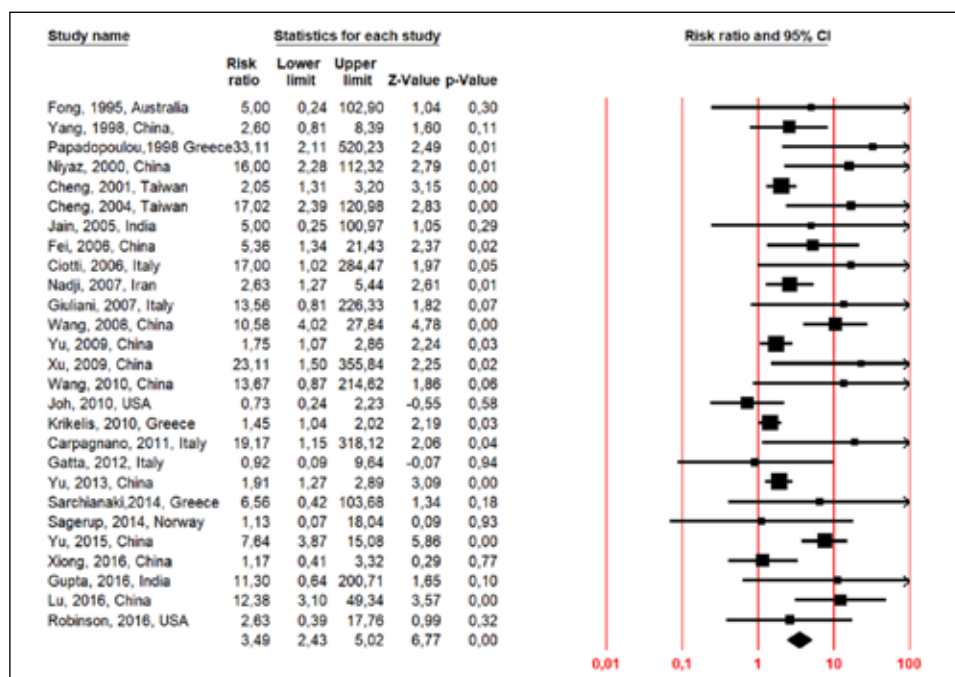


Рис. 3. Результаты метаанализа частоты инфицированности ВПЧ при раке легкого

ЛИТЕРАТУРА

1. Брик Н.И., Лопухов П.Д. Необходимость контроля ВПЧ-ассоциированных заболеваний. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2017; 16 2(93): 1015.
2. Waxman A.G., Chelmon D., Darragh T.M., Lawson H., Moscicki A-B. Revised Terminology for Cervical Histopathology and Its Implications for Management of High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions of the Cervix. Obstet Gynecol. 2012; 120(6): 1465–71.
3. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2008 [Internet]. URL: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2008/press.html.
4. Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Litviakov N.V. Human papillomavirus and colorectal cancer. Med Oncol. 2018 Sep 5; 35(11): 140. doi: 10.1007/s12032-018-1201-9.
5. Певзнер А.М., Цыганов М.М., Ибрагимова М.К., Литвяков Н.В. Вирус папилломы человека и злокачественные новообразования головы и шеи (обзор литературы). Опухоли головы и шеи. 2019; 9(2): 43–52.
6. Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Писарева Л.Ф., Литвяков Н.В. Вирус-ассоциированный рак молочной железы (обзор и мета-анализ). Вопросы онкологии. 2018; 64(1): 15–27.
7. Tsyganov M.M., Pevzner A.M., Ibragimova M.K., Deryusheva I.V., Litviakov N.V. Human papillomavirus and lung cancer: an overview and a meta-analysis. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. 2019; 145(8): 1919–1937.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С КЛИНИЧЕСКОЙ СТАДИЕЙ Т3А-В

Р.М. Исаргапов, М.О. Воздвиженский, А.Л. Горбачев, В.В. Стадлер

Самарский областной клинический онкологический диспансер, г. Самара, Россия

Аннотация

Цель исследования – изучение отдаленных результатов лечения больных раком предстательной железы группы высокого прогрессирования с клинической стадией рТ3 с оценкой выраженности распространения экстрапростатической инвазии. **Материал и методы.** В исследование включено 107 пациентов с диагнозом: рак предстательной железы группы высокого прогрессирования. Это группы пациентов, подвергнутых хирургическому методу лечения с адъювантной лучевой терапией и без нее. Выделены когорты пациентов из каждой группы с фокальным распространением экстрапростатической инвазии, а также пациенты с диффузным распространением экстрапростатической инвазии и инвазией в семенные пузырьки. Проведено сравнение изучаемых групп пациентов по показателям выживаемости с помощью метода Каплана – Мейера. **Результаты.** При сравнении групп с диффузной инвазией и включенных в данную группу пациентов с инвазией семенные пузырьки показатели общей выживаемости, выживаемости без прогрессирования, а также канцер-специфической инвазии достоверно выше в группе с использованием адъювантной лучевой терапии ($p=0,002$, $p=0,040$, $p=0,014$). При сравнении в данных группах пациентов с фокальным распространением экстрапростатической инвазии статистиче-

ски значимой разницы не выявлено: общей выживаемости – $p=0,535$, выживаемости без прогрессии – $p=0,198$, канцер-специфической выживаемости – $p=0,328$. **Заключение.** Применение хирургического метода в комбинации с лучевой терапией улучшает показатели общей и канцер-специфической выживаемости. Фокальное распространение экстрапростатической инвазии не является показанием к проведению адъювантной лучевой терапии.

Ключевые слова: рак предстательной железы, общая выживаемость, канцер-специфическая выживаемость, выживаемость без прогрессирования, экстрапростатическая инвазия.

TREATMENT RESULTS OF STAGE T3A-B PROSTATE CANCER

R.M. Isargapov, M.O. Vozdvizhensky, A.L. Gorbachev, V.V. Stadler

Samara Regional Clinical Oncology Center, Samara, Russia

Abstract

Purpose of the study: to analyze long-term treatment outcomes in patients with stage pT3 prostate cancer with an assessment of extraprostatic invasion. **Material and Methods.** The study included 107 patients diagnosed with prostate cancer with high risk of cancer progression. All patients underwent surgery with and without adjuvant radiation therapy. Cohorts of patients with focal spread of extraprostatic invasion, as well as patients with diffuse spread of extraprostatic invasion and invasion into the seminal vesicles, were analyzed. Survival rates in the studied groups of patients were compared using the Kaplan-Meier method. **Results.** When comparing groups of patients with diffuse invasion, the overall, progression-free and cancer-specific survival rates were significantly higher in patients receiving adjuvant radiation therapy. ($p = 0.002$. $p = 0.040$. $p = 0.014$). When comparing groups of patients with extraprostatic invasion, no statistically significant difference was revealed – overall survival $p = 0.535$, progression-free survival. $p = 0.198$; cancer-specific survival $p = 0.328$. **Conclusion** The use of surgery in combination with radiation therapy improves overall and cancer-specific survival rates. The focal spread of extraprostatic invasion is not an indication for adjuvant radiation therapy.

Key words: prostate cancer, overall survival, cancer-specific survival, progression-free survival, extraprostatic invasion.

Актуальность

Рак предстательной железы в настоящее время является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований среди мужского населения во всем мире. По данным за 2018 г., в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями среди мужского населения России рак предстательной железы занимает 2-е место (14,9 %), в 2018 г. в РФ выявлено 41577 случаев, в Самарской области 1165 впервые в жизни установленных диагнозов рак предстательной железы. Доля местнораспространенного рака предстательной железы в РФ составляет 21,9 %, в Самарской области – 18,6 %. [1]. Таким образом, у каждого четвертого мужчины в РФ и каждого пятого в Самарской области диагностируется рак предстательной железы с клинической стадией T3. В США проведение скрининговых программ с использованием ПСА и пальцевого ректального исследования увеличило количество пациентов на ранней стадии, при этом количество местнораспространенного рака значительно снизилось и составляет 12 % [2]. Клиническая стадия T3 наряду с уровнем ПСА и показателем Глиссона является одним из факторов риска прогрессирования заболевания. В предложенной в 1998 г. D'Amico et al. классификации рака предстательной железы по группам риска прогрессирования, к группе высокого риска прогрессирования относятся пациенты с показателем Глиссона ≥ 8 или уровнем ПСА > 20 нг/мл, клинической стадией T2c-3a [3]. Клиническая стадия T3 подразумевает местнораспространенный процесс, который характеризуется экстракапсулярной инвазией, включая микроскопическое поражение шейки мочевого пузыря (pT3a), распространение в семенные пузырьки (pT3b) или инвазию в другие соседние органы (T4) [4]. Роль экстрапростатической инвазии в прогнозировании выживаемости пациентов с высоким риском прогрессирования рака предстательной железы на данный момент до конца не изучена. Учитывая долю впервые выявленных пациентов с клинической стадией T3, прогнозирование выживаемости пациентов данной группы больных является актуальной проблемой. Возможное применение хирургического метода лечения в качестве монотерапии позволит избежать осложнений, связанных с проведением лучевой терапии [5].

Целью исследования является оптимизация лечения больных раком предстательной железы группы высокого риска прогрессирования с клинической стадией pT3 с учетом распространенности экстрапростатической инвазии.

Материал и методы

В ретроспективное исследование включено 107 пациентов с диагнозом рак предстательной железы pT3a-bN0M0G2–4 3 ст., лечившихся в Самарском областном клиническом онкологическом диспансере в 2010–12 гг. Критерием включения в исследование было наличие клинической стадии T3a-T3b, при отсутствии регионарного и отдаленного метастазирования. Две основные группы: 1) группа пациентов, подвергнутых хирургическому лечению в объеме радикальной позадилонной простатэктомии (40 пациентов), и группа пациентов, которым после радикальной позадилонной простатэктомии проведена лучевая терапия в объеме СОД 66–72ГР (67 пациентов). Проведен анализ общей выживаемости, канцер-специфической выживаемости, выживаемости без прогрессирования. Пациенты с фокальной экстрапростатической инвазией были выделены в дополнительную подгруппу, вторую подгруппу составили пациенты с диффузной экстрапростатической инвазией и пациенты с инвазией в семенные пузырьки. Данные подгруппы были также сравнили по таким показателям, как общая выживаемость, канцер-специфическая выживаемость, выживаемость без прогрессии. Средний возраст пациентов в группе хирургического лечения в качестве монотерапии составил $66,86 \pm 6,80$ года, показатель Глиссона – $6,80 \pm 0,82$, уровень ПСА – $14,43 \pm 8,04$, в группе хирургического лечения с адъювантной лучевой терапией средний возраст $63,83 \pm 5,62$ года, показатель Глиссона – $6,82 \pm 1,11$, уровень ПСА – $15,16 \pm 9,98$.

Среди пациентов с фокальной локализацией экстрапростатической инвазии средний возраст пациентов в группе хирургического лечения в качестве монотерапии составил $66,27 \pm 6,72$ года, показатель Глиссона – $6,48 \pm 0,7$, уровень ПСА – $14,02 \pm 8,01$, в группе хирургического лечения с адъювантной лучевой терапией средний возраст $62,13 \pm 6,06$ года, показатель Глиссона – $6,41 \pm 1,07$, уровень ПСА – $12,36 \pm 6,87$ (табл. 1).

В группе пациентов с диффузной экстрапростатической инвазией и с инвазией в семенные пузырьки средний возраст пациентов в группе хирургического лечения в качестве монотерапии составил $67,83 \pm 7,05$ года, показатель Глиссона – $7,33 \pm 0,72$, уровень ПСА – $15,08 \pm 8,33$ в группе хирургического лечения с адъювантной лучевой терапией средний возраст $65,39 \pm 4,74$ года, показатель Глиссона $7,20 \pm 1,02$, уровень ПСА – $12,36 \pm 6,87$ (табл. 2).

Статистический анализ данных выполняли на персональном компьютере с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics 25 (США, лицензия № 5725-A54). Описательные статистики представлены в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Анализ времени жизни проводили с помощью построения кривых Каплан – Мейера с их сравнением по логранговому тесту. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При сравнении групп с диффузной инвазией и включенных в данную группу пациентов с инвазией семенные пузырьки показатели общей выживаемости, выживаемости без прогрессии, а также канцер-специфической инвазии достоверно выше в группе с использованием адъювантной лучевой терапии ($p=0,002$, $p=0,040$, $p=0,014$). В группе хирургического метода лечения в качестве монотерапии показатели 8-летней общей выживаемости составили 46 %, выживаемости без прогрессирования – 39 %, канцер-специфической выживаемости – 67 %. В группе комбинированного лечения показатели 8-летней общей выживаемости составили 86 %, выживаемости без прогрессирования – 58 %, 8-летней канцер-специфической выживаемости – 90 %. При сравнении групп с фокальным распространением экстрапростатической инвазии показатели общей выживаемости, выживаемости без прогрессирования, а также канцер-специфической инвазии в группах не различались ($p=0,535$, $p=0,198$, $p=0,328$). В группе хирургического метода лечения в качестве монотерапии показатели 8-летней общей выживаемости составили 80 %, выживаемости без прогрессирования – 64 %, 8-летней канцер-специфической выживаемости – 82 %. В группе комбинированного лечения показатели 8-летней общей выживаемости составили 81 %, выживаемости без прогрессирования – 85 %, 8-летней канцер-специфической выживаемости – 94 %.

Заключение

Лучевая терапия статистически достоверно улучшает показатели выживаемости при диффузном распространении ($p < 0,05$). В то же время при фокальном распространении экстрапростатической инвазии лучевая терапия статистически не влияет. Так, показатели общей выживаемости, выживаемости без прогрессирования, а также канцер-специфической инвазии в группах не различались ($p=0,535$; $p=0,198$; $p=0,328$). Отказ от проведения лучевой терапии в адъювантном режиме данной когорте пациентов позволит избежать риска осложнений, связанных с её проведением.

Таблица 1

Характеристика групп пациентов с фокальным распространением экстрапростатической инвазии

	Хирургическое лечение и лучевая терапия M±SD	Хирургическое лечение M±SD
Возраст, лет	62,13±6,06	66,27±6,72
Глиссон	6,41±1,07	6,48±0,71
ПСА исходный, нг/мл	12,36±6,87	14,02±8,01

Таблица 2

Характеристика групп пациентов с диффузным распространением экстрапростатической инвазии и инвазией в семенные пузырьки

	Хирургическое лечение и лучевая терапия M±SD	Хирургическое лечение M±SD
Возраст, лет	65,39±4,74	67,83±7,05
Глиссон	7,20±1,02	7,33±0,72
ПСА исходный, нг/мл	17,73±11,67	15,08±8,33

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. 250 с.
2. American Cancer Society. Facts and Figures [Internet]. URL: <http://www.cancer.org/research/cancerfactsstatistics/cancerfacts-figures2014>.
3. D'Amico A.V., Whittington R., Malkowicz S.B., Schultz D., Blank K., Broderick G.A., Tomaszewski J.E., Renshaw A.A., Kaplan I., Beard C.J., Wein A. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. JAMA 1998; (280): 969–974. doi: 10.1001/jama.280.11.969.
4. Edge S.B., Compton C.C. AJCC Cancer Staging Manual. 7th edn. New York: Springer; 2010. 718.
5. Ковылина М.В., Прилепская Е.А., Пуликар Д.Ю. Патоморфологическая диагностика рака предстательной железы, рака мочевого пузыря и рака почки. Методические рекомендации. 2017. 55: 17.

ВОЗМОЖНОСТЬ ВЫПОЛНЕНИЯ РЕКОНСТРУКТИВНО-ПЛАСТИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЙ У ПАЦИЕНТОК, БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ПРИ ПОЛОЖИТЕЛЬНОМ ВИЧ-СТАТУСЕ

**А.А. Калинина-Масри, О.С. Ходорович, К.Д. Саркисян, Л.Б. Канахина,
Д.В. Донченко**

ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия

Аннотация

Согласно современным статистическим данным развивающихся стран, у 4 из 10 ВИЧ-инфицированных пациенток в тот или иной период болезни развивается рак. Есть даже термин – СПИД-ассоциированные онкологические заболевания, к которым относятся лимфома, саркома Капоши, рак шейки матки. Существует мнение, что при ослабленном иммунитете при ВИЧ провоцирующие факторы риска и нелеченные фоновые заболевания играют пусковую роль в возникновении онкологического заболевания. Так, у курильщика с ВИЧ-инфекцией риск заболеть раком легкого выше, чем у некурящего пациента без ВИЧ. То же самое можно сказать и о пациентках с наличием мутаций в генах BRCA1/BRCA2. У здоровых женщин с наличием одного из аллелей гена BRCA1 риск развития рака молочной железы составляет около 75 %, а при герминальных мутациях гена BRCA2 риск развития опухолей молочной железы составляет 55–87,5 %. [1–3]. В свою очередь, наличие мутаций в вышеуказанных генах у пациенток с ВИЧ-статусом увеличивает их заболеваемость раком молочной железы (РМЖ). Для пациенток с отрицательным ВИЧ-статусом не возникает никаких сложностей при выборе хирургической тактики, ориентируются лишь на стадию заболевания, иммунобиологический подтип опухоли, результаты генетических анализов и возраст больной. Но в случае с ВИЧ-положительной пациенткой перед врачом всегда стоит вопрос о возможности и целесообразности выполнения хирургического лечения и реконструктивной операции у данной категории пациенток.

Ключевые слова: рак молочной железы, ВИЧ, СПИД, реконструктивно-пластическая операция, CD4+, эндопротез, мутация, BRCA1, BRCA2.

THE ABILITY TO PERFORM RECONSTRUCTIVE PLASTIC SURGERY IN PATIENTS WITH BREAST CANCER AND HIV INFECTION

A.A. Kalinina-Masri, O.S. Khodorovich, K.D. Sarkisyan, L.B. Kanakhina, D.V. Donchenko

Russian Scientific Center of Roentgenoradiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (RSCRR), Moscow, Russia

Abstract

According to modern statistics from developing countries, 4 out of 10 HIV-infected patients develop cancer in a given period of the disease. There is even a term – AIDS-associated oncological diseases, which include lymphoma, Kaposi's sarcoma, cervical cancer. But there is an opinion that with weakened immunity in HIV, provoking risk factors and untreated background diseases play an ominous role for the oncological disease. So, a smoker with HIV infection has a higher risk of developing lung cancer than a non-smoking patient without HIV. The same can be said about patients with mutations in the BRCA1 / BRCA2 genes. In healthy women with the presence of one of the BRCA1 gene alleles, the risk of developing breast cancer is about 75 %, and with germinal mutations of the BRCA2 gene, the risk of developing breast tumors is 55–87.5 % (Lyubchenko L.N.; Khodorovich O.S. ; NCCN). In turn, the presence of mutations in the above genes in patients with HIV status increases their incidence of breast cancer. For patients with negative HIV status, there is no difficulty in choosing surgical tactics, focusing only on the stage of the disease, the immunobiological subtype of the tumor, the results of genetic tests and the patient's age. But in the case of HIV-positive patients, the doctor always has a question about the possibility and advisability of performing surgical treatment and reconstructive surgery in this category of patients.

Key words: breast cancer, HIV, AIDS, reconstructive plastic surgery, CD4+, endoprosthesis, mutation, BRCA1, BRCA2.

Актуальность

РМЖ является наиболее распространенным видом онкологического заболевания во всем мире среди женского населения. Связь между ВИЧ-инфекцией и РМЖ не была тщательно исследована: по сравнению с общей численностью населения люди, живущие с ВИЧ/СПИДом, имеют аналогичный риск развития данного заболевания [4]. На ежегодной конференции по ретровирусам и оппортунистическим инфекциям (CROI, март 2019) в Сиэтле были представлены данные когортного исследования из Ботсваны о снижении выживаемости ВИЧ-инфицированных женщин от РМЖ по сравнению с ВИЧ-негативными женщинами. Согласно полученным данным, РМЖ являлся основной причиной смерти как у пациенток с ВИЧ, получающих антиретровирусную терапию (АРТВ), так и у пациенток без ВИЧ. Поскольку люди с положительным ВИЧ-статусом живут дольше благодаря эффективному АРТВ лечению, смертность от СПИДа значительно снизилась, что нельзя сказать о неинфекционных заболеваниях, таких как рак или заболевания сердечно-сосудистой системы. В марте 2019 г. специалистами были подведены итоги крупного исследования и была изучена картина заболеваемости раком среди 4 тыс. пациенток из четырех крупных онкологических центров в Ботсване. Участницы наблюдались в течение пяти лет. В группу исследования РМЖ вошли 510 женщин, обратившихся за онкологической помощью в медицинские учреждения в период с октября 2010 г. по сентябрь 2018 г. Из них у 151 пациентки был выявлен ВИЧ-положительный статус. В группе с положительным ВИЧ-статусом пациентки были в среднем моложе, чем в группе с отрицательным ВИЧ-статусом (47 лет против 56 соответственно). В обеих группах около 5 % поступили с I стадией РМЖ, около 25 % – со II стадией, около 40 % – с III стадией и около 15 % – с IV стадией или метастатической формой рака молочной железы. Обе группы пациенток также имели равные доли женщин с опухолевыми образованиями, положительными по рецепторам эстрогена (около 35 %) и тройным негативным РМЖ (около 15 %). Большинство ВИЧ-позитивных женщин (85 %) принимали АРТВ в момент постановки диагноза РМЖ, а 70 % имели вирусную нагрузку ниже 1000 копий/мл. В представленном исследовании виды лечения существенно не различались в зависимости от ВИЧ-статуса пациентки: все получили полноценное комплексное лечение.

В ходе исследования умерли 70 ВИЧ-положительных пациенток (46 %) и 101 с отрицательным ВИЧ-статусом (31 %). В обеих группах РМЖ был наиболее частой причиной смерти: на него пришлось около 90 % случаев; около 3 % смертей были связаны с побочными эффектами в ходе лечения. Ни одна из женщин с ВИЧ не умерла непосредственно от причин, связанных со СПИДом. Таким образом, по данным многофакторного анализа, общая выживаемость ВИЧ-положительных женщин была на 82 % ниже, чем среди ВИЧ-отрицательных.

Цель исследования – по данным обзора литературы и на клиническом примере продемонстрировать возможность проведения реконструктивно-пластических операций пациенткам с диагнозом рак молочной железы и положительным ВИЧ-статусом.

Материал и методы

В 2017 г. была опубликована статья, представившая результаты исследования University of the Witwatersrand (Йоханнесбург, ЮАР) доктора Н. Cubasch и его коллег о том, что главным фактором для выбора лечения и хирургической тактики у пациенток была стадия заболевания [5]. В меньшей степени на этот выбор влиял ВИЧ-статус пациенток. К сожалению, в настоящий момент отсутствует статистика о выполненных реконструктивно-пластических операциях у пациенток с положительным ВИЧ-статусом при раке молочной железы, положительных или отрицательных отдаленных результатах применения силиконовых эндопротезов у данной категории пациенток. Но все же в зарубежной литературе существуют данные применения синтетических материалов при имплантации в стоматологии у пациенток с диагнозом ВИЧ. В журнале *Clinical oral implants research* было опубликовано бразильское исследование, в котором исследователи позволяют предположить, что у пациенток с хорошо контролируемым ВИЧ-положительным статусом можно проводить процедуры по увеличению костной ткани и установке имплантатов [6, 7]. Ранее были опубликованы данные о том, что хирургическое лечение с применением имплантатов у такой категории пациентов не противопоказано при условии контроля уровня CD4+ (T-cells) >200 [8].

В 2017 г. в клинику комплексной диагностики и лечения заболеваний молочной железы ФГБУ РНЦРР Минздрава РФ обратилась пациентка 34 лет с пальпируемым новообразованием в правой молочной железе. По данным клинко-инструментального обследования в правой молочной железе на границе верхних квадрантов определялась перестройка структуры тканей с кальцинатами размерами 18,7×13,7 мм. По данным трепан-биопсии – это инфильтративный дольковый рак молочной железы, 2-й степени злокачественности. По результатам иммуногистохимического исследования определялись рецепторы к эстрогену в 85 %, рецепторы к прогестерону – в 80 %, показатель Her2/neu – 1+, индекс пролиферативной активности (Ki67) – в 23 %. Пациентка была комплексно обследована по органам и системам – данных за регионарное и отдаленное метастазирование получено не было. Также пациентке было проведено цитогенетическое исследование на наличие мутаций в генах BRCA1/BRCA2/CHEK2 – результат был получен отрицательный. В связи с этим, учитывая отягощенный семейный анамнез, было рекомендовано выполнение секвенирования генов BRCA1/2, от которого пациентка на тот момент воздержалась. Суммируя все полученные данные, был установлен диагноз: рак правой молочной железы I стадия, cT1N0M0. При сборе анамнеза была получена информация, что пациентка находится на АРТВ в течение 5 лет по поводу ВИЧ, 4 А стадия. Пациентка обсуждена на консилиуме с участием радиотерапевта, химиотерапевта, хирурга, эпидемиолога – на первом этапе было рекомендовано проведение хирургического лечения. Также было получено заключение инфекциониста – с учетом сопутствующего диагноза и уровня клеток CD4+ (T-cells) >500 хирургическое лечение пациентке не противопоказано. В феврале 2018 г. пациентке была выполнена кожесохрannая мастэктомия справа с одномоментной реконструкцией тканевым экспандером и биопсией сигнального лимфоузла. После получения планового морфологического исследования пациентка была консультирована химиотерапевтом и радиотерапевтом. Заключительный основной диагноз был сформулирован как рак правой молочной железы I стадии, pT1N1M0. На втором этапе пациентке по согласованию с инфекционистом было проведено 4 курса ПХТ по схеме Доксорубицин 50 мг/м² + Циклофосфан 500 мг/м² и по завершении проведена гормонотерапия Тамоксифеном на фоне Золадекса в первые два года. Далее в августе 2018 г. пациентке была выполнена замена тканевого экспандера на силиконовый эндопротез. Через год после хирургического вмешательства пациентка все же выполнила рекомендованный ранее цитогенетический анализ в виде секвенирования генов BRCA1/2, по результатам которого была выявлена мутация в гене BRCA2 (13q12.3). Клиническая ситуация была повторно обсуждена на междисциплинарном консилиуме, где было принято решение о возможности выполнения профилактической подкожной мастэктомии слева с

одномоментной реконструкцией силиконовым эндопротезом. Противопоказаний к хирургическому вмешательству в связи с сопутствующим инфекционным заболеванием не было (уровень клеток CD4+ (T-cells) >550). Хирургическое вмешательство было выполнено в июне 2019 г. В настоящий момент пациентка удовлетворена эстетическим результатом.

Результаты

Подход к выработке тактики лечения у такой категории пациенток должен быть мультидисциплинарным. В большинстве случаев проведение комбинированного или комплексного лечения у данных пациенток необходимо, но может быть сопряжено с рядом особенностей. Сам по себе ВИЧ-статус не является противопоказанием к проведению как химиолучевого, так хирургического лечения, а требует лишь дополнительных мер безопасности для медицинского персонала. Также нет противопоказаний к применению синтетических материалов при выполнении реконструктивных хирургических вмешательств. Главным индикатором для определения стадии иммунодефицита и возможности проведения хирургического вмешательства является показатель уровня CD4+ лимфоцитов, который должен быть >200.

Заключение

С каждым годом рекомендации европейских и американских ассоциаций дополняются новыми комментариями, что не перестает быть интересным. А решение вопроса с тактикой лечения и возможностью реконструкции у пациенток с ВИЧ-статусом продолжает оставаться открытым. Такие пациентки требуют не меньшего внимания, чем больные раком молочной железы без сопутствующего инфекционного заболевания. Результаты исследований в данном направлении выведут на новый уровень понимание иммунологических и онкологических проблем и пути их решения. По данным NCBI (Национальный центр биотехнической информации), заболеваемость раком молочной железы примерно одинакова у пациенток с разным ВИЧ-статусом. Но у людей с ВИЧ рак чаще всего находят на более поздней стадии, а само заболевание протекает более агрессивно. Предполагают, что это связано со слабостью иммунной системы и более быстрым прогрессированием заболевания на ее фоне [9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Любченко Л.Н. Наследственный рак молочной железы и/или яичников: ДНК-диагностика, индивидуальный прогноз, лечение и профилактика: автореф. дис.... д-ра мед. наук. М., 2009.
2. Ходорович О.С., Снугирева Г.П., Чхиквадзе В.Д., Оксанчук Е.А., Меских Е.В., Новикова Е.И. BRCA-ассоциированный рак молочной железы. Случай из практики. Трудный пациент. 2016; 10(11): 46–49.
3. National Comprehensive Cancer Network (NCCN). NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Genetic [Internet]. URL: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/genetics_screening.pdf (cited 04.05.2016).
4. D'Andrea F., Ceccarelli M., Facciola A., Nunnari G.F., Pellicano G.F., Venanzi Rullo E. Breast cancer in women living with HIV. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2019 Feb; 23(3): 1158–1164.
5. Cubasch H., Joffe M., Ruff P., Dietz D., Rosenbaum E., Murugan N., Chih M.T., Ayeni O., Dickens C., Crew K., Jacobson J.S., Neugut A. Breast conservation surgery versus total mastectomy among women with localized breast cancer in Soweto, South Africa. PLoS One. 2017 Aug 10; 12 (8): e0182125.
6. Chirkut S. Breast cancer, human immunodeficiency virus and highly active antiretroviral treatment; implications for a high-rate seropositive region. Oncol Rev. 2019 Jan 14; 13 (1): 376.
7. McKenzie F., Zietsman A., Galukande M., Anele A., Adisa C., Cubasch H., Parham G., Anderson B.O., Abedi-Ardekani B., Schuz J., Dos Santos Silva I., McCormack V. African Breast Cancer-Disparities in Outcomes (ABC-DO): protocol of a multicountry mobile health prospective study of breast cancer survival in sub-Saharan Africa. BMJ Open. 2016 Aug 23; 6(8): e011390. doi: 10.1136/bmjopen-2016-011390.
8. Achong R.M., Shetty K., Arribas A., Block M.S. Implants in HIV-Positive Patients: 3 case reports. J Oral Maxillofac Surg. 2006 Aug; 64(8): 1199–203.
9. Latif N., Rana F., Guthrie T. Breast cancer and HIV in the era of highly active antiretroviral therapy: two case reports and review of the literature. Breast J. 2011 Jan-Feb; 17(1): 87–92. doi: 10.1111/j.1524-4741.2010.01023.x.

МАЛОИНВАЗИВНАЯ ХИРУРГИЯ НЕЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ЖЕЛУДКА И ОБЛАСТИ КАРДИОЭЗОФАГЕАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА

**А.К. Камалов, А.Б. Рябов, И.В. Колобаев, В.М. Хомяков, А.К. Кострыгин,
С.А. Аксенов**

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Неэпителиальные новообразования желудочно-кишечного тракта представляют собой опухоли, происходящие из тканей производных мезенхимы, имеющие дисэмбриогенетическое происхождение. Все эти виды новообразований встречаются намного реже, чем эпителиальные опухоли, и не обладают органной специфичностью. Неэпителиальные опухоли развиваются из структурных элементов стенки органа – мышц, жировой и соединительной ткани, сосудов, нервов. Как правило, они выявляются случайно при эндоскопическом исследовании в виде округлых образований, в большинстве случаев покрытых неизменной слизистой. Подслизистые образования составляют порядка 5 % всех новообразований верхних отделов желудочно-кишечного тракта [1]. По разным данным, случайное выявление ГИСО составляет около 17,7 %. По данным М. Miettinen (2005), проанализировавшего более 1700 случаев с ГИСО желудка, болезнь протекает с симптомами желудочно-кишечного кровотечения. Наиболее распространенными формами неэпителиальных новообразований ЖКТ являются гастроинтестинальные стромальные опухоли (ГИСО) и лейомиомы [2, 3]. ГИСО встречаются лишь в 1–2 % наблюдений среди всех новообразований ЖКТ [1]. Однако среди всех мезенхимальных опухолей ЖКТ ГИСО занимают лидирующую позицию, составляя 80 % [2, 3]. Данная подгруппа опухолей имеет схожие клинко-патологоанатомические свойства, а также подходы к диагностике и выбору тактики лечения. В данной работе изложен опыт торакоабдоминального хирургического отделения МНПО им. П.А. Герцена в лечении пациентов неэпителиальными новообразованиями желудка и области кардиоэзофагеального перехода с использованием различных вариантов малоинвазивной хирургии.

Ключевые слова: неэпителиальные опухоли, гастроинтестинальные стромальные опухоли, малоинвазивная хирургия.

MINIMALLY INVASIVE SURGERY OF NON-EPITHELIAL TUMORS OF THE STOMACH AND AREAS OF CARDIOESOPHAGEAL TRANSITION

A.K. Kamalov, A.B. Ryabov, I.V. Kolobaev, V.M. Khomyakov, A.K. Kostygin, A.S. Aksenov

P.A. Hertsen Moscow oncology research institute – branch of the National Medical Research Centre of Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

Non-epithelial neoplasms of the gastrointestinal tract are tumors originating from tissues of mesenchyme derivatives that have a disembryogenetic origin. All these types of neoplasms are much less common than epithelial tumors. Non-epithelial tumors develop from the structural elements of the wall – muscles, adipose and connective tissue, blood vessels, nerves. As a rule, they are detected by chance during endoscopic examination in the form of rounded formations covered with unchanged mucosa in most cases. Submucosal formations make up about 5 % of all neoplasms of the upper gastrointestinal tract [1]. According to various sources, the random detection of GISO is about 17.7 %. According to M. Miettinen (2005), after analyzing more than 1700 cases with gastric GIS, the disease occurs with symptoms of gastrointestinal bleeding. The most common forms of gastrointestinal non-epithelial neoplasms are gastrointestinal stromal tumors (GISO) and leiomyomas [2, 3]. GISOs are found only in 1–2 % of cases among all neoplasms of the gastrointestinal tract [1]. However, among all mesenchymal tumors of the gastrointestinal tract, GISOs occupy a leading position, accounting for 80 % [2, 3]. This subgroup of tumors has similar clinical and pathological properties, as well as approaches to the diagnosis and choice of treatment tactics. In this paper, the experience of the thoracoabdominal surgical department of the Moscow P.A. Herzen in the treatment of patients with non-epithelial neoplasms of the stomach and the area of the cardioesophageal transition using various options for minimally invasive surgery.

Key words: non-epithelial tumors, gastrointestinal stromal tumors, minimally invasive surgery.

Актуальность

Основным методом лечения пациентов с неэпителиальными новообразованиями желудка и области кардиоэзофагеального перехода является хирургический [4]. Малоинвазивные технологии позволяют в значительной степени уменьшить операционную травму, снизить риск осложнений и сократить сроки пребывания пациента в стационаре [5]. Выбор объема малоинвазивного вмешательства крайне зависит от локализации и размеров неэпителиальных новообразований желудка и области кардиоэзофагеального перехода [6]. В настоящее

время одна из спорных и нерешенных задач – выбор объема и доступа при хирургическом лечении неэпителиальных новообразований желудка и области кардиоэзофагеального перехода, задней стенки желудка и больших размеров.

Цель исследования – оценить возможности и безопасность выполнения малоинвазивной хирургии в лечении пациентов с неэпителиальными опухолями желудка и области кардиоэзофагеального перехода.

Материал и методы

С января 2014 г. по декабрь 2019 г. в торакоабдоминальном отделении МНИОИ им. П.А. Герцена были прооперированы 80 пациентов с первичными неэпителиальными опухолями желудка и кардиоэзофагеального перехода с применением различных методик малоинвазивной хирургии. Среди них 26 мужчин и 54 женщины, средний возраст составил 59,9 года. Всем пациентам выполнена лапароскопическая резекция желудка в следующих вариантах: клиновидная резекция желудка, гастротомия с внутрижелудочной резекцией задней стенки и трансгастральная резекция с непосредственным введением лапароскопических портов в просвет желудка через переднюю стенку. Всегда линия механической резекции дополнительно укрывалась ручным непрерывным швом. Все операции были выполнены в объеме R0.

Результаты

Серьезные осложнения (Clavien-Dindo IIIb) наблюдались у 2 пациентов, в том числе в одном случае несостоятельность механического шва, во втором – кровотечение. Питание *per os* давали на 1-й день после операции (с назогастральным зондом или без него). Диагноз ГИСО подтвержден морфологически у 76 пациентов, в 5 случаях диагностирована лейомиома. Ни у одного больного за время наблюдения не выявлено местного рецидива.

Выводы

Применение малоинвазивных хирургий при лечении неэпителиальных опухолей желудка и области кардиоэзофагеального перехода позволяет снизить риск послеоперационных осложнений, длительность пребывания в стационаре, отсутствуют косметический дефект, выраженность болевого синдрома. Выполнение трансгастральной резекции при расположении опухоли в области кардиоэзофагеального перехода и задней стенки желудка функционально оправдано, снижается риск нарушения трофики желудка, которая может возникнуть при осуществлении доступа к задней стенке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Старков Ю.Г., Солоднина Е.Н., Новожилова А.В. Подслизистые новообразования желудочно-кишечного тракта в эндоскопической практике. Хирургия. 2010; 2: 51–5.
2. O'leary T., Berman J.J. Gastrointestinal stromal tumors: answers and questions. Hum. Pathol. 2002; 33: 456–458.
3. Богомолов Н.И., Бурдинская Т.В., Гончарова М.А., Гончаров А.Г., Томских Н.Н. Особенности диагностики и лечения стромальных опухолей желудочнокишечного тракта. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2018; 28(3): 45–53. doi: 10.22416/1382-4376-2018-28-3-45-53.
4. Novitsky Y.W., Kercher K.W., Sing R.F., Heniford B.T. Long-term outcomes of laparoscopic resection of gastric gastrointestinal stromal tumors Ann Surg. 2006 Jun; 243(6): 738–45; discussion 745–7.
5. Siow S.L., Mahendran H.A., Wong C.M. Laparoscopic transgastric resection for intraluminal gastric gastrointestinal stromal tumors located at the posterior wall and near the gastroesophageal junction. Asian J Surg. 2017 Sep; 40(5): 407–414. doi: 10.1016/j.asjsur.2015.12.001.
6. Stanek M., Pisarska M., Rzepa A., Radkowiak D., Major P., Budzyński A. Laparoscopic treatment of large gastr–175. doi: 10.5114/wiitm.2018.78998.

РЕКОНСТРУКТИВНО-ПЛАСТИЧЕСКИЕ ОПЕРАЦИИ НА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭКСПАНДЕРА/ИМПЛАНТА И ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ

**Л.Б. Канахина¹, О.С. Ходорович², П.В. Полушкин², Т.Р. Измаилов²,
К.Д. Саркисян², А.А. Калинина-Масри², С.Ю. Мельник²**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия¹

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр
рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия²

Аннотация

Хирургическое лечение является одним из основных методов как в монотерапии, так и при комплексном/комбинированном лечении рака молочной железы у женщин. Реконструктивные операции с использованием тканевых экспандеров являются одним из оптимальных вариантов для пациенток, которым предстоит лучевая терапия. Лучевая терапия, показанная и проведенная пациенткам согласно стадиям заболевания, которые предполагают проведение данного метода лечения, приводит к повышению показателей выживаемости, в том числе у пациенток с реконструктивно-пластическими операциями. Остается открытым вопрос об осложнениях и сомнительных эстетических результатах, возникающих после проведения лучевой терапии на тканевой экспандер/имплант. Проведенный литературный обзор представляет критерии отбора и ведения пациенток во время лечения, что позволит снизить риски осложнений. Были рассмотрены такие критерии, как: момент проведения лучевой терапии, время замены тканевого расширителя на имплант, индекс массы тела, возраст пациенток, а также связь проведенной адъювантной химиотерапии с риском развития осложнений. **Целью нашего исследования** являлся ретроспективный анализ результатов проведенной лучевой терапии пациенткам после реконструктивной операции. Была включена 41 пациентка с диагнозом рак молочной железы, прошедшая подкожную радикальную мастэктомию с одномоментной установкой тканевого экспандера и химиотерапию на предлучевом этапе. У 32 (78 %) пациенток был отмечен лучевой эпидермит I–II степени тяжести (по RTOG), у 4 (10 %) – лучевой эзофагит I степени (RTOG). У 6 (15 %) пациенток по данным ЭКГ на фоне лучевой терапии была зафиксирована отрицательная динамика, в связи с чем проводилась сопутствующая кардиальная терапия. У двух пациенток в процессе лучевой терапии в связи с ухудшением трофики кожи и усилением кожной реакции объем экспандера был уменьшен. У 1 пациентки из-за недостатка объема экспандера хирургом выполнено увеличение его объема с целью коррекции распределения доз при планировании лучевой терапии.

Ключевые слова: рак молочной железы, реконструктивная операция, лучевая терапия, осложнения, критерии отбора.

BREAST RECONSTRUCTIVE SURGERY USING AN EXPANDER / IMPLANT AND RADIATION THERAPY

**L.B. Kanakhina¹, O.S. Khodorovich², P.V. Polushkin², T.R. Izmailov²,
K.D. Sargsyan², A.A. Kalinina-Masri², S.U. Melnik²**

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «RUDN University» (RUDN University), Moscow, Russia¹

Federal state budgetary institution «Russian Scientific Center of Roentgenoradiology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (RSCRR), Moscow, Russia²

Abstract

Surgical treatment is one of the main treatment methods, both in monotherapy and in the complex / combined treatment of breast cancer in women. Reconstructive surgery using tissue expanders is one of the best options for patients who will receive radiation therapy. The literature review describes the criteria for selecting patients, which will help to reduce the risk of complications. Time of performing radiation therapy, time of replacement of the tissue expander with an implant, body mass index, age of patients, effect of adjuvant chemotherapy on the risk of complications were described. The aim of our study was a retrospective analysis of the results of radiation therapy for patients after reconstructive surgery. 41 patients with a diagnosis of breast cancer who underwent a subcutaneous radical mastectomy with simultaneous installation of a tissue expander and chemotherapy at the preradiation stage were included. In 32 (78 %) patients, radiation epidermitis of the I–II degree of severity (according to RTOG) was noted, in 4 (10 %), radiation esophagitis of the first degree (RTOG) was noted. In 6 (15 %) patients with the background of radiation therapy, negative dynamics were recorded according to ECG data, and therefore, concomitant cardiac therapy was performed. In two patients, during radiation therapy, due to the deterioration of skin trophism and increased skin reaction, the expander volume was reduced. In 1 patient, due to the lack of volume of the expander, the surgeon performed an increase in its volume in order to correct the distribution of doses when planning radiation therapy. **Keywords:** breast cancer, reconstructive surgery, radiation therapy, complications, selection criteria.

Key words: breast cancer, reconstructive surgery, radiation therapy, complications, selection criteria.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) – одно из самых часто диагностируемых онкологических заболеваний в мире у женщин [1]. В 2018 г. от всех причин в России умерли 1 828 910 человек. В структуре смертности женщин наибольший удельный вес имеют рак молочной железы (16,2 %) [2]. Хирургическое лечение является одним из основных методов лечения РМЖ как в монотерапии, так и при комплексном/комбинированном лечении данного заболевания. В настоящее время современные материалы и технологии сделали возможным восстановление удаленной груди путем выполнения реконструктивно-пластических операций с использованием имплантов/экспандеров или аутологичных тканей. В настоящее время от 25 до 42 % женщин проходят двухэтапную реконструкцию, при которой устанавливается тканевой экспандер [3], что является одним из оптимальных вариантов для пациенток, которым предстоит лучевая терапия (ЛТ). По данным литературы, лучевая терапия (ЛТ), показанная и проведенная пациенткам согласно стадиям заболевания, повышает показатели выживаемости, в том числе у пациенток с реконструктивно-пластическими операциями [4]. Однако остается открытым вопрос об осложнениях и сомнительных эстетических результатах, возникающих после проведения лучевой терапии на тканевой экспандер/имплант. Именно локальные повреждения при проведении ЛТ приводят к основным негативным последствиям. Согласно публикациям, послеоперационные осложнения могут достигать до 51 % у пациенток с проведенной лучевой терапией, а потеря импланта/тканевого экспандера – до 24 % [5]. В работе Р. Лентза и соавт. не отмечено значительной разницы в общей частоте осложнений у пациенток с заменой экспандера до лучевой терапии (54,55 %) и у тех (47,06 %), кому замена была проведена после ЛТ ($p = 0,785$), или частоте повторной операции (13,64 % и 20,59 % соответственно, $p = 0,724$). На втором этапе данного исследования необходимо было оценить частоту осложнений при разных сроках замены (менее чем через 4 мес и более чем через 4 мес после ЛТ) тканевого экспандера на постоянный имплант. Не было значительной разницы в общей частоте осложнений (40 % против 57,14 %, $p = 0,487$) или частоте повторных операций (25 % против 14,29 %, $p = 0,672$) между двумя группами. Тенденции свидетельствуют о более высокой частоте инфицирования у пациенток, у которых операция была выполнена ранее 4 мес (30 % против 14,29 %, $p = 0,422$) и более высокая частота капсульной контрактуры у пациенток из второй группы (5 % против 21,43 %, $p = 0,283$) [6]. Согласно исследованию, проведенному С. Бруксом, Р. Джоханом и др., важными факторами риска развития осложнений после лучевой терапии стали: индекс массы тела (ИМТ) более 30 и возраст пациенток старше 50 лет. У женщин моложе 50 лет частота осложнений составила 28,4 %, тогда как у женщин старше 50 лет – 37,0 %. У женщин с ИМТ менее 30 частота осложнений составила 27,5 %, тогда как у женщин с ИМТ – более 30 – 49 % [7]. Согласно данным литературы, вероятность потери импланта/тканевого расширителя после проведения лучевой терапии выше у пациенток с тканевым экспандером (18,1 % против 12,4 %). Однако вероятность развития капсулярной контрактуры III ст. у пациенток с постоянным имплантом составила 44,6 % и 15,9 % у пациенток с тканевым расширителем. Развитие капсулярной контрактуры IV ст. составило 6,3 % и 1,22 % соответственно. При этом риск развития осложнений, при которых потребовалась повторная операция, была выше у пациенток с тканевым экспандером (20 % у пациенток с тканевым экспандером, 13,4 % с постоянным имплантом) [8]. При комплексном лечении рака молочной железы, при котором предусматривается адъювантная химиотерапия, риск развития осложнений возрастает. В исследовании Т. С. Лама, Р. Боротканикса и др. послеоперационная потеря протеза составила 2,7 % у пациенток без адъювантной терапии, 5,3 % у пациенток, получавших адъювантную химиотерапию, и 11,3 % у пациенток, получавших химиотерапию и лучевую терапию. Потеря протеза у пациенток, получавших комплексное лечение, также была значимой; IRR: 4,791 ($p < 0,001$) [9].

Цель исследования – ретроспективный анализ результатов проведенной лучевой терапии пациенткам с реконструктивной операцией по поводу рака молочной железы с помощью тканевого экспандера.

Материал и методы

Всего включена 41 пациентка с диагнозом рак молочной железы, прошедшая подкожную радикальную мастэктомию с одномоментной установкой тканевого экспандера и химиотерапию на предлучевом этапе. 41 (83 %) пациентка получила химиотерапию по схеме АС + Таксаны, 23 (56 %) – гормональную терапию (тамоксифен, анастрозол). Средний возраст пациенток составил 49 ($\pm 4,3$) лет. Опухоли ПА (T0–2N0–1M0) составили 22 % ($n=9$), ПВ (T2–3N0–1M0) – 34 % ($n=14$), ПИА (T0–3N1–2M0) – 22 % ($n=9$), ПИБ (T4N0–2M0) – 2 % ($n=1$),

ПИС (T0–4N3M0) – 20 % (n=8). У 23 (56 %) пациенток диагностирован РМЖ с правосторонней локализацией и у 18 (44 %) РМЖ с левосторонней локализацией. По данным иммуногистохимического исследования (ИГХ) опухоли соотношение типов составило: люминальный А – 12 % (n=5), люминальный В – 29 % (n=12), люминальный Her2 – 41 % (n=17), Her2 позитивный тип – 10 % (n=4), трижды негативный тип – 7 % (n=3). Хронические заболевания сердечно-сосудистой системы отмечались у 9 (22 %) пациенток.

Результаты

Все пациентки проходили конформную дистанционную лучевую терапию в ФГБУ РНЦРР в период с 2017 по 2019 г. на область грудной стенки с захватом зон регионарного лимфооттока (надключичные, подключичные, подмышечные группы лимфоузлов). У 16 (39 %) пациенток лучевая терапия проводилась в стандартном режиме фракционирования с РОД 2 Гр; у 13 (32 %) пациенток РОД составила 2,25 Гр; у 12 (29 %) пациенток РОД составила 2,5 Гр. СОД у всех пациенток составила 50 изоэквивалентных Гр. У 32 (78 %) пациенток был отмечен лучевой эпидермит I–II степени тяжести (по RTOG), у 4 (10 %) отмечен лучевой эзофагит I степени (RTOG). У 6 (15 %) пациенток по данным ЭКГ на фоне лучевой терапии была зафиксирована отрицательная динамика, в связи с чем проводилась сопутствующая кардиальная терапия. У двух пациенток в процессе лучевой терапии в связи с ухудшением трофики кожи и усилением кожной реакции объем экспандера был уменьшен. У 1 пациентки из-за недостатка объема экспандера хирургом выполнено увеличение его объема с целью коррекции распределения доз при планировании лучевой терапии. Всем пациенткам был проведен курс дистанционной лучевой терапии в полном объеме.

Выводы

Таким образом, анализируя данные литературы, можно сделать вывод, что, несомненно, риски ранних и поздних осложнений при проведении лучевой терапии на реконструированную молочную железу несколько выше, чем у женщин без предшествующих реконструктивно-пластических операций. Однако тщательный отбор пациенток для проведения реконструктивной операции с использованием импланта/экспандера и ЛТ, современные методы ведения пациенток данной группы на этапе проведения лучевой терапии позволяют снизить риски подобных осложнений. Высокое качество жизни, онкологическая безопасность и эстетический результат позволяют хирургам-онкологам выполнять реконструктивно-пластические операции на молочной железе с использованием импланта/экспандера и планировать проведение лучевой терапии после данной операции совместно с радиотерапевтами, учитывая все нюансы и возможные риски.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018 Nov; 68(6): 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. 250 с.
3. Reuben B.C., Manwaring J., Neumayer L.A. Recent trends and predictors in immediate breast reconstruction after mastectomy in the United States. *Am J Surg.* 2009 Aug; 198(2): 237–43. doi: 10.1016/j.amjsurg.2008.11.034.
4. Ragaz J., Jackson S.M., Le N., Plenderleith I.H., Spinelli J.J., Basco V.E., Wilson K.S., Knowling M.A., Coppin C.M., Paradis M., Coldman A.J., Olivetto I.A. Adjuvant radiotherapy and chemotherapy in node-positive premenopausal women with breast cancer. *N Engl J Med.* 1997 Oct 2; 337(14): 956–62.
5. Tallet A.V., Salem N., Moutardier V., Ananian P., Braud A.C., Zalta R., Cowen D., Houvenaeghel G. Radiotherapy and immediate two-stage breast reconstruction with a tissue expander and implant: complications and esthetic results. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003 Sep 1; 57(1): 136–42.
6. Lentz R., Ng R., Higgins S.A., Fusi S., Matthew M., Kwei S.L. Radiation therapy and expander-implant breast reconstruction: an analysis of timing and comparison of complications. *Ann Plast Surg.* 2013; 71: 269–73.
7. Brooks S., Djohan R., Tendulkar R., Nutter B., Lyons J., Dietz J. Risk factors for complications of radiation therapy on tissue expander breast reconstructions. *Breast J.* 2012; 18(1): 28–34.
8. Cordeiro P.G., Albornoz C.R., McCormick B., Hudis C.A., Hu Q., Heerdt A., Matros E. What is the Optimum Timing of Post-mastectomy Radiotherapy in Two-stage Prosthetic Reconstruction: Radiation to the Tissue Expander or Permanent Implant? *Plast Reconstr Surg.* 2015; 135(6): 1509–1517.
9. Lam T.C., Borotkanics R., Hsieh F., Salinas J., Boyages J. Immediate two-stage prosthetic breast reconstruction failure: radiation is not the only culprit. *Plast Reconstr Surg.* 2018 Jun; 141(6): 1315–1324. doi: 10.1097/PRS.0000000000004358.

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ И РОСТОВЫХ ФАКТОРОВ В ПРОГРЕССИРОВАНИИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

И.В. Ковалева

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Аннотация

Рак предстательной железы (РПЖ) является лидером по смертности среди всех видов злокачественных новообразований в структуре мужского населения [1]. Его клиническая, пространственная и морфологическая гетерогенность, а также молекулярно-генетическое разнообразие подчеркивают сложность этого заболевания в клинических и исследовательских условиях [2]. Прогрессирование РПЖ включает переход клеток от андроген-зависимого роста к андроген-независимому, иногда с появлением мутаций или даже потерей части рецепторов андрогенов [3]. При андроген-независимом раке предстательной железы развитие заболевания ассоциировано с изменением уровня экспрессии ростовых и транскрипционных факторов. Считается, что хроническое воспаление может не только способствовать развитию ДГПЖ, но и влиять на последующую злокачественную трансформацию клеток ПЖ. Его ключевым медиатором является транскрипционный фактор NF-κB, контролирующий экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла. Гипоксия, часто сопровождающая хроническое воспаление, может приводить к росту экспрессии факторов, активируемых гипоксией (HIF), как в тканях злокачественной, так и доброкачественной опухоли [4, 5]. HIF-зависимые белки, к которым относят сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), карбоангидразу IX (CAIX), рецептор VEGFR2, являются потенциальными маркерами агрессивности опухоли и её метастазирования [6–8]. В исследование были включены 97 пациентов: 55 мужчин составили группу пациентов с местнораспространенным раком предстательной железы (РПЖ) и 42 пациента с доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ) без выраженных сопутствующих заболеваний. В исследовании показана разнонаправленность изменений классических маркеров опухолевой патологии ПЖ (уровня сывороточного ПСА и тестостерона) с тяжестью патологических изменений в ПЖ. Отмечена значимость воспалительных реакций для злокачественной трансформации клеток простаты. Активация факторов HIF показана для ДГПЖ как признак высокой пролиферативной активности клеток ПЖ. Рост экспрессии рецептора VEGFR2 может быть использован в качестве дополнительного диагностического маркера. В литературе имеются многочисленные сведения о его роли в формировании метастатического РПЖ, что свидетельствует о его важном значении в прогрессировании опухоли.

Ключевые слова: рак предстательной железы, доброкачественная гиперплазия предстательной железы, ядерный фактор NF-κBp65, NF-κBp50, HIF-1, HIF-2, VEGF, VEGFR2, CAIX.

THE ROLE OF GROWTH AND TRANSCRIPTION FACTORS IN PROSTATE CANCER PROGRESSION

I.V. Kovaleva

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract

Prostate cancer is a leading cause of cancer-related death among men [1]. Its clinical, spatial, and morphological heterogeneity and molecular genetic diversity outline the complexity of this disease in the clinical and research settings [2]. Prostate cancer progression includes the switching of cells from androgen-dependent growth to an androgen-independent state, sometimes with the mutation or even the loss of the androgen receptors in PC cells [3]. Realization of androgen-independent prostate cancer associated with a change in the expression level of growth and transcription factors. Chronic inflammation is considered to be affecting malignant transformation of human benign prostate epithelial cells. Its key mediator NF-κB controls regulating the immune response, cell cycle and apoptosis. Hypoxia, often associated with chronic inflammation, can cause the expression of factors activated by hypoxia (HIF). It can occur both in prostate cancer tissues and in benign prostate hyperplasia cells. HIF-dependent proteins such as vascular endothelial growth factor (VEGF), carbonic anhydrase IX (CAIX), VEGFR2 receptors are potential markers of tumor aggressiveness and its metastasis. 97 patients with prostate pathology without any clinically expressed co-morbidities were enrolled in the study. They received therapy in the Department of Surgical Oncology of the Cancer Research

Institute of Tomsk National Research Medical Center. Forty-two patients had benign prostatic hyperplasia (BH). Fifty-five patients had locally advanced prostate cancer (PCa). The study shows the multidirectional nature of changes in the level of serum PSA and testosterone with the severity of the prostate tumor pathology. It is noticed that the immune inflammation plays important role in tumor's malignant transformation. The development of hypoxia and the increase in the expression of factors HIF-1, HIF-2 were recorded in BH patients. At the same time, an increase in the VEGFR2 growth is significant for the malignant transformation of prostate cells.

Key words: prostate cancer, benign prostatic hyperplasia, nuclear factor NF- κ Bp65, NF- κ Bp50, HIF-1, HIF-2, VEGF, VEGFR2, CAIX.

Цель – изучение экспрессии транскрипционных и ростовых факторов, оценка уровня сывороточного тестостерона и простат-специфического антигена (ПСА) у больных раком предстательной железы и пациентов с доброкачественной гиперплазией.

Материал и методы

В исследование были включены 97 пациентов с гистологически верифицированной опухолевой патологией предстательной железы без выраженных сопутствующих заболеваний, получавших лечение в отделении общей онкологии Томского НИИ онкологии Томского НИМЦ. Группа пациентов с местнораспространённым раком предстательной железы (РПЖ) без развития кастрационно-рефрактерной формы представлена 55 мужчинами, 42 пациента имели доброкачественную гиперплазию предстательной железы (ДГПЖ). В исследовании использовались образцы гиперплазированной и опухолевой ткани, полученные при проведении диагностической биопсии, а также нормальная ткань простаты, которая была получена при оперативном вмешательстве у больных раком мочевого пузыря. Уровень ПСА и тестостерона в сыворотке крови был исследован с помощью наборов ИФА (Вектор Бест, Россия). В тканях больных методом ПЦР в реальном времени определяли уровень мРНК транскрипционных факторов NF- κ B p65 и p50, HIF-1 α , HIF-2 α , ростовых факторов VEGF, CAIX, VEGFR2.

Результаты и обсуждение

Возрастная характеристика, а также уровень ПСА и тестостерона в сравниваемых группах представлены в таблице. При этом более высокий уровень ПСА и тестостерона (соответственно в 1,1 и 3,1 раза) был зафиксирован у больных с ДГПЖ (по сравнению с пациентами с РПЖ).

При изучении уровня мРНК у пациентов с патологией предстательной железы выявлено увеличение экспрессии ростового фактора VEGF в 16,6 раза у больных РПЖ по сравнению с пациентами с аденомой предстательной железы. Значимые изменения транскрипционных факторов были связаны с агрессивностью заболевания. Так, экспрессия транскрипционного фактора HIF-1 α увеличивается при уменьшении степени дифференцировки опухоли в группах пациентов с уровнем Глисона от 6 до 9. Рост экспрессии факторов, активируемых гипоксией (HIF), наблюдается еще в ткани доброкачественной гиперплазии и коррелирует с тяжестью патологических изменений. По данным F. Wu et al. [9], этот факт указывает на высокий уровень пролиферативной активности в доброкачественной опухоли. Считается, что хроническое воспаление может не только способствовать развитию ДГПЖ, но и влиять на злокачественную трансформацию клеток ПЖ. Его ключевым медиатором является транскрипционный фактор NF- κ B, контролирующий экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла. Экспрессия транскрипционного фактора NF- κ B p50 изменялась волнообразно: снижалась у пациентов с размером опухоли, соответствующей стадии T3, по сравнению с больными со стадией T2 и в дальнейшем повышалась, достигая начальных высоких значений, при стадии T4.

Выводы

Выявлена роль ростовых и транскрипционных факторов в развитии злокачественной патологии предстательной железы. В исследовании показана разнонаправленность изменений классических маркеров опухолевой патологии ПЖ (уровня сывороточного ПСА и тестостерона) с тяжестью патологических изменений в ПЖ. Отмечена значимость воспалительных реакций для злокачественной трансформации клеток простаты. Активация факторов HIF показана для ДГПЖ как признак высокой пролиферативной активности клеток ПЖ. Рост экспрессии рецептора VEGFR2 может быть использован в качестве дополнительного диагностического маркера [10].

Таблица

Возрастная характеристика и клинико-диагностические показатели пациентов с патологией предстательной железы

Показатель	ДГПЖ, n=42	РПЖ, n=55
Возраст, лет	65.0 (61.0; 70.0)	62.0 (57.0; 68.0)
Уровень ПСА, нмоль/л	8.7 (6.1; 17.0)	8.0 (6.0; 12.0)
Уровень тестостерона, нмоль/л	14.37 (6.1; 17.0)	4.6 (4.6; 23.0)

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М.: РИИС ФИАИ. 2018. 250.
2. Tolkach Y., Kristiansen G. The Heterogeneity of Prostate Cancer: A Practical Approach. Pathobiology. 2018; 85(12): 108–116. doi: 10.1159/000477852.
3. Wang G., Zhao D., Spring D.J., DePinho R.A. DePinho. Genetics and biology of prostate cancer. Genes Dev. 2018 Sep 1; 32(1718): 1105–1140. doi: 10.1101/gad.315739.118.
4. Deep G., Panigrahi G.K. Hypoxia-Induced Signaling Promotes Prostate Cancer Progression: Exosomes Role as Messenger of Hypoxic Response in Tumor Microenvironment. Crit Rev Oncog. 2015; 20(56): 41934. doi: 10.1615/CritRevOncog.v20.i5-6.130.
5. Chen Y., Xu H., Shi Q., Gu M., Wan X., Chen Q., Wang Z. Hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) mediates the epithelial-mesenchymal transition in benign prostatic hyperplasia. Int J Clin Exp Pathol. 2019 Jan 1; 12(1): 295–304.
6. Ambrosio M.R., Di Serio C., Danza G., Rocca B.J., Ginori A., Prudovsky I., Marchionni N., Del Vecchio M.T., Tarantini F. Carbonic anhydrase IX is a marker of hypoxia and correlates with higher Gleason scores and ISUP grading in prostate cancer. Diagn Pathol. 2016 May 25; 11(1): 45. doi: 10.1186/s13000-016-0495-1.
7. Huang M., Du H., Zhang L., Che H., Liang C. The association of HIF-1 α expression with clinicopathological significance in prostate cancer: a meta-analysis. Cancer Manag Res. 2018 Aug 21; 10: 2809–2816. doi: 10.2147/CMAR.S161762.
8. Rivera-Pérez J., Monter-Vera M.D.R., Barrientos-Alvarado C., Toscano-Garibay J.D., Cuesta-Mejías T., Flores-Estrada J. Evaluation of VEGF and PEDF in prostate cancer: A preliminary study in serum and biopsies. Oncol Lett. 2018 Jan; 15(1): 1072–1078. doi: 10.3892/ol.2017.7374.
9. Wu F., Ding S., Li X., Wang H., Liu S., Wu H., Bi D., Ding K., Lu J. Elevated expression of HIF-1 α in actively growing prostate tissues is associated with clinical features of benign prostatic hyperplasia. Oncotarget. 2016 Mar 15; 7(11): 12053–62. doi: 10.18632/oncotarget.7641.
10. Grivas N., Goussia A., Stefanou D., Giannakis D. Microvascular density and immunohistochemical expression of VEGF, VEGFR-1 and VEGFR-2 in benign prostatic hyperplasia, high-grade prostate intraepithelial neoplasia and prostate cancer. Cent European J Urol. 2016; 69(1): 63–71. doi: 10.5173/ceju.2016.726.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РИСКА РЕЦИДИВИРОВАНИЯ У ВПЧ16-ПОЗИТИВНЫХ БОЛЬНЫХ С ЦЕРВИКАЛЬНЫМИ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ НЕОПАЗИЯМИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ НА ОСНОВЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОГО СТАТУСА ВИРУСА

Е.В. Кокорина^{1,2}, М.К. Ибрагимова¹, А.М. Певзнер^{1,2}, М.М. Цыганов¹

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

Известно, что физический статус является прогностическим фактором при РШМ и с помощью его определения можно прогнозировать исход у больных РШМ. Мы предположили, что физический статус ВПЧ так же, как и при РШМ, будет иметь прогностическую значимость при LSIL и HSIL. **Целью исследования** явился поиск прогностического критерия для оценки риска рецидивирования у больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями различной степени тяжести. В ходе исследования было обследовано 37 пациенток с LSIL (cervical intraepithelial neoplasia grade I), 131 – с HSIL (cervical intraepithelial neoplasia grade II-III) и 150 женщин без патологических изменений слизистой шейки матки. Всем пациенткам было проведено комплексное обследование, которое включало следующие этапы: гинекологический осмотр, кольпоскопию, цитологическое, гистологическое исследование, молекулярно-генетический анализ – выявление и генотипирование вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР), оценку вирусной нагрузки ДНК ВПЧ и определение физического статуса ДНК ВПЧ 16 типа (n=208) методом Real-timePCR. Количество ВПЧ-инфицированных среди женщин без морфологических изменений шейки матки составило 50,7 %, у пациенток с LSIL+ HSIL – 78,5 %. Обнаружено увеличение числа интегрированных и смешанных форм и снижение числа эписомальных

форм по мере морфологической перестройки эпителия шейки матки – от женщин без морфологических изменений эпителия шейки к пациенткам с HSIL. При сравнении распределения частот всех трех форм ВПЧ (эписомальной, смешанной и интегрированной) между больными с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями различной степени тяжести и пациентками без морфологических изменений шейки матки была определена статистическая значимость различий на уровне $p=0,0002$. В результате изучения частоты интегрированных форм вируса папилломы человека 16 генотипа при LSIL и HSIL, было установлено, что частота возникновения рецидивов при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях различной степени тяжести определяется физическим статусом ВПЧ16.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, вирусная нагрузка, интегрированная и эписомальная формы ВПЧ, CIN.

PREDICTION OF THE RISK OF RECURRENCE IN HPV16-POSITIVE PATIENTS WITH CERVICAL INTRAEPITHELIAL LESIONS BASED ON THE DETERMINATION OF THE PHYSICAL STATUS OF THE VIRUS

E.V. Kokorina^{1,2}, M.K. Ibragimova¹, A.M. Pevsner^{1,2}, M.M. Tsyganov¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia¹
Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

It is known that physical status is a prognostic factor in cervical cancer and with its determination it is possible to predict the outcome in patients with cervical cancer. We suggested that the physical status of HPV, as well as with cervical cancer, will have prognostic significance with LSIL and HSIL. The aim of the study was to find a prognostic criterion for assessing the risk of recurrence in patients with cervical intraepithelial neoplasia. The study involved 168 patients with precancer (37 with cervical intraepithelial neoplasia grade 1 (LSIL) and 131 with cervical intraepithelial neoplasia grade II-III (HSIL)) and also 150 women with no pathological changes in cervical mucous. The comprehensive survey included gynecological examination, colposcopy, cytological and histological analysis, detection and genotyping of high-risk human papillomavirus, viral load and physical status of HPV16 DNA was evaluated in cases of mono-infection ($n = 208$). The prevalence of virus-positive cases among the patients with LSIL/HSIL and healthy women was 78.5 and 50.7 %, respectively. As the cervical canal epithelium changes, the purely mixed and integrated forms of the virus increase; the number of episomal forms decreases. When comparing the frequency distribution of all three forms of HPV between patients with LSIL and HSIL and patients without morphological changes of the cervix, the statistical significance of the differences at $p = 0.0002$ was established. As a result of a study on the frequency of integrated human papillomavirus 16 genotypes in cervical neoplasias, it was found that the frequency of recurrences in cervical intraepithelial neoplasias of varying severity is determined by the physical status of HPV16.

Key words: Human papillomavirus, viral load, integrated and episomal forms of HPV, CIN.

Актуальность

Важнейшим этиологическим фактором рака шейки матки является вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР), следствием инфицированности которым являются морфологические изменения эпителия шейки матки, приводящие к развитию цервикальных интраэпителиальных неоплазий различной степени тяжести – LSIL (Low grade squamous intraepithelial lesion, низкая степень интраэпителиального повреждения плоского эпителия) и HSIL (High grades quamous intraepithelial lesion, высокая степень интраэпителиального повреждения плоского эпителия), то есть предраковых патологий шейки матки [1]. В качестве стандартного показателя инфицирования вирусом применяется оценка вирусной нагрузки ВПЧ ВКР, при этом показано, что клинически значимая вирусная нагрузка ($>3 \lg$) статистически чаще наблюдается у больных с HSIL по сравнению с пациентками с LSIL. Более того, подобная закономерность прослеживается и при уже сформировавшейся злокачественной патологии шейки матки – у больных раком шейки матки (РШМ) статистически чаще наблюдается клинически значимая вирусная нагрузка, чем у пациенток с интраэпителиальной неоплазией [2]. Однако, согласно результатам собственных предыдущих иссле-

дований, вирусная нагрузка не может выступать в качестве прогностического фактора при раке шейки матки и с ее помощью нельзя прогнозировать безрецидивную выживаемость [3]. Другим показателем вирусной инфекции, который исследуется в настоящее время, является физический статус вируса. Согласно современным литературным данным, ВПЧ после проникновения в клетку может существовать в 3 различных функциональных состояниях: эписомальной (свободной) форме (вне хромосом клетки), интегрированной (встроенной) (встроена в геном клетки) и смешанной форме (одновременное наличие свободного и встроенного в ДНК клетки-хозяина вируса) [4]. Показано, что физический статус является прогностическим фактором при РШМ и, определив его, можно прогнозировать исход у больных РШМ [5]. Мы предположили, что физический статус ВПЧ так же, как и при РШМ, будет иметь прогностическую значимость и при LSIL/HSIL.

Целью исследования явился поиск молекулярно-вирусологического критерия для прогнозирования риска рецидивирования у больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями различной степени тяжести.

Материал и методы

В исследовании были проанализированы данные от 318 женщин, разделенных на две группы по критерию наличия/отсутствия морфологических изменений шейки матки. В одну группу были включены 150 женщин, не имеющих морфологических изменений шейки матки, во вторую – 168 пациенток с наличием диспластических изменений шейки матки различной степени тяжести, в том числе 37 пациенток с LSIL и 131 пациентка с HSIL. Материалом для исследования служили соскобы эпителия цервикального канала и наружной части шейки матки. Всем пациенткам было проведено комплексное обследование, включающее следующие этапы: гинекологический осмотр, кольпоскопию, проведение цитологического и гистологического исследования. Далее для всех пациенток было проведено вирусологическое исследование, включающее выявление и типирование ДНК вируса папилломы человека. После проведения генотипирования ДНК ВПЧ была выделена группа с носительством моноинфекции ВПЧ 16 генотипа ($n=132$), включающая 76 пациенток без морфологических изменений шейки матки, 20 пациенток с LSIL и 112 больных с HSIL. Для последней группы больных было проведено определение физического статуса ДНК ВПЧ 16 типа. Качественное и количественное определение ДНК ВПЧ было проведено при помощи метода Real-Time PCR (RotorGene 6000, «CorbettResearch») с использованием комплектов реагентов фирмы «Amplisens®» («АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-FL», «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-FL»). Анализ результатов исследования ДНК биологического материала осуществлялся при помощи программы, заложенной в стандартную инструкцию к набору реагентов «Amplisens®» ВПЧ ВКР скрин-титр-FL, обработка результатов в которой позволяет оценить вирусную нагрузку и степень интеграции ДНК ВПЧ 16 генотипа.

Результаты

Общая инфицированность ВПЧ ВКР среди пациенток без морфологических изменений шейки матки составила 50,7 % (76/150); в группе пациенток с LSIL и HSIL – 78,5 % ((20 и 112)/168 соответственно) ($p=1,4 \times 10^{-7}$, $OR(95CI\%) = 3,50 (2,19-5,81)$ по сравнению с группой обследованных без морфологических изменений шейки матки). Анализ частоты встречаемости различных типов ВПЧ ВКР показал, что в Томской области ВПЧ 16 типа встречается в 65,8 % (50/76) случаев среди женщин без морфологических изменений шейки матки и в 79,5 % (105/132) среди пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями различной степени тяжести ($p=0,03$, $OR(95CI\%) = 2,00 (1,07-3,82)$ по сравнению с пациентками без морфологических изменений шейки матки). При определении вирусной нагрузки было выявлено, что количество пациенток с показателем клинически малозначимой вирусной нагрузки в группе женщин без морфологических изменений шейки матки составило 78,7 %; в группе больных LSIL+HSIL – 32,5 %. Показатель клинически значимой вирусной нагрузки у женщин без морфологических изменений шейки матки составил 21,3 %; в группе больных LSIL и HSIL – 67,4 % ($p=6,1 \times 10^{-11}$ по сравнению с женщинами без морфологических изменений). Показано, что в группе ВПЧ16-положительных пациенток по мере морфологической перестройки эпителия шейки матки увеличивалась частота встречаемости интегрированных (2,0 % и 20,0 % у пациенток без морфологических изменений эпителия шейки матки и у пациенток с диагнозом LSIL+HSIL соответственно) и смешанных (76,0 % и 74,3 %) форм ВПЧ, тогда как частота эписомальных форм ВПЧ снижалась по аналогичному принципу (22,0 % и 5,7 %). Сравнение распределения частот всех трех форм ВПЧ между пациентками без морфологических изменений шейки матки и больными с диагнозом LSIL и HSIL выявило статистическую значимость различий (по критерию хи-квадрат) ($p=0,0002$).

Анализ риска возникновения рецидивов при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях различной степени тяжести показал, что среди ВПЧ16-положительных пациентов частота рецидивирования зависит от степени тяжести дисплазии ($p=0,021$) и от формы интеграции вируса ($p=0,000$) (рис. 1).

При этом было установлено отсутствие влияния наличия клинически значимой вирусной нагрузки на частоту возникновения рецидивов в группе пациенток с CIN 1–3 ($p=0,128$). В связи с этим было построено уравнение регрессии Кокса, позволяющее создать прогностическую модель возникновения рецидивов у ВПЧ-положительных пациенток, которое учитывало оба статистически значимых показателя в качестве переменных. Однако критерий Кокса выявил, что значимый вклад в частоту рецидивирования вносит только статус ВПЧ ($p=0,006$), в то время как степень дисплазии оказалась незначимой ($p=0,126$).

Вывод

В результате исследования установлена прогностическая значимость определения физического статуса ВПЧ 16 типа в отношении рецидивирования цервикальных интраэпителиальных неоплазий различной степени тяжести, согласно которому интегрированная форма вируса является неблагоприятным фактором прогноза, и рецидив у таких больных наступает в более чем 50 % случаев. Наличие эписомальной формы вируса является благоприятным прогностическим фактором, обеспечивающим 5-летний период без возникновения морфологических изменений эпителия шейки матки.

Работа поддержана грантом РФФИ 20-015-00023 А.

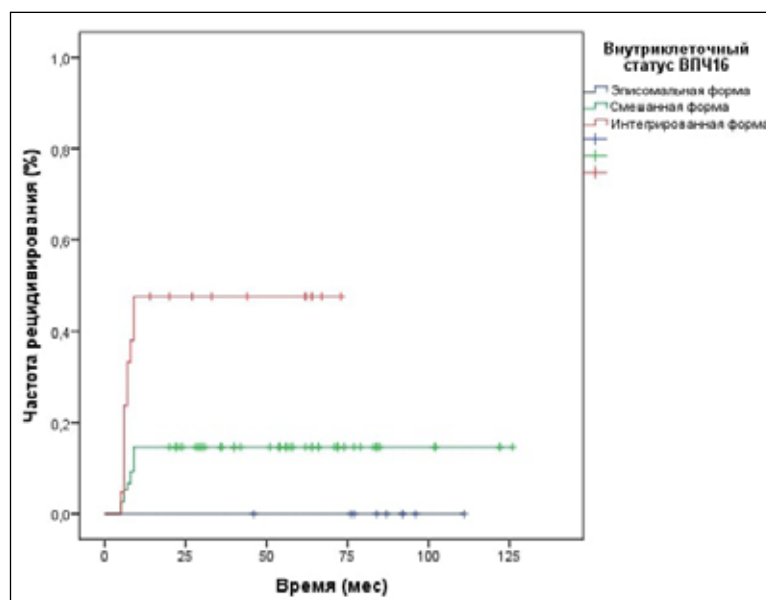


Рис. 1. Частота рецидивирования HSIL в зависимости от внутриклеточного статуса ВПЧ ($p=0,000$)

ЛИТЕРАТУРА

1. Apgar B.S., Zoschnick L., Wright T.C.Jr. The 2001 Bethesda System terminology. Am Fam Physician. 2003 Nov 15; 68(10): 1992–8.
2. Bruni L., Diaz M., Castellsagué X., Ferrer E., Bosch F.X., de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. J Infect Dis. 2010 Dec 15; 202(12): 1789–99. doi: 10.1086/657321.
3. Ibragimova M., Tsyganov M., Shpileva O., Churuksaeva O., Bychkov V., Kolomiets L., Litviakov N. HPV status and its genomic integration affect survival of patients with cervical cancer. Neoplasma. 2018 Mar 14; 65(3): 441–448. doi: 10.4149/neo_2018_170414N277.
4. Jiang M., Baseman J.G., Koutsky L.A., Feng Q., Mao C., Kiviat N.B., Xi L.F. Sequence variation of human papillomavirus type 16 and measurement of viral integration by quantitative PCR. J Clin Microbiol. 2009 Mar; 47(3): 521–6. doi: 10.1128/JCM.02115–08.
5. Joo J., Shin H., Park B., Park S., Yoo C., Yoon K., Kong S., Kim Y., Kim S.S., Kim J. Integration Pattern of Human Papillomavirus Is a Strong Prognostic Factor for Disease-Free Survival After Radiation Therapy in Cervical Cancer Patients. International journal of radiation oncology, biology, physics. 2017; 98(3): 654–661.

ЭКСПРЕССИЯ МРНК, СОДЕРЖАНИЕ АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ И ИХ СВЯЗЬ С КАЛЬПАИНАМИ ПРИ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Е.С. Колегова¹, Д.Н. Костромицкий²

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Областное государственное автономное учреждение здравоохранения «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия²

Аннотация

Пятилетняя выживаемость больных немелкоклеточным раком легких (НМРЛ) не превышает 55 %, а наиболее частой причиной смерти оперированных больных являются гематогенные метастазы (60–70 %). Значимыми процессами, происходящими на клеточном уровне и определяющими метастатический потенциал опухолевых клеток, являются нарушение адгезивных свойств и приобретение способности к активному перемещению в экстраклеточном матриксе, важную роль в которых играет реорганизация актинового цитоскелета. Эти процессы опосредуются функционированием актин-связывающих белков (АСБ), в связи с чем их изучение является **актуальным**. Известно, что АСБ являются субстратом для кальпаиновой протеолитической системы. Поэтому **целью работы** явилось изучение уровня экспрессии мРНК и содержания АСБ (аденилат-циклаза ассоциированного протеина 1, кофилина, профилина, фасцина, эзрина) и уровень экспрессии мРНК кальпаина 1 и 2, а также активность кальпаинов в тканях больных НМРЛ в связи с метастазированием. **Материал и методы.** Материалом для исследования явилась опухолевая и неизменная ткань легкого больных НМРЛ (n=46). Анализ экспрессии мРНК АСБ и кальпаинов проводился методом ПЦР в реальном времени. Уровень АСБ оценивался с помощью метода Вестерн-блоттинг. Активность кальпаинов измеряли флюориметрическим методом. **Результаты.** Выявлено увеличение уровня мРНК и содержания АСБ, а также уровня мРНК и активности кальпаинов в ткани первичной опухоли по сравнению с неизменной тканью легкого. Корреляционный и регрессионный анализ показал, что уровни экспрессии мРНК АСБ и кальпаина 1 находятся в обратной зависимости в ткани опухоли при НМРЛ, а содержание белков – с активностью кальпаинов. Продemonстрирована значимая связь экспрессии мРНК изучаемых АСБ в опухолевой ткани больных НМРЛ с 2-летней безметастатической выживаемостью. **Выводы.** Показана связь изменения экспрессии мРНК АСБ с метастазированием НМРЛ. В ткани опухоли при НМРЛ уровни экспрессии мРНК АСБ и кальпаина 1 находятся в обратной зависимости, а содержание белков – с активностью кальпаинов.

Ключевые слова: актин-связывающие белки (АСБ), аденилат циклаза-ассоциированный протеин 1, кофилин, эзрин, фасцин, профилин, кальпаины, немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), метастазирование.

ACTIN-BINDING PROTEIN MRNA EXPRESSION, PROTEIN LEVEL AND THEIR ASSOCIATION WITH CALPAINS IN METASTASIS OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER

E.S. Kolegova¹, D.N. Kostromitsky²

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Tomsk Regional Oncology Center, Tomsk, Russia²

Abstract

Five-year survival of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) does not exceed 55 %. The most common cause of death for operated patients is hematogenous metastases (60–70 %). Significant processes occurring at the cellular level and determining the metastatic potential of tumor cells are a violation of the adhesive properties and the acquisition of the ability to actively move in the extracellular matrix, in which the actin cytoskeleton reorganization plays an important role. These processes are mediated by the functioning

of actin-binding proteins (ABPs), and therefore, their study is relevant. ABPs are known to be a substrate for the calpain proteolytic system. Therefore, the **aim** of the work was to study the level of mRNA expression and the level of ABPs (adenylyl cyclase associated protein 1, cofilin, profilin, fascin, ezrin) and the level of mRNA expression of calpain 1 and 2, as well as the activity of calpains in the tissues of patients with NSCLC. **Material and Methods.** Normal and tumor tissues of the lung of patients with NSCLC (N = 46) were studied. Analysis of the ABPs mRNA expression was performed by real-time PCR. The level of ASB was assessed using the Western blot method. Calpain activity was measured by fluorimetric method. **Results:** An increase in the level of mRNA and the protein level of ABPs, as well as the level of mRNA and the activity of calpains in the tissue of the primary tumor was revealed compared with unchanged lung tissue. Correlation and regression analysis showed that the expression levels of ABPs and calpain 1 mRNA are inversely related in the tumor tissue in NSCLC, and the protein level is associated with calpain activity. A significant relationship between the mRNA expression of the studied ABPs in the tumor tissue of patients with NSCLC and 2-year metastatic survival was demonstrated. **Conclusions:** The relationship between changes in mRNA expression of ABPs and metastasis of NSCLC was shown. In the tumor tissue in NSCLC, the levels of expression of ABPs and calpain 1 mRNA are inversely related, and the protein level is associated with calpain activity.

Keywords: actin-binding proteins (ABPs), cyclase-associated protein 1 (CAP1), cofilin, ezrin, fascin, profilin, calpains, non-small cell lung cancer (NSCLC), metastasis.

Актуальность

Пятилетняя выживаемость больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) не превышает 55 %, а наиболее частой причиной смертности оперированных больных являются гематогенные метастазы [1]. Метастатический потенциал опухолей определяют такие процессы, как нарушение адгезивных свойств и приобретение способности к активному перемещению в экстраклеточном матриксе, важную роль в которых играет реорганизация актинового цитоскелета [2]. Эти процессы опосредуются функционированием актин-связывающих белков (АСБ), в связи с чем актуально изучение уровня экспрессии генов АСБ. Показано, что АСБ играют важную роль в развитии злокачественных опухолей [3–5], в связи с чем предлагается их использование как маркеров возникновения и течения рака [6, 7]. Несмотря на существующие обобщающие данные о нарушении адгезивных свойств опухолевых клеток, возникает вопрос, каким образом происходит первичная активация и регуляция АСБ в клетке. Известно, что АСБ являются физиологическими субстратами для кальпаиновой внутриклеточной протеолитической системы в нормальных условиях [8]. Поэтому интересным представляется оценить связь изменений в уровне экспрессии мРНК и содержании АСБ с уровнем экспрессии мРНК и активностью кальпаинов при метастазировании НМРЛ.

Цель исследования – изучить уровень экспрессии мРНК и содержание АСБ (аденилат-циклаза ассоциированного протеина 1 (CAP1), кофилина (CFL1), профилина (PFL1), фасцина (FSCN1), эзрина (EZR)) и уровень экспрессии мРНК кальпаина 1 (CAPN1) и 2 (CAPN2), а также активность кальпаинов в тканях больных НМРЛ в связи с метастазированием.

Материал и методы

В исследование вошло 46 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом НМРЛ (T2–3N0–2M0), возраст 40–70 лет, не получавших НАХТ. Материалом для исследования явилась опухолевая и неизмененная ткань легкого. Анализ экспрессии мРНК АСБ и кальпаинов проводился методом ПЦР в реальном времени. Нормализация экспрессии проводилась на условно неизмененную ткань и референсный ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH. Уровень АСБ оценивался с помощью метода Вестерн-блоттинг с применением первичных антител мыши в разведении 1:1500 и вторичных антимышиных антител в разведении 1:2000. Активность кальпаинов измеряли флуориметрическим методом по гидролизу специфического флуорогенного олигопептида. Статистическая обработка результатов проводилась с применением пакета программ IBM SPSS Statistics 20.

Результаты

На первом этапе оценили изучаемые показатели в опухолевой ткани по отношению к неизмененной ткани легкого (рис. 1). Обнаружили, что экспрессия мРНК АСБ была значимо выше по сравнению с неизмененными тканями легкого. Заметнее всего наблюдалось изменение экспрессии мРНК фасцина: у 80 % пациентов наблюдалось его повышение по сравнению с нормальной тканью легкого. мРНК остальных белков были повышены примерно у 60–61 % пациентов. Также в опухолевой ткани можно отметить активацию кальпаиновой системы. Уровень экспрессии гена 1 кальпаина повышался у 75 % больных, а уровень мРНК кальпаина 2 – у 61 % пациентов. При этом увеличивалась и активность кальпаинов.

Были проанализированы взаимосвязи между изучаемыми показателями в ткани опухоли методом корреляционного и регрессионного анализа (рис. 2). Показаны положительные корреляционные взаимосвязи между содержанием АСБ, а также коэкспрессия их генов. Также отмечены отрицательные корреляции между экспрессией мРНК гена кальпаина 1 и экспрессией мРНК генов АСБ. Регрессионным анализом была подтверждена отрицательная связь активности кальпаинов и содержания АСБ в опухолевой ткани. Полученные закономерности в изменении экспрессии мРНК были подтверждены изучением содержания этих белков Вестерн-блоттингом.

Изучена 2-летняя безметастатическая выживаемость 46 пациентов. У 10 человек (22 %) развились гематогенные метастазы в течение двух лет после операции. Среди изучаемых показателей была показана значимая связь уровня мРНК изучаемых АСБ в опухолевой ткани с безметастатической выживаемостью. Методом χ^2 показано, что увеличение экспрессии мРНК CAP1, кофилина, эзрина и фасцина в 2–3 раза, а профилина – в 6,6 раза по сравнению с нормальной тканью является неблагоприятным прогностическим фактором риска развития гематогенных метастазов ($p < 0,05$).

Выводы

Показано повышение уровня мРНК и содержания АСБ, а также уровня мРНК и активности кальпаинов в опухолевой ткани по сравнению с неизменной. Уровни экспрессии мРНК АСБ и кальпаина 1 находятся в обратной зависимости в ткани опухоли при НМРЛ, а содержание белков – с активностью кальпаинов. Высокий уровень экспрессии мРНК АСБ отрицательно влияет на безметастатическую выживаемость пациентов НМРЛ, что может быть использовано для прогнозирования риска развития гематогенных метастазов у пациентов с НМРЛ.

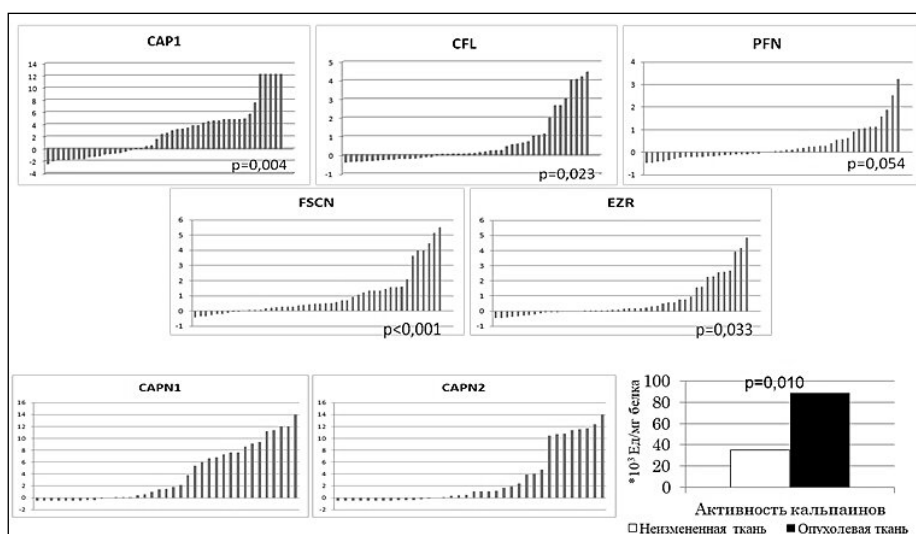


Рис. 1. Экспрессия мРНК генов аденилат-циклаза ассоциированного протеина 1 (CAP1), кофилина (CFL), профилина (PFL), фасцина (FSCN) и эзрина (EZR), кальпаина 1 (CAPN1), кальпаина 2 (CAPN2) и активность кальпаинов в опухолевой ткани больных НМРЛ. Примечание – уровни экспрессии мРНК в опухоли представлены по отношению к неизменной ткани, которая принята на гистограммах за 0. По оси абсцисс представлены образцы опухолевой ткани

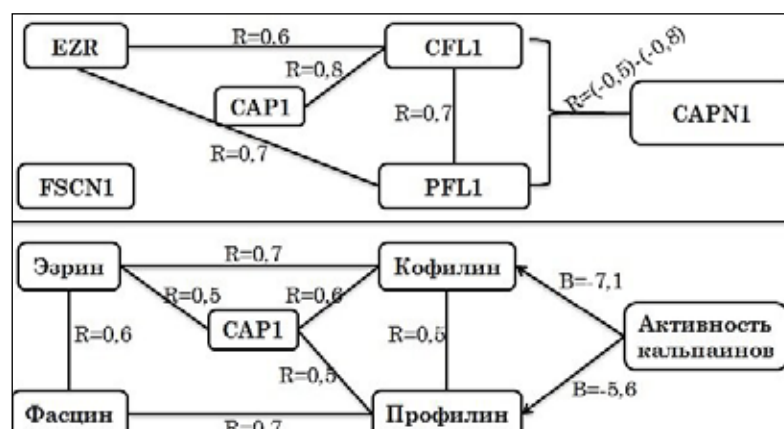


Рис. 2. Взаимосвязи между изучаемыми показателями в опухолевой ткани больных НМРЛ. Примечание: R – коэффициент корреляции Спирмена; B – коэффициент в уравнении линейной регрессии

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2018. 250 с.
2. Blanchoin L., Boujemaa-Paterski R., Sykes C., Plastino J. Actin dynamics, architecture, and mechanics in cell motility. *Physiol Rev.* 2014; 94(1): 235–263.
3. Какурина Г.В., Колегова Е.С., Кондакова И.В. Аденилатциклаза-ассоциированный протеин 1: структура, регуляция и участие в клеточных процессах. *Биохимия.* 2018; 83(1): 127–136.
4. Zhang H., Ghai P., Wu H., Wang C., Field J., Zhou G.L. Mammalian adenylyl cyclase-associated protein 1 (CAP1) regulates cofilin function, the actin cytoskeleton, and cell adhesion. *J Biol Chem.* 2013 Jul 19; 288(29): 20966–77. doi: 10.1074/jbc.M113.484535.
5. Cheng Y.J., Zhu Z.X., Zhou J.S., Hu Z.Q., Zhang J.P., Cai Q.P., Wang L.H. Silencing profilin-1 inhibits gastric cancer progression via integrin β 1/focal adhesion kinase pathway modulation. *World J Gastroenterol.* 2015 Feb 28; 21(8): 2323–35. doi: 10.3748/wjg.v21.i8.2323.
6. 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): 31–36.
7. Wang C.Q., Tang C.H., Chang H.T., Li X.N., Zhao Y.M., Su C.M., Hu G.N., Zhang T., Sun X.X., Zeng Y., Du Z., Wang Y., Huang B.F. Fascin-1 as a novel diagnostic marker of triple-negative breast cancer. *Cancer Med.* 2016 Aug; 5(8): 1983–8. doi: 10.1002/cam4.746.
8. Suzuki K., Hata S., Kawabata Y., Sorimachi H. Structure, activation, and biology of calpain. *Diabetes.* 2004 Feb; 53 Suppl 1: S12–8.

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СИСТЕМЫ ERAS У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ЖЕЛУДКА

Д.Н. Костромицкий¹, Е.С. Дроздов², Е.С. Колегова¹, М.Ю. Грищенко²,
У.Б. Урмонов¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия²

Аннотация

К настоящему времени с целью уменьшения числа послеоперационных осложнений, снижения койко-дня широко применяются протоколы улучшенного восстановления после хирургии (ERAS). Основными их задачами являются уменьшение степени послеоперационной тошноты и болевого синдрома, раннее восстановление функции желудочно-кишечного тракта, что в конечном итоге снижает продолжительность госпитализации и приводит к более быстрому восстановлению пациента в социальном плане. В 2014 году на основе данных японских и корейских исследований международным обществом ERAS были созданы рекомендации быстрого восстановления для пациентов с раком желудка, подвергшихся субтотальной/тотальной гастрэктомии [1]. Данные протоколы содержат более 25 компонентов, улучшающих течение послеоперационного периода. Учитывая, что большая часть исследований проведена на пациентах азиатской культуры, применение протоколов быстрого восстановления у пациентов с избыточной массой тела мало изучено как в России и Европе, так и в Соединенных Штатах. В связи с этим мы решили провести сравнительный анализ эффективности применения протоколов ERAS у 40 пациентов с раком желудка на базе онкологического отделения ОГАУЗ «ТООД». Было отмечено, что ранняя активизация пациентов на фоне мультимодальной анальгезии и энтерального питания позволяет в более короткие сроки восстановить перистальтику кишечника, снизить потребность в обезболивающих и сократить срок госпитализации ($p < 0,01$). Число послеоперационных осложнений было ниже в группе ERAS, чем в группе сравнения, – 8 случаев против 16. Наиболее часто в группе стандартного ведения встречались нагноение раны – 6 ($30 \pm 10,2$ %) случаев против 1 ($5 \pm 4,8$ %) случая и парез кишечника – 4 ($20 \pm 8,9$ %) случая против 2 ($10 \pm 6,7$ %) случаев. Повторные операции по поводу несостоятельности анастомоза и внутрибрюшного кровотечения выполнены у 3 ($15 \pm 7,9$ %) пациентов в группе стандартного лечения и у 1 ($5 \pm 4,8$ %) пациента из группы ускоренного восстановления. Случаев послеоперационной летальности в исследовании зафиксировано не было. Таким образом, применение протоколов ERAS совместно с лапароскопическими вмешательствами у больных раком желудка улучшает непосредственные и ближайшие результаты лечения.

Ключевые слова: рак желудка, лапароскопия, гастрэктомия, лимфодиссекция, ускоренное восстановление.

POSSIBILITIES OF USING THE ERAS SYSTEM IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER

D.N. Kostromitsky¹, E.S. Drozdov², E.S. Kolegova¹, M.Yu. Grishchenko²

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

Tomsk Regional Oncology Hospital, Tomsk, Russia²

Abstract

To date, in order to reduce the number of postoperative complications and reduce the bed day, the Advanced Surgery Recovery (ERAS) protocols are widely used. Their main tasks are to reduce the degree of postoperative nausea and pain, early restoration of gastrointestinal tract function, which ultimately reduces the duration of hospitalization and leads to a more rapid recovery of the patient in social terms. In 2014, based on data from Japanese and Korean studies, the international ERAS society created recommendations for quick recovery for patients with gastric cancer who underwent subtotal/total gastrectomy [1]. These protocols contain more than 25 components that improve the course of the postoperative period. Given that most studies have been conducted on patients with Asian culture, the use of rapid recovery protocols in overweight patients has been little studied, both in Russia and Europe, and in the United States. In this connection, we decided to conduct a comparative analysis of the effectiveness of the use of ERAS ducts in 40 patients with gastric cancer on the basis of the oncology department of Tomsk Regional Oncology Hospital. It was noted that early activation of patients on the background of multimodal analgesia and enteral nutrition can restore intestinal motility in a shorter time, reduce the need for painkillers and shorten the hospital stay ($p < 0.01$). The number of postoperative complications was lower in the ERAS group compared with 8 cases versus 16. Most often in the standard management group, suppuration of the wound was found in 6 ($30 \pm 10,2\%$) cases against 1 ($5 \pm 4,8\%$) cases and intestinal paresis 4 ($20 \pm 8,9\%$) cases against 2 ($10 \pm 6,7\%$) cases. Repeated operations for the failure of the anastomosis and intraperitoneal bleeding were performed in 3 ($15 \pm 7,9\%$) patients in the standard treatment group and in 1 ($5 \pm 4,8\%$) patient in the accelerated recovery group. There were no cases of postoperative mortality in the study. Thus, the use of ERAS protocols in conjunction with laparoscopic interventions in patients with gastric cancer improves the immediate and immediate results of treatment.

Key words: gastric cancer, laparoscopy, gastrectomy, lymphadenectomy, accelerated recovery.

Введение

Рак желудка занимает 3-е место в структуре онкологической заболеваемости и 2-е место по смертности от онкологических заболеваний в большинстве стран мира, в том числе и в России [2]. Ускоренное восстановление (fast track), а в настоящее время преобразованное в концепцию улучшенного восстановления после операции (ERAS), было впервые введено анестезиологом Kehlet в 1990-х гг. и к настоящему времени применяется как в общей хирургии, так и в различных отраслях онкологии [3]. В апреле 2015 г. было начато мультицентровое проспективное исследование под руководством U.F. Romario (ERGS study-Enhanced Recovery in Gastric Surgery), в котором показано, что ERAS технология при лапароскопических гастрэктомиях удовлетворительно переносится пациентами и снижает частоту осложнений, койко-день и риск повторных операций [4]. Японскими и корейскими исследованиями было продемонстрировано, что протоколы ERAS ускоряют восстановительный период при открытых гастрэктомиях у пациентов с раком желудка, что приводит к снижению послеоперационных осложнений и летальности, уменьшает число повторных госпитализаций [5]. Тем не менее роль ERAS при лапароскопических гастрэктомиях по-прежнему не ясна. Связано это с тем, что в доступной литературе имеется недостаточное количество сообщений о применении концепции быстрого восстановления у пациентов, перенесших лапароскопическую гастрэктомию [6]. Все они основаны на данных одноцентровых исследований с небольшой выборкой, что может повлиять на достоверность результатов. Поэтому нами проведен анализ возможности применения протоколов ERAS у пациентов с раком желудка для оценки течения послеоперационного периода и возможности снижения послеоперационного койко-дня.

Цель исследования – оценить возможность использования и переносимость методики ERAS у пациентов с раком желудка в условиях областного онкологического диспансера.

Материал и методы

В исследование включено 40 пациентов с морфологически верифицированным раком желудка, которые проходили лечение в условиях хирургического отделения ОГАУЗ «ТООД» с января 2015 г. по декабрь 2017 г. Все пациенты были разделены на 2 группы – первая группа стандартного ведения послеоперационного периода (20 пациентов), вторая группа – лапароскопическое вмешательство с соблюдением протоколов ERAS. В таблице 1 приведены основные клинические характеристики пациентов, включенных в исследование.

Как видно из табл. 1, пациенты обеих группы были сопоставимы по основным клинико-антропометрическим параметрам. Объем оперативного вмешательства предполагал 2 варианта – субтотальная дистальная гастрэктомия либо тотальная гастрэктомия. Лимфодиссекция во всех случаях проводилась в объеме Д2. В первой группе операция проводилась классическим открытым (лапаротомным) способом, во второй использовался лапароскопический вариант. В таблице 2 представлены основные объемы оперативных вмешательств и интраоперационные показатели.

Протокол ведения пациентов группы быстрого восстановления был составлен из нескольких пунктов, которые были разделены на пред-, интра- и послеоперационные, основанные на общих элементах программы ERAS, с предоперационной оптимизацией факторов риска (в том числе питание), уменьшение объема интра- и послеоперационной инфузии, применение раннего энтерального питания и сипингов, использование мультимодальной анальгезии с исключением опиоидов, удаление назо-гастральных зондов в течение 24 ч после операции и ранняя мобилизация пациентов.

Результаты

При анализе послеоперационного периода было установлено, что в группе ERAS длительность применения обезболивающей терапии было в 2 раза короче относительно группы со стандартным ведением пациентов, –3 сут против 6 ($p<0,01$). Также отмечено более раннее восстановление перистальтики кишечника и первых позывов к дефекации ($p<0,01$). Благодаря применению протоколов быстрого восстановления средний койко-день составил 8 сут, относительно группы сравнения – 13 сут ($p<0,01$). В обеих группах повторных госпитализаций (реадмиссий) выявлено не было. Осложнения, возникающие в послеоперационном периоде, в обеих группах оценивались согласно классификации Clavien – Dindo [7]. Общее число осложнений было статистически ниже в группе ERAS – 40 % против 80 % ($p<0,05$). Стоит отметить, что в проведенном исследовании не выявлено случаев послеоперационной детальности в исследуемых группах. Результаты послеоперационного периода представлены в табл. 3.

Закключение

Таким образом, применение лапароскопических вмешательств совместно с протоколами ERAS снижает частоту послеоперационных осложнений, уменьшает койко-день, проведенный пациентами после операции за счет снижения болевого синдрома, способствует более раннему восстановлению перистальтики кишечника и ранней активизации пациентов. Однако, учитывая малую выборку в исследовании, требуется дальнейшее исследование в данном направлении с увеличением числа пациентов в группах.

Таблица 1

Характеристика групп			
	Стандартное ведение (n = 20)	ERAS (n = 20)	p
Пол			
Мужчины	12 (60±10,9 %)	11 (55±10,5 %)	0,7
Женщины	8 (40±10,9 %)	9 (45±11,1 %)	
Средний возраст, лет	67,5±1,4	67,3±1,1	0,2
Индекс массы тела, кг/м ²	29,3 (18,5–38,2)	27,8 (17,9–36,5)	0,5
Локализация опухоли			
Антральный отдел	10 (50±11,1 %)	12 (60±10,9 %)	0,7
Тело желудка	6 (30±10,2 %)	7 (35±10,6 %)	
Кардиальный отд-л	4 (20±8,9 %)	1 (5±4,8 %)	
Нутриционный риск			
Высокий	3 (15±7,9 %)	5 (25±9,6 %)	0,6
Средний	5 (25±9,6 %)	6 (30±10,2 %)	
Низкий	12 (60±10,9 %)	9 (45±11,1 %)	

Таблица 2

Объем оперативных вмешательств

	Стандартное ведение (n = 20)	ERAS (n = 20)	p
Объем вмешательства			
Субтотальная гастрэктомия	12 (60±10,9 %)	15 (75±11,4 %)	0,9
Гастрэктомия	8 (40±10,9 %)	5 (25±9,6 %)	
Прод-ть операции, мин	180 (150–200)	240 (190–290)	<0,001*
Интраоперационная кровопотеря, мл	350 (120–800)	150 (90–300)	<0,001*

Таблица 3

Ближайшие послеоперационные результаты и осложнения.

	Стандартное ведение (n=20)	ERAS (n=20)	p
Восстановление функции ЖКТ, сут	4,1±1,6	2,4 ± 0,6	<0.05*
Послеоперационный койко-день, сут	13 (12–41)	8 (6–31)	<0.05*
Длительность применения анальгетиков, сут	6 (5–7)	3 (2–4)	<0.05*
Послеоперационные осложнения			
Степень I	16	8	<0.05*
Нагноение послеоперационной раны	6 (30±10,2 %)	1 (5±4,8 %)	<0.05*
Степень II	6	1	0,4
Длительный парез кишечника	6 (30±10,2 %)	4 (20±8,9 %)	0,3
Послеоперационный панкреатит	4	2	
Пневмония	2	2	
Степень III	0	1	
Несостоятельность анастомоза	4 (20±8,9 %)	3 (15±7,9 %)	
Внутрибрюшное кровотечение	1	0	
Кишечная непроходимость	2	1	
	1	1	
Повторные операции	3 (15±7,9 %)	2(10±6,7 %)	0,8

ЛИТЕРАТУРА

1. Tanaka R., Lee S.W., Kawai M., Tashiro K., Kawashima S., Kagota S., Honda K., Uchiyama K. Protocol for enhanced recovery after surgery improves short-term outcomes for patients with gastric cancer: a randomized clinical trial. *Gastric Cancer*. 2017 Sep; 20(5): 861–871. doi: 10.1007/s10120-016-0686-1.
2. Мерабишвили В.М. Рак желудка: эпидемиология, профилактика, оценка эффективности лечения на популяционном уровне. *Практическая онкология*. 2001; 3(7): 3–8.
3. Mortensen K., Nilsson M., Slim K., Schäfer M., Mariette C., Braga M., Carli F., Demartines N., Griffin S.M., Lassen K.; *Enhanced Recovery After Surgery (ERAS®) Group*. Consensus guidelines for enhanced recovery after gastrectomy: Enhanced Recovery After Surgery (ERAS®) Society recommendations. *Br J Surg*. 2014 Sep; 101(10): 1209–29. doi: 10.1002/bjs.9582.
4. Romario U.F., Weindelmayer J., Coratti A., Cossu A., Gianotti L., Rausei S., Sansonetti A., De Pascale S.; *Italian Group for Enhanced Recovery in Gastric Surgery (ERGS)*. Enhanced recovery after surgery in gastric cancer: which are the main achievements from the Italian experience? *Updates Surg*. 2018 Jun; 70(2): 257–264. doi: 10.1007/s13304-018-0522-8.
5. Yamada T., Hayashi T., Aoyama T., Shirai J., Fujikawa H., Cho H., Yoshikawa T., Rino Y., Masuda M., Taniguchi H., Fukushima R., Tsuburaya A. Feasibility of enhanced recovery after surgery in gastric surgery: a retrospective study. *BMC Surg*. 2014 Jul 8; 14: 41. doi: 10.1186/1471-2482-14-41.
6. Katai H., Mizusawa J., Katayama H., Takagi M., Yoshikawa T., Fukagawa T., Terashima M., Misawa K., Teshima S., Koeda K., Nunobe S., Fukushima N., Yasuda T., Asao Y., Fujiwara Y., Sasako M. Shortterm surgical outcomes from a phase III study of laparoscopyassisted versus open distal gastrectomy with nodal dissection for clinical stage IA/IB gastric cancer: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG0912. *Gastric Cancer*. 2017 Jul; 20(4): 699–708. doi: 10.1007/s10120-016-0646-9.
7. Dindo D., Demartines N., Clavien P.A. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Ann Surg*. 2004 Aug; 240(2): 205–13.

СКРИНИНГОВАЯ ЭЗОФАГОСКОПИЯ У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ГОРТАНОГЛОТКИ

А.Б. Кравченко, Г.В. Балицкий

Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Первично-множественным онкологическим процессом принято считать наличие у больного двух и более злокачественных заболеваний, развивающихся независимо друг от друга. При этом синхронными называются опухоли, выявленные одновременно или с интервалом не более 6 мес, метасинхронными – если интервал выявления составляет более 6 мес. Опухоли могут иметь различное или одинаковое гистологическое строение. При этом необходимо исключить возможность рецидива опухоли, распространения опухоли на соседние органы, вовлечение ею других анатомических отделов того же органа, также должно быть исключено прорастание органа метастазами [1, 2]. В 2018 году в России впервые выявлено 54 873 первично-множественные опухоли (37,4 на 100 000 населения), что составляет 8,8 % (2017 = 8,1 %; 2016 = 7,5 %; 2015 = 6,7 %) от всех впервые выявленных злокачественных новообразований. Из числа первично-множественных опухолей 26,7 % (14 632 случая) выявлены у больных, впервые взятых на учет в отчетном году (синхронные) (2017 = 26,4 %; 2016 = 27,5 %; 2015 = 26,5 %). Контингент больных с первично-множественными опухолями на конец 2018 г. составил 204 792, что соответствует 5,4 % (2017 = 5,3 %; 2016 = 4,7 %; 2015 = 4,4 %) от общего числа больных, состоящих под диспансерным наблюдением [3]. Одной из причин повышения частоты выявления синхронных и метасинхронных очагов опухоли являются совершенствование методов диагностики и расширение арсенала диагностических средств, применяемых для диагностики на этапе субклинического развития заболевания [4]. Общими и наиболее значимыми предрасполагающими факторами развития плоскоклеточного рака органов головы и шеи, пищевода являются употребление табака, алкоголя и HPV-инфекция [5]. При сочетанном воздействии этих факторов на плоский эпителий глотки и пищевода правомерно ожидать возникновение первично-множественного злокачественного процесса в этих анатомических областях. Возникновение метасинхронного плоскоклеточного рака органов головы и шеи, пищевода после радикального лечения одного очага еще раз говорит об общности этиопатогенеза этой нозологии и требует к себе особого внимания не только на этапе первичной диагностики, но и при диспансерном наблюдении данной группы больных [6].

Ключевые слова: синхронный плоскоклеточный рак, метасинхронный рак, первично-множественный рак, рак гортаноглотки, рак пищевода, скрининг.

SCREENING ESOPHAGOSCOPY IN PATIENT WITH LARYNGOPHARYNX CANCER

A.B. Kravchenko, G.V. Balitsky

«National medical research center of oncology» of the ministry of health, the Russian Federation, Rostov-on-Don, Russia

Аннотация

Two or more malignant diseases are considered to be the multiple primary oncological process if developing independently of each other in a patient. In this case tumors are called synchronous if identified simultaneously or with an interval of not more than 6 months, and metachronous tumors if the detection interval is more than 6 months. Tumors may have different or identical histological structures, the possibility of relapse, growth or metastasis of the same tumor should also be excluded [1, 2]. 54,873 primary multiple tumors were detected for the first time in Russia in 2018 (37.4 per 100,000 population), which is 8.8 % (2017 = 8.1 %; 2016 = 7.5 %; 2015 = 6.7 %) from all newly diagnosed malignant neoplasms. 26.7 % of them (synchronous tumors) (14632 cases) were detected in patients first registered in the reporting year (2017 = 26.4 %; 2016 = 27.5 %; 2015 = 26.5 %). At the end of 2018 year the contingent of patients with primary multiple tumors amounted to 204,792, this is 5.4 % (2017 = 5.3 %; 2016 = 4.7 %; 2015 = 4.4 %) of the total number of patients being under the dispensary observation [3]. One of the reasons for the increased frequency of detection of synchronous and metachronic tumor sites is improvement of the diagnostic methods and expansion of the range of diagnostic tools used for diagnostics at the subclinical development stage of the disease [4]. Tobacco, alcohol and HPV infection are considered to be the general and most significant predisposing factors for the development of planar cell cancer [5]. It is legitimate to expect a primary multiple malignant process in hypopharynx and oesophagus when these factors combine to affect the flat epithelial in these anatomical areas. Metachronic flat cell cancer appearance in the head, neck and esophagus areas after radical treatment of one cancer speaks of the common noseology etiopathogenesis once again. It requires special attention not only at the initial diagnostic stage but also during the further medical observation of this group of patients [6].

Key words: synchronous cancer, metachronous cancer, primary multiple cancer, larynxopharyngeal cancer, esophageal cancer, screening, pharyngoscopy, esophagoscopy.

Актуальность

Учитывая приведенные выше статистические данные, в настоящее время остается нерешенным и крайне актуальным вопрос ранней диагностики первично-множественных злокачественных опухолей (ЗНО) гортаноглотки и пищевода.

Цель работы – определить диагностическую ценность скрининговой эзофагоскопии у больных раком гортаноглотки, выполняемой одновременно с ларингофарингоскопией.

Материал и методы

В течение 48 мес (2016–2019 гг.) всем пациентам, направленным в отделение эндоскопии РНИОИ для выполнения биопсии или оценки распространенности процесса при раке гортаноглотки, выполнялась видеоэзофагоскопия (ВЭС). ВЭС проводилась одновременно, сразу же после окончания осмотра верхних дыхательных путей и гортаноглотки. Осмотр гортани, гортаноглотки и пищевода проводился одним бронхоскопом (Olympus BF-Q180, BF-P180, BF-T180), через рабочий канал которого осуществлялась инсuffляция воздуха для расправления просвета пищевода. Всего было обследовано 233 больных раком гортаноглотки, из них мужчин 177 (76 %), женщин 56 (24 %).

Результаты

У 17 (7,3 %) пациентов наряду с раком гортаноглотки выявлен рак пищевода. Из них у 3 пациентов (17,6 %) опухоль гортаноглотки распространялась на гортань, у 2 пациентов (11,7 %) отмечалось поражение гортаноглотки и ротоглотки. Синхронный рак гортаноглотки и пищевода определялся в большинстве случаев – у 13 пациентов (76,4 %), в то время как метасинхронный рак диагностировали при диспансерном наблюдении у 4 пациентов (23,5 %). По локализации в 10 (58,8 %) случаях рак пищевода был выявлен в его средней трети, в 5 случаях – в нижней трети (29,4 %) и в 2 (11,7 %) – в верхней трети. Во всех случаях гистологическое строение опухолей представляло собой плоскоклеточный рак различной степени дифференцировки. Следует отметить, что у больных с выявленным синхронным раком пищевода стеноз просвета органа был не выражен и клинические проявления наличия опухоли отсутствовали.

Выводы

1) Высокий (7,3 %) уровень выявления первично-множественного рака пищевода и гортаноглотки является убедительным доказательством диагностической ценности скрининговой эзофагоскопии при первичной диагностической ларингофарингоскопии, а также при контрольных эндоскопических осмотрах данной группы больных в период диспансерного наблюдения.

2) Инсuffляция воздуха через рабочий канал бронхоскопа позволяет использовать один и тот же эндоскоп для одновременного исследования гортаноглотки и пищевода, что существенно сокращает время исследования, амортизационные расходы и другие затраты.

3) Внедрение скрининговой эзофагоскопии у больных раком гортаноглотки может внести весомый вклад в своевременную диагностику рака пищевода в данной группе пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попова Т.Н., Федоров В.Э., Харитонов Б.С. Первично-множественные синхронные злокачественные новообразования пищеварительной системы. Медицинский альманах. 2011; 5(18): 76–79.
2. Базаров Н.И., Мирзоев О.А., Джурбабекова К.М. Современные взгляды и общие данные о первично-множественных опухолях. Вестник Авиценны. 2009; 1(38): 9–18.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. 236 с.
4. Takenaka R., Kawahara Y., Okada H., Hori K., Kita M., Tsuzuki T., Tanioka D., Kawano S., Inoue M., Yagi S., Uemura M., Nomiya S., Onoda T., Susumu O. Tominaga and Kazuhide Yamamoto. Narrow Band Imaging for Esophageal Surveillance in Patients with Head and Neck Cancers. Gastrointestinal Endoscopy. 2008; 67(5): 134.
5. Гэрэлээ Х., Байков В.В. Этиология и факторы риска рака пищевода. Сибирский медицинский журнал. 2011; 7: 8–10.
6. Кит О.И., Колесников Е.Н., Максимов А.Ю., Снежко А.В., Аверкин М.А. Описание случая метасинхронного рака шейного отдела пищевода после экстирпации пищевода с предгрудинной эзофагопластикой правой половиной толстой кишки. Вопросы онкологии. 2018; 64(2): 249–252.

ОЦЕНКА ПРЕДИКТИВНОЙ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ В ГЕНАХ ABC-ТРАНСПОРТЕРОВ У БОЛЬНЫХ ЛЮМИНАЛЬНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.А. Луцкая¹, А.М. Певзнер^{1,2}, М.К. Ибрагимова², М.М. Цыганов²

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный

исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

Одним из факторов неблагоприятного исхода проведения неoadъювантной химиотерапии (НХТ) является гиперэкспрессия генов химиорезистентности суперсемейства ABC-транспортеров. Уровень экспрессии многих из них служит в качестве предиктивных или прогностических маркеров, однако было показано, что и хромосомные aberrации генов ABC могут являться прогностическими факторами при лечении рака молочной железы (РМЖ) люминального В подтипа. Таким образом, **целью работы** явилась оценка предиктивной и прогностической значимости хромосомных aberrаций генов ABC-транспортеров в ткани опухоли больных люминальным В РМЖ. **Материал и методы.** В исследование были включены 82 больных с люминальным В РМЖ. Для оценки хромосомных aberrаций был проведен микроматричный анализ на ДНК-чипах высокой плотности фирмы Affymetrix CytoScan™ HD Array. **Результаты.** В генах 5 семейств – *ABCA*, *ABCB*, *ABCC*, *ABCG*, *ABCD* – были определены амплификации и делеции. Частота делеций составила 55,3 %, амплификаций – 44,3 %. В результате анализа было установлено, что наличие амплификации в 5 генах – *ABCA8*, *ABCA9*, *ABCA5*, *ABCA6*, *ABCA10* – вероятно, сопряжено с лучшей безметастатической выживаемостью. Нормальное состояние гена *ABCTFR* может быть связано с объективным ответом на лечение.

Ключевые слова: ABC-транспортеры; рак молочной железы; химиорезистентность.

ESTIMATION OF PREDICTIVE AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN ABC-TRANSPORTERS GENES IN LUMINAL B BREAST CANCER PATIENTS

Е.А. Lutskaya¹, А.М. Pevzner^{1,2}, М.К. Ibragimova², М.М. Tsyganov²

The National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

One of the main factors of poor neoadjuvant chemotherapy (NCT) outcome is the overexpression of ABC-transporters superfamily chemoresistance genes. Expression levels of many of these genes serve as predictive and prognostic markers, however, it was shown that chromosomal aberrations of ABC genes can also be seen as prognostic factors in luminal B breast cancer treatment. Thus, the aim of this research is to evaluate the predictive and prognostic significance of ABC genes chromosomal aberrations in luminal B breast cancer patients tissue samples. **Material and Methods.** The study cohort consisted of a total of 82 patients with luminal B breast cancer. To evaluate chromosomal aberrations high-density microarrays Affymetrix CytoScan™ HD Array was used. **Results.** Amplifications and deletions were determined for 5 families' genes – *ABCA*, *ABCB*, *ABCC*, *ABCG*, *ABCD*. Frequency of deletions was 55,3 %, amplifications – 44,3 %. As a result, it was found that *ABCA8*, *ABCA9*, *ABCA5*, *ABCA6*, *ABCA10* genes amplification is likely to be associated with a better non-metastatic survival rate. Lack of aberrations in the *ABCTFR* gene may be associated with objective tumor response.

Key words: ABC-transporters; breast cancer; chemoresistance.

Актуальность

В настоящее время неоадьювантная химиотерапия (НХТ) применяется как при локальном неоперабельном раке молочной железы (РМЖ), так и при операбельных формах даже на ранних стадиях заболевания [1]. Однако при проведении НХТ опухолевые клетки в большинстве случаев развивают резистентность к лекарственным препаратам за счет нескольких механизмов, в частности повышенной экспрессии генов лекарственной устойчивости, кодирующих ABC-белки, выносящих различные соединения, в том числе антрациклины и таксаны, являющиеся основными препаратами. Таким образом, множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) является одним из ключевых моментов в неблагоприятном исходе проведения терапии [2]. Несмотря на то, что уровень экспрессии ABC-генов – важный прогностический фактор исхода лечения, в настоящий момент также необходимо уделять внимание молекулярным механизмам, которые могут регулировать экспрессию данных генов при проведении НХТ. К таковым относятся хромосомные aberrации, в частности делеции или амплификации локусов генов, кодирующих ABC-транспортёры.

Таким образом, **целью работы** явилась оценка предиктивной и прогностической значимости хромосомных aberrаций генов ABC-транспортёров в ткани опухоли больных люминальным В РМЖ.

Материал и методы

В исследование были включены 82 больных с люминальным В РМЖ IIА–IIIВ стадии, с морфологически верифицированным диагнозом, в возрасте 24–68 лет. Все больные получали 2–4 курса неоадьювантной химиотерапии по схемам FAC, CAH или монотерапию таксотером. После этого пациентам проводилась операция, затем 2 курса адьювантной химиотерапии, лучевая терапия и/или гормональное лечение назначались по показаниям. В качестве исследуемого материала были использованы биопсийные опухолевые образцы (~10 мм³), взятые до лечения под контролем УЗИ. ДНК выделяли с помощью набора QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). Для оценки хромосомных aberrаций был проведен микроматричный анализ на ДНК-чипах высокой плотности фирмы Affymetrix CytoScan™ HD Array. Для обработки результатов микрочипирования использовали программу «Chromosome Analysis Suite 3.1» (Affymetrix, USA). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 8.0». Сравнение частот по качественным данным проводили при помощи двухстороннего критерия Фишера. Выживаемость оценивалась по методу Каплана – Майера.

Результаты

Для 5 семейств белков – ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCG – были аннотированы гены, входящие в выбранные семейства. Частота делеций в целом выше, чем частота амплификаций, и соотношение составило 55,3 % к 44,3 %. Наибольшая частота хромосомных aberrаций генов наблюдалась в семействе ABCG, причем чаще всего делеции наблюдались в гене *ABCG4* (57,3 %), а амплификации – в гене *ABCB10* (62,2 %) в сравнении с остальными генами. При этом гены семейства ABCB наименее подвержены хромосомным aberrациям (29,8 %), в частности, в гене *ABCB7* наблюдалась самая низкая частота амплификаций (2,4 %). При изучении связи СНА исследуемых генов с эффектом НХТ в общей группе больных достоверные различия ($p < 0,05$) были получены только для гена *ABCFTR*: нормальное состояние данного гена было сопряжено с объективным ответом на лечение. На уровне выраженной тенденции показано, что у большинства пациентов с объективным ответом на лечение наблюдается отсутствие хромосомных aberrаций для генов *ABCB1*, *ABCB4*, *ABCB5* ($p = 0,1$). Аналогичный результат был получен для амплификаций генов *ABCB10* и *ABCC11*, *ABCC12* ($p = 0,06$ и $p = 0,08$ соответственно). Далее с использованием метода Каплана – Майера было показано, что наличие амплификаций генов длинного плеча 17 хромосомы – *ABCA8*, *ABCA9* (локус 17q24.2), а также *ABCA5*, *ABCA6*, *ABCA10* (локус 17q24.3) в опухолевой ткани сопряжено с высокими показателями 5-летней безметастатической выживаемости в сравнение с пациентами, у которых наблюдалось нормальное состояние гена ($p = 0,02748$ и $p = 0,02538$ соответственно) (рис.1).

Выводы

В результате проведенного исследования была показана связь между объективным ответом на НХТ при РМЖ и наличием хромосомных мутаций в генах МЛУ. Таким образом, обнаружение амплификаций и делеций в генах ABC-семейства может служить маркером эффективности проведения НХТ и значимым прогностическим фактором.

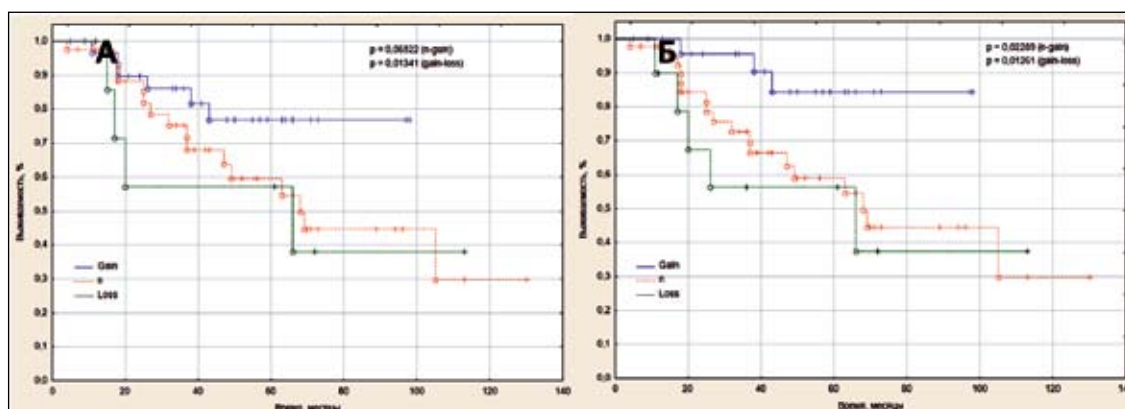


Рис. 1. Безметастатическая выживаемость больных РМЖ в зависимости от наличия амплификаций или делеций в области хромосомных локусов 17q24.2 (ABCA8, ABCA9) (А) и 17q24.3 (ABCA5, ABCA6, ABCA10) (Б)

ЛИТЕРАТУРА

1. Wolmark N., Wang J., Mamounas E., Bryant J., Fisher B. Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. J Natl Cancer Inst Monogr. 2001; (30): 96–102.
2. Wind N.S., Hoken I. Multidrug Resistance in Breast Cancer: From In Vitro Models to Clinical Studies. International Journal of Breast Cancer. 2011; 2011: 967419. doi: 10.4061/2011/967419.

ВОЗМОЖНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО РАКА ПОЧКИ

Н.А. Лушникова

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

Аннотация

В работе представлены анализ результатов комбинированного лечения и оценка изменения качества жизни больных с метастатическим почечно-клеточным раком (мПКР). Исследование проводится на базе НИИ онкологии Томского НИМЦ. Всем пациентам выполняется паллиативное хирургическое лечение первичной опухоли в объеме резекции либо нефрэктомии. Затем больные рандомизируются в 2 группы: в исследуемой группе пациенты получают адъювантную иммунотерапию в сочетании с дистанционной лучевой терапией (ДЛТ), а в группе контроля чекпойнт-ингибиторы назначаются в монорежиме. Эффективность комбинированной терапии определяется по критериям iRECIST (2017), а исследование качества жизни – методом анкетирования. Используются опросники FKSI-15 (Functional Assessment of Cancer Therapy – Kidney Symptom Index) и FACT-G (Functional Assessment of Cancer Therapy – General). По предварительным результатам показано, что проведение комбинированного лечения характеризуется большей частотой достижения клинического ответа при удовлетворительной переносимости. В ряде случаев комбинация лучевой терапии совместно с ингибиторами контрольных точек иммунитета приводит к улучшению качества жизни пациентов за счет снижения болевого синдрома.

Ключевые слова: почечно-клеточный рак, иммунотерапия, чекпойнт-ингибиторы, лучевая терапия, качество жизни.

CAPABILITIES OF COMBINATION THERAPY IN TREATMENT METASTATIC RENAL CELL CARCINOMA

N.A. Lushnikova

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

Abstract

We describe an analysis of the results of combination treatment and an assessment of the change in the quality of life of patients with metastatic renal cell carcinoma (mRCC). The study is spending on the basis at the Research Institute of Oncology, Tomsk Medical Research Center. All patients received palliative surgical treatment of the primary tumor in the volume of resection or nephrectomy. Then patients are randomized into 2 groups: in the study group patients receive adjuvant immunotherapy in combination with External radiation therapy (ERT), and in the control group checkpoint inhibitors are prescribed like monotherapy. The effectiveness of combination therapy is determined by iRECIST criteria (2017). And the quality of life study is a questionnaire method. The questionnaires FCSI-15 (Functional Assessment of Cancer Therapy – Kidney Symphony Index) and FACT-G (Functional Assessment of Cancer Therapy – General) are used. According to preliminary results, it is shown that the combined treatment is characterized by a higher frequency of clinical response with satisfactory tolerance. In some cases, the combination of radiation therapy with immune checkpoint inhibitors results in improved patient quality of life by reducing pain syndrome.

Key words: renal cell carcinoma, immunotherapy, checkpoint-inhibitors, radiation therapy, quality of life.

Актуальность

ПКР занимает одно из лидирующих мест по темпам прироста онкологической заболеваемости (27,7 % за последние 10 лет) [1]. Ежегодно в мире выявляется около 250 тыс. новых случаев ПКР [1]. В России в 2018 г. зарегистрировано 23 157 первичных больных ПКР, а абсолютное количество умерших составило 7 657 человек [2]. У половины заболевших процесс уже исходно имеет или в ранние сроки приобретает генерализованный характер. Более чем у трети больных, получивших радикальное хирургическое лечение, в ближайшей перспективе развиваются метастазы, наиболее частыми локализациями которых являются легкие (50–60 %), кости скелета (30–40 %), лимфатические узлы, печень, надпочечники [3].

В настоящее время ПКР условно разделяют на 2 основных гистологических подтипа: наиболее распространенным является светлоклеточный вариант, который характеризуется мутацией гена VHL и составляет 75 % всех опухолей почки, менее распространенным – не-светлоклеточный (до 25 %) [4].

Рак почки резистентен к стандартной химио- и лучевой терапии в монорежиме. В настоящее время доступными опциями в лечении ПКР считаются: хирургическое удаление первичной опухоли и солитарных метастазов, таргетная терапия тирозинкиназными ингибиторами, иммунотерапия ингибиторами контрольных точек, комбинации иммунологических препаратов с тирозинкиназными ингибиторами [5].

Особый интерес представляет сочетание лучевой терапии с блокадой PD-1/PD-L1, поскольку почечно-клеточный рак является одной из наиболее иммуногенных опухолей (≥ 20 мутаций/Mb). Доклинические данные подчеркивают синергетический потенциал этой комбинации [6].

Иммуномоделирующий эффект облучения обуславливают три механизма:

- Активация IFN-I через путь cGAS / STING в облученных раковых клетках. Всплеск IFN-I запускает иммунный ответ: дендритные клетки мигрируют в опухолевый очаг; выделяются хемокины CCL5, CXCL16 и CXCL10, которые, в свою очередь, направляют первичные эффекторные Т-клетки в опухоль;

- Ионизирующее излучение приводит к высвобождению ассоциированных с опухолью антигенов, которые поглощаются дендритными клетками, обеспечивая начало более активного иммунного ответа как в облученном опухолевом очаге, так и в отдаленных метастазах;

- Увеличение поверхностной концентрации МНС класса I способствует более эффективной презентации опухолевых антигенов [7].

Цель исследования – оценить непосредственную эффективность комбинации ингибиторов контрольных точек иммунитета совместно с лучевой терапией, спектр и частоту побочных явлений, а также качество жизни на фоне ее проведения у пациентов с метастатическим ПКР.

Материал и методы

Исследование проводится на базе НИИ онкологии Томского НИМЦ. В исследование планируется включить 40 больных светлоклеточным метастатическим почечно-клеточным раком (в данный момент включено 4 пациента).

Для оценки распространенности опухолевого процесса всем пациентам на предоперационном этапе выполняется спиральная компьютерная томография с контрастированием органов грудной клетки, органов брюшной полости, забрюшинного пространства, осте-

осцинтиграфия, ультразвуковое исследование с применением доплеровской методики и эластография. Гистологическое исследование проводится как по биопсийному, так и по операционному материалу первичной опухоли и метастатических очагов, дополнительно оценивается экспрессия PD-L1 как на клетках опухоли, так и на клетках микроокружения. Всем пациентам определяется IFN-статус.

Всем больным мПКР на первом этапе выполняется хирургическое лечение первичного очага в объеме нефрэктомии либо резекции почки. Затем пациенты распределяются на 2 группы. В исследуемой группе пациенты получают ингибиторы иммунных контрольных точек в количестве 2 курсов, вторым этапом проводится конформная лучевая терапия одного выбранного метастатического очага в дозировке 3 фракции по 8 Грэй, после чего иммунотерапия продолжается до 6 курсов суммарно. Контрольная группа пациентов получает 6 курсов чекпоинт-ингибиторов.

Эффективность комбинированной терапии определяется по критериям iRECIST (2017), а исследование качества жизни – методом анкетирования до проведения терапевтического этапа, после проведения лучевой терапии и после окончания курса иммунотерапии. Используются опросники FCSI-15 (Functional Assessment of Cancer Therapy – Kidney Symptom Index) и FACT-G (Functional Assessment of Cancer Therapy – General).

Результаты

По предварительным результатам отмечена тенденция к улучшению эффекта на фоне проведения комбинированной терапии. В исследуемой группе объективный ответ был получен у 2 пациентов, причем у одного пациента объем опухолевого поражения уменьшился на 40 % от исходного. В группе контроля в обоих случаях эффект оценен как стабилизация по критериям iRECIST. В целом, как монотерапия ингибиторами контрольных точек, так и в комбинации с ДЛТ переносилась удовлетворительно. В процессе исследования и при дальнейшем наблюдении не было зафиксировано серьезных иммуно-опосредованных нежелательных явлений. В одном случае в группе сравнения у пациента отмечена кожная реакция в виде папулезной сыпи, которая купирована назначением местных гормональных мазей. Показано, что комбинированная терапия ингибиторами иммунных контрольных точек совместно с лучевой терапией не ухудшает качество жизни пациентов, а в ряде случаев улучшает данный показатель: у 2 пациентов, получавших ДЛТ, отмечалось значимое снижение болевого синдрома в пораженном костном сегменте. Эффекта псевдопрогрессии и гиперпрогрессии в ходе проведения исследования отмечено не было. Окончательные результаты будут опубликованы по завершении исследования.

Клинический случай: пациент К – 65 лет.

Диагноз: рак левой почки III стадии — T3aN1M1, метастатическое поражение легких, правой плечевой кости, лимфатических узлов.

Пациент был прооперирован в объеме радикальной нефрэктомии слева. Через 2 нед после хирургического пособия проведено 2 введения Ниволумаба в дозировке 240 мг, 1 раз в 2 нед. Затем пациенту проведена дистанционная лучевая терапия на метастатический очаг в плечевой кости в дозировке 3 фракции по 8 Гр. После завершения лучевой терапии иммунотерапия была продолжена до 6 курсов. В ходе контрольного обследования через 10 мес от начала терапии выявлена частичная регрессия не только облученного метастаза, но и практически всех очагов в легких вплоть до 40 % от их предыдущего размера.

Выводы

Проведение комбинированного лечения ингибиторами контрольных точек иммунитета совместно с дистанционной лучевой терапией у пациентов с метастатическим почечно-клеточным раком позволит увеличить частоту и выраженность объективных ответов за счет иммуномодулирующих эффектов ДЛТ, снизить интенсивность болевого синдрома, обусловленного метастатическим поражением, тем самым повысить качество жизни больных.

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): 141–148.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. М.: МФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России. 2017. 250 с.
3. T. Klaassen Z., Goldberg H., Kulkarni G.S., Hamilton R.J., Fleshner N.E. Metastatic renal cell carcinoma: Patterns and predictors of metastases A contemporary population-based series. *Urol Oncol*. 2017 Nov; 35(11): 661.e7–661.e14. doi: 10.1016/j.urolonc.2017.06.060.
4. Юрмазов З.А., Лушикова Н.А., Спирина Л.В., Уснин Е.А., Слонимская Е.М., Анисеня И.И., Богоутдинова А.В. Возможности предоперационной таргетной терапии в лечении костных метастазов рака почки. *Онкоурология*. 2019; 15(2): 35–41. doi: 10.17650/1726-9776-2019-15-2-35-41.

5. Коротаяева А.А., Апанович Н.В., Брага Э.А., Матвеев В.Б., Карпухин А.В. Современные достижения в иммунотерапии рака почки. Онкоурология. 2019; 15(4): 3038. doi: 10.17650/1726-9776-2019-15-4-30-38.

6. Дензина Н.В., Митин Т.В., Гамаюнов С.В., Сафина С.З., Крейнина Ю.М., Тимофеев И.В. Стереотаксическая лучевая терапия экстракраниальных метастазов почечно-клеточного рака в комбинации с ингибиторами тирозинкиназы и иммунотерапией: первые результаты клинического исследования Ib фазы (VOLGA STUDY). Злокачественные опухоли. 2019; 9(3): 57–64.

7. Rodriguez-Ruiz M.E., Vanpouille-Box C., Melero I., Formenti S.C., Demaria S. Immunological Mechanisms Responsible for Radiation-Induced Abscopal Effect. Trends Immunol. 2018 Aug; 39(8): 644–655. doi: 10.1016/j.it.2018.06.001.

ДИСТАНЦИОННАЯ ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ КАК АЛЬТЕРНАТИВА ВНУТРИПОЛОСТНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ: ОПЫТ ТОМСКОГО ОБЛАСТНОГО ОНКОЛОГИЧЕСКОГО ДИСПАНСЕРА

П.А. Лушникова¹, Е.С. Сухих^{1,2}, Л.Г. Сухих²

Областное государственное автономное учреждение здравоохранения

«Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия¹

Федеральное государственное автономное учреждение высшего образования

«Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск, Россия²

Аннотация

Статья посвящена проблеме создания альтернативного метода лечения больных с раком шейки матки, когда применение внутриматочного компонента на втором этапе радикального лучевого лечения невозможно. **Материал и методы.** В период 2017–2019 гг. в радиотерапевтическом отделении ОГАУЗ «ТОМОД» у 6 пациенток с диагнозом рак шейки матки курс брахитерапии был заменен дистанционным компонентом. Лечение проводилось на лечебном аппарате Elekta Synergy Platform S. **Результаты.** После проведенного лечения у 4 пациенток из 6 достигнут полный регресс опухоли шейки матки.

Ключевые слова: рак шейки матки, дистанционная лучевая терапия, внутриматочная брахитерапия, внутритканевая лучевая терапия.

EXTERNAL RADIATION THERAPY AS AN ALTERNATIVE TO INTRACAVITARY RADIATION THERAPY IN THE TREATMENT OF CERVIX UTERI: THE EXPERIENCE OF THE TOMSK REGIONAL ONCOLOGY CENTER

P.A. Lushnikova¹, E.S. Sukhikh^{1,2}, L.G. Sukhikh²

Tomsk Regional Oncology Center, Tomsk, Russia¹

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia²

Abstract

The article is devoted to the problem of creating an alternative method of treating patients with cervical cancer, when the use of the intracavitary component at the 2nd stage of radical radiation treatment is impossible. **Material and Methods.** In Tomsk Regional Oncology Center the course of brachytherapy was replaced by external component for 6 patients with cervical cancer in the period 2017–2019. The treatment was carried out on the medical device Elekta Synergy Platform S. **Results.** After treatment, 4 out of 6 patients achieved complete cervical tumor regression.

Key words: cervical cancer, external radiation therapy, intracavitary brachytherapy, interstitial radiation therapy.

Злокачественные новообразования представляют собой одну из самых значимых медицинских проблем в России и в мире. Одной из наиболее распространенных форм злокаче-

ственных новообразований среди женского населения является рак шейки матки (РШМ). В Российской Федерации РШМ занимает одно из первых мест в структуре онкозаболеваемости женщин [1].

Одним из эффективных способов лечения рака шейки матки является сочетанная лучевая терапия по радикальной программе, состоящая из двух последовательных этапов. Первый этап – дистанционная лучевая терапия (ДЛТ) с суммарной очаговой дозой (СОД) 46–50 Гр при стандартном режиме фракционирования (разовая очаговая доза (РОД) 2,0 Гр, 5 р/нед). На этапе дистанционной лучевой терапии рекомендуется еженедельно вводить цисплатин 40 мг/м² [2, 3].

Второй этап радикальной лучевой терапии – брахитерапия (внутриполостная, внутритканевая лучевая терапия или их комбинация). Доза второго этапа доставляется в режиме гипофракционирования при величине РОД от 5 до 10 Гр при СОД до 30 Гр [2–4].

Брахитерапия обеспечивает лучший локальный контроль опухоли по сравнению с применением только курса ДЛТ, за счет максимальной концентрации дозы в объеме опухоли.

В России далеко не все онкологические клиники оснащены специальным оборудованием, позволяющим качественно выполнять процедуру комбинированной брахитерапии. Как правило, радиотерапевтические отделения оснащены оборудованием для внутриполостной брахитерапии с ограниченным набором аппликаторов.

Однако в некоторых случаях при проведении только внутриполостной ЛТ медицинский физик и врач-радиотерапевт сталкиваются с проблемой адекватного покрытия мишени при ярко выраженной асимметрии распространения опухолевого процесса либо с переоблучением критических органов. Кроме того, этот метод, зависящий от оператора, требует определенных навыков, отсутствие которых может существенно повлиять на результаты лечения. Например, неадекватное размещение и/или смещение овоидов при недостаточном тампонировании уменьшает показатели локального контроля и безрецидивной выживаемости [5]. Также существуют ограничения, обусловленные анатомическими и возрастными особенностями, предшествующим курсом ДЛТ, которые приводят к выраженному стенозу влагалища и/или цервикального канала, что делает невозможным адекватное размещение аппликаторов для курса ВЛТ. Также некоторые пациентки отказываются от проведения брахитерапии из-за боязни болевого синдрома [6].

Альтернативой внутриполостной лучевой терапии (ВЛТ) на втором этапе сочетанной ЛТ может стать использование ДЛТ с высокой степенью модуляции в режиме гипофракционирования [6]. С развитием технологии доставки дозы от конформной ЛТ (3DCRT) до модуляции интенсивности фотонного излучения (IMRT\VMAT) стереотаксическая лучевая терапия в режиме как последовательной, так и одновременной интегрированной эскалации (SIB) [7] дозы улучшила свои дозиметрические характеристики, что позволило уменьшить лучевые нагрузки на критические органы и при этом поддерживать на соответствующем уровне покрытие мишени при различных значениях предписанных доз. В ситуациях, когда ВЛТ по медицинским причинам не применима, качественный план ДЛТ с использованием IMRT\VMAT с последовательной или интегрированной эскалацией дозы может стать альтернативой брахитерапии. Но проведение ДЛТ предъявляет более жесткие требования к иммобилизации внутренних органов (мочевого пузыря и прямой кишки).

В ОГАУЗ «ТООД» в 2017–2019 гг. 6 пациенткам этап внутриполостной лучевой терапии был заменен ДЛТ с высокой степенью модуляции в режиме гипофракционирования.

На 1-м этапе все пациентки получили курс дистанционной лучевой терапии (конформной или конвенциональной) на область малого таза, на фоне еженедельного введения цисплатина в дозе 40 мг/м² СОД 46–50,0 Гр.

Лечение проводилось на аппарате Elekta Synergy Platform S. Режимы лечения: РОД 7 Гр 4 фракции и РОД 6 Гр 5 фракций. В объем облучения входили шейка матки, своды влагалища, матка (исключая дно матки).

Причины отказа от внутриполостной лучевой терапии у данных пациенток: сужение влагалища, стеноз цервикального канала, сглаженность сводов влагалища, наличие полости в цервикальном канале на фоне распада опухоли. Для иммобилизации внутренних органов использовались: индивидуальное фиксирующее устройство (фиксатор ступней и коленей), катетеризация мочевого пузыря одинаковым количеством жидкости, тампонирование влагалища перед каждым сеансом лечения.

Дозиметрическое планирование осуществлялось в среде Monaco (версия 5.1) с использованием модели пучка для линейного ускорителя Elekta Synergy. Для каждого дозиметрического плана облучения использовался одинаковый набор технических параметров: энергия

фотонного излучения 10 МВ с методикой доставки дозы VMAT с помощью двух полных арок, а также одинаковый набор физических и биологических функций ограничения (IMRT Constraint), которые позволяют адекватно распределить дозовую нагрузку на каждую анатомическую структуру как на критические органы, так и на мишень. За время лечения и в раннем постлучевом периоде лучевых реакций 3–4-й степени не наблюдалось.

Более чем у половины больных (4 из 6) достигнут полный регресс опухоли (по данным клинического осмотра, цитологического, ультразвукового исследования, МР-томографии).

Настоящее исследование показывает, что в ситуациях, когда внутрисполостная лучевая терапия невозможна, хорошо выполненный план ДЛТ может обеспечить столь же эффективную альтернативу брахитерапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. 250 с.
2. Кравец О.А., Кузнецов В.В., Морхов К.Ю., Нечушкина В.М., Хохлова С.В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению рака шейки матки. М.: Ассоциация онкологов России, 2014. 44 с.
3. Хохлова С.В., Коломиец Л.А., Кравец О.А., Морхов К.Ю., Нечушкина В.М., Новикова Е.Г., Тюляндина А.С., Урманчеева А.Ф. Практические рекомендации RUSSCO. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака шейки матки. Злокачественные опухоли. 2018; 8 (специальный выпуск 2): 158–168.
4. Лихачева А., Деньгина Н., Черных М., Усичкин С. Краткие рекомендации по лучевой терапии рака шейки матки и рака тела матки. 2017.
5. Хансен Э.К., Роач III. М. Лучевая терапия в онкологии. 2014. 992 с.
6. Mahmoud O., Kilic S., Khan A.J., Beriwal S., Small W. External beam techniques to boost cervical cancer when brachytherapy is not an option-Theories and applications. Annals of Translational Medicine. 2017; 5(10): 207. doi: 10.21037/atm.2017.03.102.
7. Vergalasova I., Light K., Chino J., Craciunescu O. Simultaneous integrated boost (SIB) for treatment of gynecologic carcinoma: Intensity-modulated radiation therapy (IMRT) vs volumetric-modulated arc therapy (VMAT) radiotherapy. Medical Dosimetry. 2017; 42(3): 230–237.

СУБТОТАЛЬНАЯ ЛАРИНГЭКТОМИЯ С ФОРМИРОВАНИЕМ ТРАХЕОГЛОТОЧНОГО ШУНТА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ

Е.Н. Менькова¹, Д.Е. Кульбакин^{1,2,3}

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный

исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

ФГБОУ ВО «Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники», г. Томск, Россия³

Аннотация

В статье рассмотрена новая методика трахеоглоточного шунтирования с целью голосовой реабилитации больных местнораспространенным раком гортани и гортаноглотки. Данная методика применена у 16 больных. В послеоперационном периоде со всеми пациентами проводились логопедические занятия по разработанной методике. Голосовая функция была восстановлена у 94 % пациентов. У всех больных отмечено свободное дыхание через трахеостому и питание через естественные пути без затруднений. Признаков поступления пищи или жидкости через трахеоглоточный шунт в трахею не отмечено. Методика может быть рекомендована для пациентов с местно-распространенными стадиями рака гортани и гортаноглотки при отсутствии противопоказаний (опухолевое поражение задней комиссуры гортани).

Ключевые слова: рак гортани и гортаноглотки, голосовая реабилитация, трахеоглоточное шунтирование, субтотальная ларингэктомия.

NEAR-TOTAL LARYNGECTOMY IN THE TREATMENT ADVANCED LARYNX AND HYPOPHARYNX CANCER

E.N. Menkova¹, D.E. Kulbakin^{1,2,3}

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

Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics, Tomsk, Russia³

Abstract

The article discusses a new technique near-total laryngectomy for voice rehabilitation of patients with locally advanced larynx and hypopharynx cancer. This technique was applied in 16 patients. In the postoperative period, all patients receive speech therapy classes according to the developed technique. Voice function was restored in 94 % of patients. All patients have free breathing through the tracheostomy and nutrition without difficulty. There were no signs of food or fluid entering through the tracheopharyngeal shunt into the trachea. The technique can be recommended for patients with locally advanced stages of laryngeal and pharyngeal cancer.

Key words: larynx and hypopharynx cancer, voice rehabilitation, tracheopharyngeal shunting, near-total laryngectomy.

Актуальность

В настоящее время в России рак гортани и гортаноглотки составляет 20–40 % среди злокачественных опухолей головы и шеи и 1–2,5 % от всех злокачественных новообразований. Большинство больных (70–80 %) поступают на специализированное лечение в стационары с III–IV стадией заболевания [1]. Это обуславливает необходимость проведения комбинированного лечения, включающего лучевую или химиолучевую терапию и оперативное вмешательство в различной последовательности, где ведущим компонентом остается хирургический этап в объеме ларингэктомии. Современные методики выполнения ларингэктомии предполагают последующее восстановление голосовой функции посредством голосовых протезов, формирование пищеводной речи и использование различных электронных устройств [2]. На современном этапе особое внимание уделяется совершенствованию методик оперативных вмешательств с целью сохранения анатомических структур и функциональных возможностей гортани [3]. Поэтому разработка новых способов восстановления голосовой функции у больных раком гортани и гортаноглотки после операций, основанных на новых методиках хирургических вмешательств, является актуальной задачей [4].

Цель исследования – оценка эффективности субтотальной ларингэктомии с формированием трахеоглоточного шунта у больных раком гортани и гортаноглотки.

Материал и методы

В период с 2012 по 2019 г. на базе отделения опухолей головы и шеи Томского НИМЦ 16 больным с верифицированным раком гортани и гортаноглотки III–IV стадии опухолевого процесса была выполнена субтотальная ларингэктомия с формированием трахеоглоточного шунта. Все больные были кандидатами на выполнение стандартной или расширенной ларингэктомии. Возраст больных варьировал от 42 до 70 лет. Мужчин – 14 (88 %), женщин – 2 (12 %). Рак гортани диагностирован у 9 (56 %) пациентов, рак гортаноглотки – у 7 (44 %). Распределение больных по TNM классификации: T3N0M0 – 13 больных (82 %), T3N1M0 – 1 больной (6 %), T3N2M0 – 1 больной (6 %), T4N2M0 – 1 больной (6 %). Всем пациентам было выполнено хирургическое лечение в объеме: трахеостомии, субтотальной ларингэктомии с формированием трахеоглоточного шунта. Данный объем предусматривает сохранение на интактной (свободной от опухоли) стороне гортани черпаловидного хряща, 1/3 голосовой складки, предгортанных мышц и возвратного нерва. Трахеоглоточный шунт формировался за счет мобилизации слизистой сохраненной части гортани. Противопоказанием для выполнения субтотальной ларингэктомии являлось опухолевое поражение задней комиссуры гортани. В последующем дыхание осуществлялось через трахеостому. Назогастральный зонд удалялся на 10–12 сут после операции, и в дальнейшем питание осуществлялось через естественные пути. В среднем через 21 день после хирургического лечения, при условии заживления послеоперационной раны, все пациенты направлялись к логопеду для восстанов-

ления голосовой функции. Восстановление голосовой функции проводилось по методике, разработанной в отделении опухолей головы и шеи НИИ онкологии Томского НИМЦ. Цель логопедических занятий – научить вызывать голос, за счет направления потока воздуха из легких через оставшуюся часть гортани и трахеоглоточный шунт в глотку и полость рта. Противопоказаниями к восстановлению голосовой функции после субтотальной ларингэктомии и формирования трахеоглоточного шунта являются: прогрессирование опухолевого процесса (метастазирование в регионарные лимфатические узлы шеи, продолженный рост опухоли), диастаз послеоперационных швов с формированием глоточного свища или фарингостомы, сужение трахеостомы, постоянное канюленосительство, психические заболевания с расстройствами поведения.

Статистическая обработка результатов проведена методом вариационной статистики с помощью пакета программ «STATISTICA 7.0» с использованием t-критерия Стьюдента для независимых переменных.

Результаты

Длительность восстановления голосовой функции составила от 6 до 12 занятий. Голосовая функция восстановлена у 15 (94 %) пациентов, они свободно общаются звучной речью в быту и по телефону при закрывании трахеостомического отверстия пальцем на выдохе. Голос достаточно громкий, среднего тембра, эмоционально окрашен, длительность фразы 6–8 слов. Причиной того, что у 1 (6 %) больного не удалось восстановить голосовую функцию, явилась деформация трахеопищеводного шунта в результате воспалительного процесса в области послеоперационной раны и формирования глоточных свищей. При динамическом осмотре через 12 мес все пациенты, которым была восстановлена голосовая функция, не испытывая затруднений, общаются звучной речью, свободно говорят по телефону. У всех больных отмечено свободное дыхание через трахеостому. Наличие трахеоглоточного шунта не вызывало нарушение дыхания. Питание осуществлялось через естественные пути без затруднений. Признаков поступления пищи или жидкости через трахеоглоточный шунт в трахею не отмечено ни в одном случае.

Случаев локального рецидива (в области трахеоглоточного шунта и трахеостомы) не отмечено (0 %). У 2 пациентов (12 %) диагностирован регионарный рецидив (mts в лимфатические узлы шеи), этим больным была выполнена лимфодиссекция шеи. Голосовая функция сохранена в прежнем объеме.

Выводы

Предложенная методика хирургической голосовой реабилитации больных раком гортани и гортаноглотки при выполнении субтотальной ларингэктомии и формировании трахеоглоточного шунта позволяет восстановить звучную речь без дополнительных искусственных материалов (голосовые протезы) и электронных устройств и без ухудшения онкологических результатов. Методика может быть рекомендована для пациентов с местнораспространенными стадиями рака гортани и гортаноглотки при отсутствии противопоказания (опухолевое поражение задней комиссуры гортани).

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №16–15–00038).

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. 236 с.
2. Кожанов А.Л., Кожанов Л.Г., Сорокин В.Н., Романова Е.С. Устранение нарушений голосовой функции при открытых диагональных резекциях гортани. Опухоли головы и шеи. 2018; 8(4): 32–38.
3. Pradhan S.A., D'Cruz A.K., Pai P.S. Near-total laryngectomy. Asian J Surg. 2002 Jan; 25(1): 27–34.
4. Карицкий А.П., Чулкова В.А., Пестерева Е.В., Семиглазова Т.Ю. Реабилитация онкологического больного как основа повышения качества его жизни. Вопросы онкологии. 2015; 2: 180–184.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ В КАЗАХСТАНЕ

Т.С. Насрытдинов

Казахстанский медицинский университет непрерывного образования, г. Алматы, Казахстан

Аннотация

Колоректальный рак (КРР) является третьей наиболее часто диагностируемой злокачественной опухолью. Проблема мКРР актуальна, что обусловлено не только увеличением числа метастатических форм опухолей, но и внедрением высокотехнологичных методов лечения, значительно улучшивших результаты 5-летней выживаемости. В наше исследование включены данные о 332 больных КРР, получивших комплексное лечение с 2014 по 2018 г. в онкологических учреждениях РК. Лечение пациентов проводилось согласно утвержденным в РК клиническим протоколам лечения опухолевых заболеваний, подразумевающим проведение хирургического лечения, а также химио- и лучевой терапии в зависимости от стадии и локализации процесса. Комплексное лечение включало также проведение хирургического лечения, химиотерапии, химиотаргетной терапии и в некоторых случаях при раке прямой кишки проведение лучевой терапии. У всех пациентов диагноз подтвержден морфологически, диссеминация процесса зафиксирована с помощью стандартных методов обследования. В исследование были включены 182 (54,8 %) женщины и 150 (45,2 %) мужчин, преобладали представители европейской расы – 170 (51,2 %), к азиатской расе относились 162 (48,8 %) пациента. Средний возраст пациентов на момент лечения составил $56,4 \pm 0,6$ года (от 25 до 79 лет). Гистологически преобладала железистая (95,6 %), слизистая (2,9 %) и трабекулярная (1,5 %) аденокарцинома. У 209 (63,0 %) пациентов было зафиксировано применение комплексной терапии, у 123 (37,0 %) больных были применены иные варианты лечения. Лучевая терапия проводилась всего 13 (3,9 %) пациентам с диагнозом рак прямой кишки. В результате проведенного сравнительного анализа результатов лекарственной терапии больных мКРР получено, что из 332 больных у 263 (79,2 %) применялась химиотаргетная терапия, у 69 (20,8 %) – стандартная полихимиотерапия. В группе таргетной химиотерапии на момент исследования оставались живы 85 (32,3 %) больных, при этом медиана выживаемости была $42,0 \pm 1,7$ мес, 95 % ДИ (38,6 – 45,4). В группе, в которой применялась полихимиотерапия, оставались живы 7 (10,1 %) больных, при этом медиана выживаемости составила $20,0 \pm 1,7$ мес, 95 % с ДИ (16,6 – 23,4). Эти результаты позволяют сделать вывод о том, что применение режимов таргетной химиотерапии по сравнению со стандартными режимами полихимиотерапии увеличивает выживаемость до прогрессирования.

Ключевые слова: колоректальный рак, генетическое исследование, отдаленные результаты, таргетная терапия.

THE RESULTS OF TREATMENT OF PATIENTS WITH METASTATIC COLORECTAL CANCER IN KAZAKHSTAN

T.S. Nasrytdinov

Kazakhstan Medical University of Continuing Education, Almaty, Kazakhstan

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is the third most frequently diagnosed malignant tumor. The problem of mCRC is relevant, which is caused not only by an increase in the number of metastatic forms of tumors, but also by the introduction of high-tech treatment methods that significantly improved the results of 5-year survival. Our study included data on 332 patients with CRC who received complex treatment from 2014 to 2018 in oncological institutions of the Republic of Kazakhstan. Patients were treated in accordance with the clinical protocols for the treatment of tumor diseases approved in the Republic of Kazakhstan, which include surgical treatment, as well as chemotherapy and radiation therapy, depending on the stage and localization of the process. Comprehensive treatment also included surgical treatment, chemotherapy, chemotherapy and, in some cases, rectal cancer, radiation therapy. In all patients, the diagnosis was confirmed morphologically, the dissemination of the process was fixed using standard examination methods. Mostly women participated in 182 (54.8 %), men were 150 (45.2 %), European race – 170 (51.2 %), Asian – 162 (48.8 %) dominated by race. The average age of patients at the time of treatment was 56.4 ± 0.6 years (25 to 79 years). Histologically, adenocarcinoma predominated, presented: glandular – in 95.6 %, mucous – in 2.9 % and trabecular – in 1.5 % of cases. In 209 (63.0 %), the use of complex therapy was recorded, in 123 (37.0 %) patients other treatment options were used. Radiation therapy was carried out in only 13 (3.9 %) patients with a diagnosis of colorectal cancer. As a result of a comparative analysis of the results of drug therapy for patients with mCRC, it was found that out of 332 patients, 263 (79.2 %) had the use of chemotherapy, and 69 (20.8 %) received standard chemotherapy. In the targeted chemotherapy group at the time of the study, 85 (32.3 %) patients remained alive, with a median survival of 42.0 ± 1.7 months, 95 % CI (38.6 – 45.4). In the group of polychemotherapy patients, 7 (10.1 %) patients remained alive, while the median survival was 20.0 ± 1.7 months 95 % with CI (16.6–23.4). Based on the results, it was concluded that the use of targeted chemotherapy regimens, compared with standard chemotherapy regimens, increases survival until progression.

Key words: colorectal cancer, genetic research, long-term results, targeted therapy.

Актуальность

Колоректальный рак (КРР) является третьей наиболее часто диагностируемой злокачественной опухолью и четвертой по значимости причиной смерти от рака в мире, на его долю приходится около 1,4 млн новых случаев и почти 700 тыс. смертей [1]. Учитывая временные характеристики и демографические прогнозы, ожидается, что глобальное бремя КРР к 2030 г. увеличится на 60 % – до более чем 2,2 млн новых случаев и 1,1 млн случаев смерти.

Тот факт, что КРР вытеснил связанные с инфекцией онкологические заболевания как второй по распространенности рак в нескольких странах со средним уровнем дохода (особенно среди женщин), подчеркивает проблему контроля над заболеванием в странах, переживающих значительные социально-экономические преобразования, и важность усилий по мониторингу тенденций в КРР заболеваемости, смертности и выживаемости во всем мире [2–3]. Без целенаправленных, зависящих от ресурсов действий, основанных на эпидемиологических данных, число пациентов с КРР будет продолжать расти в последующие десятилетия по сравнению с прогнозируемыми в результате старения населения и его роста. Улучшения в вариантах лечения и его доступности, включая третичную помощь, имеют жизненно важное значение в странах с низким и средним уровнем дохода, которые сталкиваются с ростом заболеваемости КРР. За последние 30 лет в мировой практике выживаемость больных КРР увеличилась благодаря введению программ скрининга, разработке новых таргетных агентов; тем не менее 5-летняя относительная выживаемость от КРР остается только на уровне 68 %, что требует поиска новых и более эффективных методов лечения [4]. Однако в свете ограниченных возможностей для предоставления медицинских услуг и связанных с этим расходов по-прежнему существует острая необходимость в определении приоритетов и интеграции мер первичной профилактики и раннего выявления в существующие планы здравоохранения.

Цель работы – исследовать взаимосвязь мутации в гене *K-ras* с клинико-морфологическими показателями опухоли для выявления факторов, влияющих на течение и прогноз заболевания.

Материал и методы

В исследование включены 332 больных колоректальным раком, которым провели комбинированное лечение за период с 2013 по 2018 г. в онкологических диспансерах, онкологических центрах РК и в КазНИИОиР. В исследование включены пациенты, средний возраст которых составил $56,4 \pm 0,6$ года (от 25 до 79 лет).

Распределение больных КРР по стадиям представлено в табл. 1. Как видно из табл. 1, 167 (50,3 %) первичных больных были с метастатической формой КРР (T2–4N0–2M1); 165 (49,7 %) пациентов имели II или III стадию болезни. Регионарные метастазы выявлены у 212 (63,9 %) больных, одна треть пациентов не имели метастазов в регионарные лимфоузлы.

Пациентам был проведен генетический анализ на наличие мутации в гене *KRAS* на материале, полученном во время оперативного вмешательства и биопсии. Материалом исследования служили образцы опухолевой ткани из первичной опухоли и/или отдаленных метастазов, залитые в парафиновые блоки. *KRAS*-тест проводили, используя наборы BioLink, для выявления мутаций в 12 и 13 кодонах экзон 2 аллель-специфичным ПЦР методом (табл. 2).

Во время исследования у 149 (44,9 %) пациентов была установлена мутация гена *KRAS* в 12 и 13 кодонах, в 183 (55,1 %) случаях – дикий тип данного гена. Были выявлены мутации гена в экзонах: G12A, G12C, G12D, G12S, G12V, G13D, процентное соотношение в каждом из них варьировало от 2,1 до 11,1 %.

Опухоли у исследованных больных имели различную степень дифференцировки. Высокодифференцированная аденокарцинома встречалась у 50 (15,1 %), умеренно дифференцированная – у 254 (76,5 %), низкодифференцированная – у 28 (8,4 %) пациентов.

При анализе степени дифференцировки опухолевого процесса в зависимости от возрастных групп было показано, что во всех возрастных группах с большей частотой выявлена умеренно дифференцированная аденокарцинома (G2).

Нами проведен сравнительный анализ результатов лекарственной терапии больных мКРР. Из 332 больных у 263 (79,2 %) применялась химиотаргетная терапия, 69 (20,8 %) больным проводилась стандартная полихимиотерапия. В группе таргетной химиотерапии на момент исследования оставались живы 85 (32,3 %) больных, при этом медиана выживаемости равнялась $42,0 \pm 1,7$ мес, 95 % ДИ (38,6–45,4). В группе с полихимиотерапией оставались живы 7 (10,1 %) больных, при этом медиана выживаемости составила $20,0 \pm 1,7$ мес, 95 % с ДИ (16,6–23,4).

При подгрупповом анализе сравнивались таргетные компоненты – бевацизумаб и цетуксимаб. Из 263 пациентов, которым была применена химиотаргетная терапия, 206 (78,3 %) больных получали препарат бевацизумаб, 57 (21,7 %) больных – препарат цетуксимаб. В группе бевацизумаба на момент исследования оставались живы 69 (33,5 %) больных, при этом медиана выживаемости составила $42,7 \pm 2,0$ мес, 95 % ДИ (38,9–46,6), в группе цетуксимаба были живы 16 (28,1 %) больных, медиана выживаемости у них составила $35,5 \pm 2,4$ мес, 95 % с ДИ (30,7–40,2).

Выводы

Таким образом, мы можем сделать вывод о том, что применение таргетной химиотерапии по сравнению со стандартными режимами полихимиотерапии увеличивает выживаемость до прогрессирования, так как при анализе отмечена статистически значимая разница в 22,0 мес ($\chi^2=66,4$, $p=0,01$). Изучение применения различных таргетных компонентов, в частности препарата бевацизумаб, по сравнению с препаратом цетуксимаб показало преимущество в медиане выживаемости на 7,2 мес, но статистически разница между этими показателями оказалась недостоверной, $\chi^2=0,6$, $p=0,43$.

Таблица 1

Распределение больных КРР по стадиям опухолевого процесса

	Стадия процесса, %			МТС в регионарные лимфоузлы, %		Отдаленные МТС при обращении	
	II	III	IV	Нет	Есть	Нет	Есть
332	64 (19,3 %)	101 (30,4 %)	167 (50,3 %)	120 (36,1 %)	212 (63,9 %)	165 (49,7 %)	167 (50,3 %)

Таблица 2

Распределение результатов генетического анализа

Мутация KRAS	Дикий тип		KRAS мутация	
	Абс кол-во	%	Абс.	%
Нет	183	55,1	0	0
Есть	0	0	149	44,9

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferlay J., Soerjomataram I., Ervik M., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F. GLOBOCAN 2012 Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012 v1.0. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2013.
2. Center M.M., Jemal A., Ward E. International trends in colorectal cancer incidence rates. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2009 Jun; 18(6): 1688-94. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0090.
3. Murphy C.C., Harlan L.C., Lund J.L., Lynch C.F., Geiger A.M. Patterns of Colorectal Cancer Care in the United States: 1990-2010. J Natl Cancer Inst. 2015 Jul 23; 107(10): djv198. doi: 10.1093/jnci/djv198.
4. Australian Institute of Health and Welfare (AIHW) Cancer in Australia 2017 [Internet]. URL: <https://www.aihw.gov.au/reports/cancer/cancer-in-australia-2017/> (cited 3.02.2017).

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТОКОЛА ГРОН-HD-2003 В ТЕРАПИИ ЛИМФОМЫ ХОДЖКИНА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

А.С. Наумова¹, О.А. Тиганова^{1,2}, Л.И. Ильенко²

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва, Россия¹
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия²

Аннотация

Актуальность. Лимфома Ходжкина (ЛХ) является редким клональным злокачественным заболеванием лимфатической системы. В настоящее время в условиях отделения детской онкологии и гематологии ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ» пациенты детского и подросткового возраста с впервые морфоиммуногистохимически верифицированной ЛХ получают программную терапию в рамках протокола

GPOH-HD-2003. В статье представлены результаты 15-летнего опыта лечения детей и подростков с ЛХ согласно рекомендациям указанного протокола. **Материал и методы.** С 01.01.2003 по 31.12.2018 г. 62 пациента (35 мальчиков, 27 девочек) с ЛХ получали программную терапию в рамках протокола GPOH-HD-2003. Возраст пациентов до начала специфической терапии варьировал от 4,7 до 17,6 года, медиана возраста – 13,3 года. Пациенты были разделены на терапевтические группы (ТГ) в зависимости от стадии заболевания, в ТГ-1 входило 2 ребенка, в ТГ-2 – 30 детей, в ТГ-3 – 30 детей. Все пациенты ТГ-1 получали два индукционных цикла: OPPA для девочек, OE*PA для мальчиков. Пациенты ТГ-2 и ТГ-3 получали 2 или 4 курса соответственно: COPP (девочки), COPDAC (мальчики). После окончания полихимиотерапии (ПХТ) все пациенты проходили лучевую терапию в дозе 19,8 Гр на инициально пораженные области. **Результаты.** Показатели общей выживаемости (ОВ), бессобытийной выживаемости (БСВ) и безрецидивной выживаемости (БРВ) за все время наблюдения составили 100 % (медиана наблюдения – 48,12 мес). Не было зафиксировано ни одного случая летальности, обусловленного проведением терапии, рецидива ЛХ или вторичных опухолей. При анализе миелотоксичности курсов ПХТ выяснилось, что курсы OPPA+COPP более токсичны по сравнению с OE*PA+COPDAC. **Заключение.** Показатели 5-летних ОВ, БРВ, БСВ свидетельствуют о высокой эффективности и приемлемой токсичности программной терапии ЛХ по протоколу GPOH-HD-2003 вне зависимости от пола, возраста и распространенности заболевания.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, дети, подростки, полихимиотерапия, гематотоксичность, выживаемость.

CLINICAL EFFICIENCY OF THE PROTOCOL GPOH-HD-2003 IN HODGKIN LYMPHOMA THERAPY IN CHILDREN AND ADOLESCENTS

A.S. Naumova¹, O.A. Tiganova^{1,2}, L.I. Ilyenko²

Morozov Children Clinical Hospital, Moscow, Russia¹

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia²

Аннотация

Relevance. Hodgkin's lymphoma (HL) is a rare clonal neoplasm of lymphatic tissue. In the structure of malignant neoplasms in children HL accounts for 4–6 % and for 16 % in adolescents. Now children and adolescents with confirmed histology of HL in the Department of Oncology and Hematology, Morozov Children Clinical Hospital, treated with the GPOH-HD-2003 protocol. The article presents the 15 years of experience of treatment children and adolescents with HL according to recommendations of this protocol. **Material and Methods.** From January 1, 2003 until December 31, 2018, 62 patients (35 boys, 27 girls) received therapy according to recommendations of GPOH-HD-2003 study. Age of patients ranged from 4.7 to 17.6 years, mean age was 13.3 years. All patients were divided into three treatment groups (TGs) depending on tumor stage. There were 2 patients in TG-1, 30 patients in TG-2 and 30 patients in TG-3. TG-1 patients received two courses of induction: OE*PA for boys and OPPA for girls. TG-2 and TG-3 patients received further two or four cycles of COPP (girls) or COPDAC (boys), respectively. After chemotherapy all patients received 19.8 Gy radiation therapy. **Results.** Overall survival (OS), event-free survival (EFS) and disease-free survival (DFS) rates at 5 years were 100 % for the period of the observation time (the median follow-up time was 48.12 months). No treatment-related deaths, relapses or second malignancies were recorded during this period. The hematotoxicity was more pronounced with OPPA+COPP than OE*PA+COPDAC. **Conclusion.** OS, EFS and DFS rates indicate high efficiency and low toxicity of GPOH-HD-2003 study regardless of the initial stage.

Key words: Hodgkin's lymphoma, children, adolescents, chemotherapy, hematotoxicity, survival.

Актуальность

В структуре онкологической заболеваемости у детей младше 13 лет лимфома Ходжкина (ЛХ) занимает 4–6 %, у подростков – 16 % [1–3]. Исходя из эпидемиологических особенностей, первый пик заболеваемости ЛХ приходится на возраст от 15 до 30 лет [4, 5]. ЛХ у детей является потенциально излечимым заболеванием, после окончания программной терапии показатели общей выживаемости достигают 90 % [6]. Лечение пациентов с классической ЛХ зависит от стадии болезни, наличия или отсутствия В-симптомов и пола. Рекомендации GPOH-HD-2003 были составлены с учетом опыта предшествующих шести DAL/GPOH терапевтических исследований, которые проводились рабочей группой в Германии с 1978 г. **Целями исследований** являлись оптимизация подходов к терапии и разработка стандартов

лечения классической ЛХ у детей [6, 7]. Показатели 5-летней бессобытийной выживаемости пациентов всех терапевтических групп, получавших терапию согласно рекомендациям пилотного протокола GPOH-HD-2002, составляют 90 %, что свидетельствует о высокой эффективности лечения [8].

Материал и методы. В исследование вошло 62 пациента детского и подросткового возраста с лимфомой Ходжкина, с 1 января 2003 по 31 декабря 2018 г. проходивших программную терапию в рамках протокола GPOH-HD-2003 в отделении онкологии и гематологии ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ». Возраст пациентов до начала специфической терапии – 4,7–17,6 года (медиана возраста – 13,3 года). Вариант нодулярного склероза был верифицирован у 79 % пациентов, смешанно-клеточный вариант – у 15 %, вариант лимфоидного преобладания – у 6 %. После проведения комплексного обследования I стадия ЛХ установлена у 3 % пациентов, II стадия – у 48 %, III стадия – у 29 %, IV стадия – у 19 %. Наличие В-симптомов отмечалось у 82 % детей. Пациенты были разделены на терапевтические группы (ТГ): в ТГ-1 входило 2 ребенка, в ТГ-2 – 30 детей, в ТГ-3 – 30 детей. Пациентам ТГ-1 проводилось два индукционных цикла: ОРРА девочкам, ОЕ*РА мальчикам. Пациентам ТГ-2 и ТГ-3 в дальнейшем проводилось 2 или 4 курса соответственно: СОРР (девочкам), СОРДАС (мальчикам). Наиболее частым осложнением терапии оказалась нейтропения: нейтропения 3–4 степени развивалась в 40 % случаев после проведения курсов ОЕ*РА у мальчиков и в 47 % случаев после проведения ОРРА у девочек. После проведения курса СОРДАС у мальчиков нейтропения 3–4-й степени отмечалась в 9 % случаев, после СОРР у девочек – в 26 %. При анализе частоты возникновения нейтропии 3–4-й степени у пациентов различных терапевтических групп не было выявлено нарастания миелотоксичности в зависимости от продолжительности терапии (рис. 1).

Анемия и тромбоцитопения носили единичный характер; трансфузионная потребность являлась низкой – 13 % (8 пациентов). Среди пациентов мужского пола отмечалось 8 случаев инфекционных эпизодов, развивавшихся только после курсов ОЕРА. У пациентов женского пола инфекционные эпизоды в 3 случаях развивались после окончания курсов ОРРА и СОРР. В единственном случае отмечалось развитие сепсиса как жизнеугрожающего осложнения ПХТ у пациента с генетически подтвержденным синдромом Ниймеген. Проявления органной токсичности (гастрит, оссалгии и тромбозы) носили единичный характер. По окончании ПХТ все пациенты проходили лучевую терапию в дозе 19,8 Гр на первично пораженные области.

Результаты

Медиана наблюдения пациентов составила 48,12 мес. Не было зафиксировано ни одного случая летальности, обусловленного проведением терапии в рамках протокола GPOH-HD-2003. К 31 декабря 2018 г. 1 пациент считался вышедшим из-под наблюдения, 61 пациент жив, не зарегистрировано ни одного случая рецидива ЛХ или развития вторичных опухолей. Показатели 5-летней общей выживаемости (ОВ), безрецидивной выживаемости (БРВ) и бессобытийной выживаемости (БСВ) составили 100 %. Значения 5-летних показателей ОВ представлены на рис. 2.

В изучаемой группе пациентов проведение терапии курсами ОРРА+СОРР по сравнению с ОЕРА+СОРДАС достоверно чаще приводило к выраженной миелотоксичности (нейтропения 3–4-й ст.): 20 % и 36 %, $p < 0.05$. В случаях нарушения тайминга ПХТ после окончания терапии при проведении курсов ОРРА+СОРР общая полная ремиссия регистрируется достоверно реже по сравнению с курсами ОЕРА+СОРДАС (15 % и 37 % соответственно, $p < 0.01$).

Выводы

Проведение программной терапии GPOH-HD-2003 у детей и подростков с впервые выявленной ЛХ высокоэффективно: показатели 5-летней ОВ, БСВ, БРВ составляют 100 %. Протокол GPOH-HD-2003 характеризуется хорошей переносимостью и приемлемой органной токсичностью (22 %). Самым частым осложнением является миелотоксичность: нейтропения 3–4-й степени отмечалась в 64 % случаев (40 пациентов), при этом инфекционные эпизоды развивались только в 17 % случаев (11 пациентов).

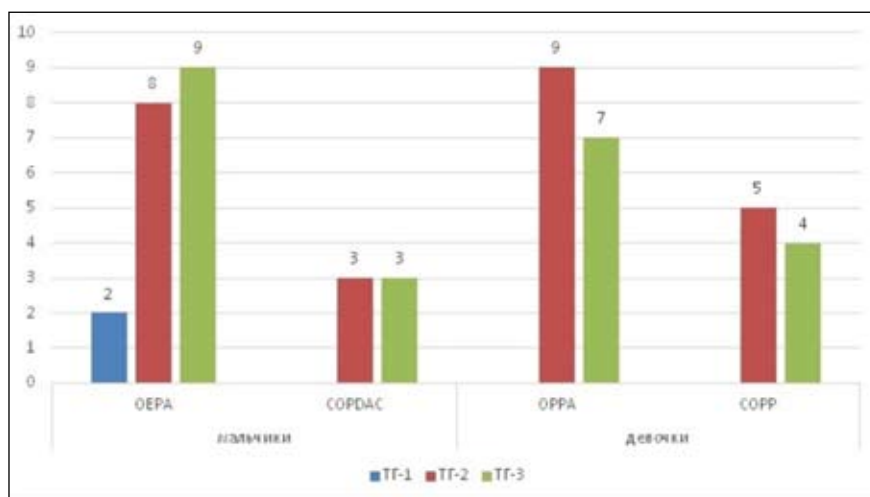


Рис. 1. Динамика частоты возникновения нейтропении 3–4-й ст. у пациентов, получавших терапию по протоколу GPOH-HD-2003

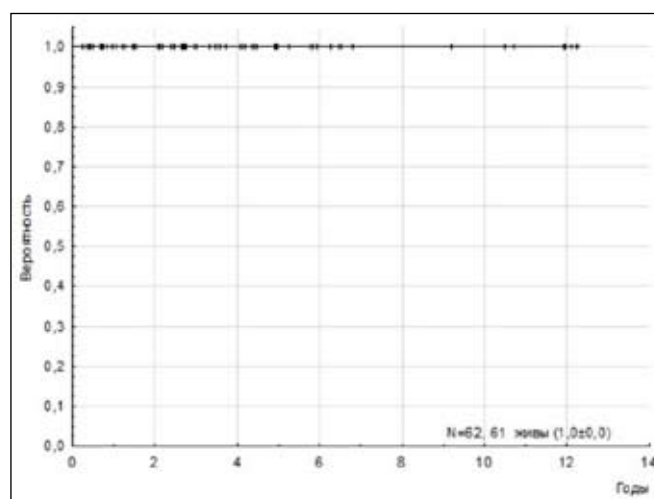


Рис. 2. 5-летние показатели общей выживаемости пациентов с ЛХ после программной терапии по протоколу GPOH-HD-2003

ЛИТЕРАТУРА

1. Kaatsch P. Epidemiology of childhood cancer. *Cancer Treat Rev.* 2010; 36(4): 277–85.
2. Arya L., Dinand V. Current Strategies in the Treatment of Childhood Hodgkin's Disease. *Indian Pediatr.* 2005 Nov; 42(11): 1115–28.
3. Hochberg J., Waxman I.M., Kelly K.M., Morris E., Cairo M.S. Adolescent non-Hodgkin lymphoma and Hodgkin lymphoma: state of the science. *Br J Haematol.* 2009 Jan; 144(1): 24–40. doi: 10.1111/j.1365–2141.2008.07393.x.
4. Ekstrand B., Horning S. Hodgkin's Disease. *Blood reviews.* 2002; 16: 111–117. doi: 10.1054/blre.2002.0190.
5. Georgakis M.K., Karalexi M.A., Agius D., Antunes L., Bastos J., Coza D., Demetriou A., Dimitrova N., Eser S., Florea M., Ryzhov A., Sekerija M., Žagar T., Zborovskaya A., Zivkovic S., Bouka E., Kanavidis P., Dana H., Hatzipantelis E., Kourti M., Moschovi M., Polychronopoulou S., Stiakaki E., Kantzanou M., Pourtsidis A., Petridou E.T. Incidence and time trends of childhood lymphomas: findings from 14 Southern and Eastern European cancer registries and Surveillance, Epidemiology and End Results, USA Cancer Causes Control. 2016 Nov; 27(11): 1381–1394. doi: 10.1007/s10552–016–0817–3.
6. Englund A., Glimelius I., Rostgaard K., Smedby K.E., Eloranta S., Molin D., Kuusk T., Brown P.N., Kamper P., Hjalgrim H., Ljungman G., Hjalgrim L.L. Hodgkin lymphoma in children, adolescents and young adults comparative study of clinical presentation and treatment outcome. *Acta Oncol.* 2018 Feb; 57(2): 276–282. doi: 10.1080/0284186X.2017.1355563.
7. Dörffel W., Lüders H., Rühl U., Albrecht M., Marciniak H., Parwaresch R., Pötter R., Schellong G., Schwarze E.W., Wickmann L. Preliminary results of the multicenter trial GPOH-HD 95 for the treatment of Hodgkin's disease in children and adolescents: analysis and outlook. *Klin Padiatr.* 2003 May-Jun; 215(3): 139–45.
8. Mauz-Körholz C., Hasenclever D., Dörffel W., Ruschke K., Pelz T., Voigt A., Stiefel M., Winkler M., Vilser C., Dieckmann K., Karlén J., Bergsträsser E., Fossa A., Mann G., Hummel M., Klapper W., Stein H., Vordermark D., Kluge R., Körholz D. Procarbazine-free OEPA-COPDAC chemotherapy in boys and standard OPFA-COPP in girls have comparable effectiveness in pediatric Hodgkin's lymphoma: the GPOH-HD-2002 study. *J Clin Oncol.* 2010 Aug 10; 28(23): 3680–6. doi: 10.1200/JCO.2009.26.9381.

АССОЦИАЦИЯ ГИПОКСИИ И ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА С МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ КАРЦИНОМ ГОЛОВЫ И ШЕИ

Ю.А. Небова^{1,2}, В.А. Бычков¹, И.В. Ларионова², Л.Н. Бондарь¹,
В.М. Перельмутер¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Плоскоклеточные карциномы головы и шеи (HNSCC) обладают значительной степенью гетерогенности, когда в одной и той же опухоли встречаются клеточные структуры различной степени дифференцировки. Ранее при исследовании морфологических особенностей HNSCC нами была выявлена значимая ассоциация наличия дискретных опухолевых клеток (IV и V типов структур) и низкого уровня воспалительного инфильтрата с лимфогенным метастазированием [1]. **Цель исследования** – проверить гипотезу об увеличении активности эпителиально-мезенхимального перехода (EMT) по мере снижения дифференцировки изучаемых 5 типов в структурах низкой степени дифференцировки, а также оценить роль гипоксии в качестве возможного фактора формирования морфологической гетерогенности плоскоклеточных карцином. **Материал и методы.** При помощи конфокальной микроскопии и иммунофлюоресцентного окрашивания мы изучили процент Snail-, Vimentin- и HIF1α-позитивных клеток в гистологических срезах HNSCC в 5 типах клеточных структур разной степени дифференцировки у пациентов с интактными (N0) и пораженными метастазами лимфоузлами (N1–2). **Результаты.** Показано, что по мере снижения дифференцировки опухолевых клеток от структур I–III типа к структурам V типа увеличивается доля Snail-, Vimentin- и HIF1α-позитивных клеток, достигая в дискретных опухолевых клетках 19 %, 20 % и 63 % соответственно. Показано также, что у пациентов с метастатическим поражением лимфоузлов по сравнению с пациентами без лимфогенных метастазов уровень этих белков выше, что говорит об их неблагоприятном прогностическом значении. По всей видимости, гипоксия HNSCC является значимым фактором микроокружения, обуславливающим не только активацию EMT, но и особенности их морфологического строения.

Ключевые слова: опухоли головы и шеи, HIF1α, эпителиально-мезенхимальный переход, внутриопухолевая гетерогенность, морфология, лимфогенное метастазирование.

ASSOCIATION OF HYPOXIA AND EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION WITH MORPHOLOGICAL FEATURES OF SQUAMOUS CELL CARCINOMAS OF THE HEAD AND NECK

J.A. Nebova^{1,2}, V.A. Bychkov¹, I.V. Larionova^{1,2}, L.N. Bondar¹, V.M. Perelmuter¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia¹
National research Tomsk state university, Tomsk, Russia²

Abstract

Squamous cell carcinomas of the head and neck (HNSCC) have a significant degree of heterogeneity when cell structures of different degrees of differentiation are found in the same tumor. Earlier, when studying the morphological features of HNSCC, we revealed a significant association of the presence of discrete tumor cells (IV and V types of structures) and a low level of inflammatory infiltrate with lymphogenous metastasis [1]. **The aim** of the study was to test the hypothesis of an increase in the activity of the epithelial-mesenchymal transition (EMT) with a decrease in the differentiation of the studied 5 types in structures with a low degree of differentiation, and to evaluate the role of hypoxia as a possible factor in the formation of morphological heterogeneity of squamous cell carcinomas. **Material and Methods.** Using confocal microscopy and immunofluorescence staining, we studied the percentage of Snail, Vimentin, and HIF1α-positive cells in

HNSCC histological sections in 5 types of cell structures of different degrees of differentiation in patients with intact (N0) and metastatic lymph nodes (N1–2). **Results.** It was shown that as the differentiation of tumor cells from type I–III structures to type V structures decreases, the proportion of Snail, Vimentin, and HIF1 α -positive cells increases, reaching 19 %, 20 %, and 63 % in discrete tumor cells, respectively. It was also shown that in patients with metastatic lesions of the lymph nodes, compared with patients without lymphogenous metastases, the level of these proteins is higher, which indicates their unfavorable prognostic value. Apparently, HNSCC hypoxia is a significant factor in the microenvironment, which determines not only the activation of EMT, but also the features of their morphological structure.

Key words: head and neck tumors, HIF1 α , epithelial-mesenchymal transition, intratumoral heterogeneity, morphology, lymphogenous metastasis.

Цель исследования – изучить содержание клеток, позитивных по транскрипционному фактору гипоксии (HIF1 α) и степень выраженности EMT (Snail и Виментин) в 5 типах клеточных структур у пациентов с HNSCC, а также установить связь HIF1 α с лимфогенным метастазированием.

Материал и методы

На гистологических срезах плоскоклеточных карцином 14 пациентов с HNSCC различных локализаций при помощи иммуногистохимии с применением первичных антител к HIF1 α , HMW (Novus Biologicals, USA) визуализировали 5 типов изучаемых структур. Анализ окрашенных препаратов проводили лазерным конфокальным сканирующим микроскопом LSM 780 NLO («Carl-Zeiss», Германия). Идентификация опухолевых клеток (16 пациентов) в состоянии EMT осуществлялась на основе определения наличия белков Snail и виментина при помощи первичных (Santa Cruz Biotechnology, USA) и вторичных антител, конъюгированных с флуоресцентными метками (Dako, USA). Для окраски ядер клеток применялся Dapi (Sigma-Aldrich, USA). Детекция флуоресцентного сигнала также осуществлялась при помощи LSM 780 NLO. Кроме того, на каждого больного была получена информация о TNM-статусе, количестве пораженных лимфоузлов, степени дифференцировки, наличии инвазии в подлежащие ткани. Было оценено количество опухолевых клеток, позитивных по белку HIF1 α (в %). Анализ морфологической гетерогенности опухолей проводился методом световой микроскопии на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином.

Для проверки статистически значимой разницы результатов использовали непараметрические критерии Манна – Уитни.

Результаты

Исследование общего количества клеток, продуцирующих HIF1 α (HIF1 α +) во всех 5 типах структур, показало, что в структурах V типа (приблизительно в 40–60 % HIF1 α -позитивных клеток) уровень содержания HIF1 α значимо выше ($p < 0,05$), чем в других типах (10–30 % HIF1 α -позитивных клеток). Согласно данным литературы, гипоксия играет одну из ведущих ролей в стимуляции EMT (эпителиально-мезенхимального перехода), в результате чего происходит потеря межклеточных контактов среди опухолевых клеток, что приводит к их обособлению и приобретению мезенхимоподобной формы [2, 3]. Так, при изучении выраженности факторов EMT (Snail и Виментина) было показано, что количество Snail- и виментин-позитивных клеток в структурах I–III типов значимо не различается и колеблется на уровне 2–5 % для Snail и 6–10 % для виментина. В сравнении с указанными структурами в высокополиморфных клеточных структурах IV типа имела тенденция к увеличению Snail- и Виментин-позитивных клеток – 11 и 16 % соответственно ($p > 0,05$), тогда как в структурах V типа доля клеток в состоянии EMT была значимо выше – 19 и 20 % соответственно ($p < 0,05$). При этом Snail можно рассматривать как маркер раннего, частичного EMT, а виментин – как маркер позднего, завершённого EMT. При оценке тотального количества HIF1 α + клеток в опухолевой ткани у пациентов с интактными лимфоузлами (N0) и с пораженными метастазами лимфоузлами (N1–2) было установлено его значимое увеличение в группе N1–2 ($p = 0,01$), что говорит о гипоксии как о неблагоприятном факторе прогноза развития лимфогенных метастазов. При этом наблюдается увеличение экспрессии HIF1 α у пациентов с N1–2 в структурах III ($p = 0,022$), IV ($p = 0,064$) и V ($p = 0,063$) типов по сравнению с пациентами с N0.

Выводы. Таким образом, показано, что гипоксия является одним из ведущих факторов озлокачествления плоскоклеточных карцином, увеличивая активность эпителиально-мезенхимального перехода, в результате чего в опухоли обнаруживается увеличение количества дискретных опухолевых клеток, которые хорошо визуализируются при рутинном гистологическом исследовании. Их обнаружение является неблагоприятным прогностическим фактором в развитии лимфогенных метастазов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ и администрации Томской области в рамках научного проекта №18-415-703014.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бычков В.А., Бондарь Л.Н., Небова Ю.А., Ларионова И.В., Черемисина О.В., Перельмутер В.М. Прогностическая значимость маркеров эпителиально-мезенхимального перехода и морфологических характеристик плоскоклеточных карцином головы и шеи в развитии лимфогенных метастазов. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(6): 67–74. doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-6-67-74.
2. Bredell M.G., Ernst J., El-Kochairi I., Dahlem Y., Ikenberg K., Schumann D.M. Current relevance of hypoxia in head and neck cancer. *Oncotarget*. 2016 Aug 2; 7(31): 50781–50804. doi: 10.18632/oncotarget.9549.
3. Yoshimoto S., Tanaka F., Morita H., Hiraki A., Hashimoto S. Hypoxia-induced HIF-1 α and ZEB1 are critical for the malignant transformation of ameloblastoma via TGF- β -dependent EMT. *Cancer Med*. 2019 Dec; 8(18): 7822–7832. doi: 10.1002/cam4.2667.

СОВРЕМЕННЫЕ ЦИФРОВЫЕ ПОДХОДЫ И МЕТОДЫ КАК ИНСТРУМЕНТ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО СОПРОВОЖДЕНИЯ И РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ ОБЛАСТИ ГОЛОВЫ И ШЕИ

Н.С. Нуриева, Ю.С. Кипарисов

Южно-уральский государственный медицинский университет
(ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России), г. Челябинск, Россия

Аннотация

Стоматологическая помощь пациентам, перенесшим комплексную противоопухолевую терапию злокачественных новообразований головы и шеи, давно стала неотъемлемой частью данного лечения. Необходимость стоматологической помощи на всех этапах противоопухолевой терапии, а также на период реабилитации неоднократно обоснована. Современный арсенал стоматологического сопровождения – это помощь в планировании, стандартизации и фиксации при проведении лучевой терапии, профилактика и купирование химиолучевых реакций при их возникновении, реабилитация в постоперационном периоде. Динамично развивающиеся цифровые протоколы стоматологических манипуляций, такие как сканирование, 3Д-печать, виртуальное моделирование протезов, не могли не затронуть также изучаемую нами область. Среди большинства медицинских и социальных проблем злокачественные новообразования занимают одно из ведущих мест. Это обусловлено целым рядом причин, среди которых особенно выделяются высокие показатели заболеваемости и смертности, поздняя обращаемость и частая инвалидизация. Стоматологическое сопровождение в данном случае является инструментом повышения эффективности и радикальности лечения за счёт эффективного планирования и изготовления хирургических шаблонов, частью реабилитации и как следствие инструментом снижения инвалидизации. Цифровой подход в стоматологическом сопровождении позволит ускорить процессы коммуникации между стоматологом и онкологом, обеспечить повышение точности планирования за счёт изготовления контрольных моделей и хирургических шаблонов, повысить скорость и эффективность протезирования, внести конструкционные особенности в сложно-челюстные протезы.

Ключевые слова: стоматология, злокачественные новообразования полости рта, хирургическая стоматология, дефекты челюстных костей, онкология, цифровая стоматология.

MODERN DIGITAL APPROACHES AND METHODS AS THE INSTRUMENT OF DENTAL CARE AND REHABILITATION OF PATIENTS UNDERGOING HEAD AND NECK ANTICANCER THERAPY

N.S. Nuriyeva, Y.S. Kiparisov

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «South-Ural State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia

Abstract

Dental care for patients with malignancies who have undergone complex antitumor therapy for head and neck malignancies has long been an integral part of this treatment. The need for dental care, without exception, at all stages of antitumor therapy, as well as for the period of rehabilitation has been repeatedly justified. The modern Arsenal of dental support is: assistance in planning, standardization and fixation during radiation therapy, prevention and relief of chemo-radiation reactions, when they occur, rehabilitation in the postoperative period. Dynamically developing digital protocols of dental manipulations, such as scanning, 3D printing, and virtual modeling of prostheses, could not but affect the area we are studying. Among the majority of medical and social problems, malignant neoplasms occupy one of the leading places. This is due to a number of reasons, including high morbidity and mortality rates, late access and frequent disability. Dental support in this case is a tool to increase the effectiveness and radicality of treatment through effective planning and production of surgical templates, part of rehabilitation and as a result, a tool to reduce disability. The digital approach, in dental support, will speed up the communication process between the dentist and oncologist, provide improved planning accuracy by making control models and surgical templates, increase the speed and efficiency of prosthetics, and introduce structural features in complex-jaw prostheses.

Key words: stomatology, malignant new growths of an oral cavity, surgical stomatology, defects of maxillary bones, oncology, digital stomatology.

Актуальность

Злокачественные новообразования головы и шеи составляют около 1,5 % всех опухолей у человека. По статистике данное заболевание более актуально для мужчин в возрасте 40–60 лет [1, 2]. Динамика числа больных с впервые в жизни установленным диагнозом рака головы и шеи за 2012–2018 гг. стремится к росту [3, 4]. Заболевания данной локализации занимают 2-е место по темпам прироста. При этом около 90 % больных находятся в трудоспособном возрастном интервале [5]. Несмотря на визуальную локализацию, 60–70 % больных попадают в учреждения онкологического профиля на III–IV стадиях заболевания [6]. Фактически 100 % этих пациентов нужна стоматологическая помощь [7, 8]. В настоящее время оказание стоматологической помощи проводится в основном «аналоговыми» методами. Однако в ряде случаев провести стандартные стоматологические манипуляции затруднительно. Возможно развитие послеоперационных контрактур, сроки изготовления протезов, точность припасовки.

Цель исследования – разработать возможность применения цифровых подходов (цифровых протоколов) в области стоматологического сопровождения и реабилитации пациентов при противоопухолевой терапии злокачественных новообразований головы и шеи.

Материал и методы

В течение годового исследования в условиях ЧОКЦОЯМ было проведено стоматологическое сопровождение и реабилитация (г. Челябинск) 16 пациентов с верифицированным диагнозом злокачественного новообразования головы и шеи. Всем пациентам проведено соответствующее онкологическое лечение по поводу данного заболевания. Всем пациентам оказана стоматологическая помощь на всех этапах лечения, а при необходимости и после окончания терапии. Полученные данные статистически обработаны при помощи программы Statistica 10.0. Распределение опухолевого процесса по стадиям во всех случаях классически проводилось по классификации TNM. Обращает на себя внимание процент ранней диагностики. Так, стадия T1 определялась в 43,1 %, а T4 – в 16,6 %. Также наличие регионарного метастазирования N0 наблюдалось в 87,7 %, при N3 – в 1,4 %. Все приведённые данные свидетельствуют об эффективности мероприятий, направленных на онконастороженность врачей первичного звена, в том числе стоматологического профиля. Локализация новообразований оро-фарингеальной зоны в обследуемых нами группах была следующей: дно полости рта – у 12,1 %, языка – у 43,9 %, верхней челюсти – у 1,5 %, нижней челюсти – у 12,1 %, слизистой оболочки щеки – у 1,5 %, губы – у 43,9 % пациентов. Обращает на себя внимание высокая локализация в максимально доступных для обзора органах (губа и язык). Что также указывается рядом авторов проведённых исследованиях [12, 14]

Стоматологическая помощь была оказана 100 % пациентов и заключалась в следующем:

При планировании хирургического этапа лечения важным моментом было определение объёма резекции костных структур лицевого скелета. Этот этап необходим как для хирургов, так и для стоматологов, поскольку это влияет на определение конструкции протеза (при необходимости его изготовления). Это могут быть как резекционные, так и фиксирующие

шины-протезы. Так, на этапе планирования определяются количество и расположение фиксирующих элементов. Для этапа планирования в стоматологическом сопровождении возможны как цифровые, так и аналоговые методы. При проведении аналогового метода сопровождения перед операцией изготавливались гипсовые модели, на основе которых формировались границы будущей резекции, и при необходимости аналоговым методом изготавливались резекционные пластины (рис. 1).

При использовании цифровых методик планирования сначала пациенту проводилось дополнительное КТЛК исследование на конусно-лучевом томографе Planmexka. Файлы в формате DICOM обрабатывались для выделения костных и зубных структур и в дальнейшем производилась 3Д-печать в принтере formlabs 2 в полную анатомию (рис. 2). Изготовленная цифровая модель помогает хирургам определиться с возможностью проведения непосредственно операционных манипуляций, а стоматологам более точно смоделировать необходимый ортопедический формирователь или резекционную пластину.

На 10–14-е сут после операции пациентам изготавливали формирующий протез, частично замещавший послеоперационную полость и несущий на себе отсутствующий зубной ряд. В данном случае также возможен цифровой и аналоговый подход. Дополнительным осложнением, с которым может столкнуться врач-стоматолог на этом этапе, является развитие послеоперационных контрактур, они ограничивают открывание рта, что затрудняет снятие аналоговых слепков. При проведении стандартной процедуры оттиск снимается стандартной ложкой, затем на гипсовых моделях техник изготавливает индивидуальную ложку, которой снимается более чёткий и корректный слепок. Вновь отливается гипсовая модель, на которой происходит изготовление формирующего протеза (рис. 3). При цифровом подходе возможно сканирование протезного ложа с помощью внутриротовых сканеров. В нашей работе мы использовали внутриротовой сканер CEREC (рис. 4). В нашей работе использование цифрового сканера ограничилось на данном этапе только сканированием протезного ложа, для изготовления индивидуальной ложки, напечатанной также по технологии 3Д-печати (рис. 5). Такое ограничение на данном этапе объясняется возможностью фокусного расстояния внутриротового сканера и ограниченностью программного обеспечения. Но даже на настоящий момент возможность изготавливать индивидуальные ложки цифровым способом, без снятия оттисков стандартными ложками и изготовлением первичной гипсовой модели, облегчает снятие слепков, увеличивает точность и время на изготовление.

В перспективах нашего исследования планируется совершенствование возможности внутриротового сканирования, а также возможность 3Д-печати формирующих, замещающих и челюстно-лицевых протезов.

Выводы

Несмотря на доступность челюстно-лицевой области для обследования, процент диагностики заболеваний в стадии Т3–Т4 по-прежнему остаётся высоким. Все пациенты с опухолями полости рта в 100 % случаев, помимо противоопухолевой терапии, получают стоматологическое сопроводительное лечение, в настоящее время с широким развитием цифровой стоматологии, цифровые методы возможны также в случаях сопровождения и реабилитации данной категории пациентов. Данные методики цифровых протоколов, при планировании и реабилитации пациентов с новообразованиями полости рта, имеют перспективное развитие, связанное с высокой точностью, скоростью изготовления, а также возможностью применения в ситуациях, в которых использование аналоговых методик ограничено. В данной статье рассмотрены перспективы применения и вектор развития цифровых технологий при сопровождении и реабилитации пациентов с опухолями полости рта.



Рис. 1. Модель и протез, изготовленные аналоговым методом



Рис. 2. Модель, в полную анатомию напечатанная на 3D-принтере. Подготовка к планированию

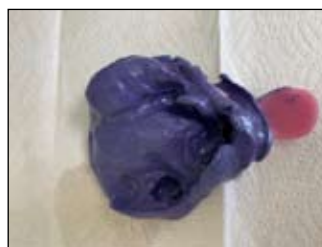


Рис. 3. Индивидуальные ложка и оттиск, полученные аналоговым методом

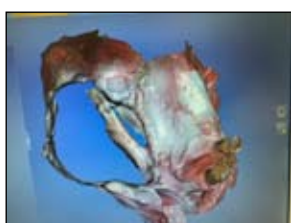


Рис. 4. Сканер протезного ложка и индивидуальная ложка, полученная при помощи 3Д-печати

ЛИТЕРАТУРА

1. Вагнер В.Д., Ивасенко П.И., Анисимова И.В. Онкологическая настороженность в практике врача-стоматолога. М.: Медицинская книга, 2010. 160 с.
2. Геворков А.Р., Бойко А.В., Болотина Л.В., Шашков С.В. Основные принципы ведения пациентов с мукозитом и дерматитом при лучевом лечении с лекарственной модификацией больных плоскоклеточным раком орорингальной области. Опухоли головы и шеи. 2016; 3: 12.
3. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. 2014. 226 с.
4. Нуриева Н.С. Стоматологическая реабилитация пациентов с приобретенными дефектами верхней челюсти с применением дентальных мини-имплантатов. Клинический пример. Сборник публикаций научного журнала «Chronos» по материалам VI международной научно-практической конференции. 1 часть. «Вопросы современной науки: проблемы, тенденции и перспективы». М., 2016. 811.
5. Нуриева Н.С., Гузь О.А., Захаров А.С., Гареев А.В. Обзор современного состояния проблемы первичной выявляемости злокачественных новообразований органов полости рта. Проблемы стоматологии. 2019; 15(2): 50–55.
6. Ряховский А.Н., Рассадин М.А., Левицкий В.В., Юмашев А.В., Карапетян А.А., Мурадов М.А. Объективная методика оценки изменений топографии объектов полости рта. Панорама ортопедической стоматологии. 2006; 1: 8–10.
7. Юмашев А.В., Михайлова М.В., Кудерова И.Г., Кристаль Е.А. Варианты использования 3D сканирования в ортопедической стоматологии. Вестник новых медицинских технологий. 2015; 1: 2–6.
8. Dobratz E.J., Hilger P.A. Cheek defects. Facial Plast Surg Clin North Am. 2009 Aug; 17(3): 455–67. doi: 10.1016/j.fsc.2009.05.004.

ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ ОРИГИНАЛЬНОГО МОНОФЕНОЛЬНОГО ИНДУКТОРА СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ KEAP1/NRF2/ARE

**В.С. Павлов, А.С. Межевалова, А.Е. Серых, Л.П. Ромах, А.В. Ковнер,
П.М. Кожин**

Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины,
г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Роль активных форм кислорода (АФК) и азота в эндогенных механизмах защиты от окислительных повреждений, прежде всего редокс-чувствительной сигнальной системы антиоксидант-респонсивного элемента Keap1/Nrf2/ARE, чрезвычайно неоднозначна и может менять знак в зависимости от стадии

процесса, типа и локализации новообразования. В настоящей работе на экспериментальной модели роста перевиваемой карциномы легких Льюис (LLC) у мышей было исследовано действие оригинального синтетического фенольного антиоксиданта 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)-пропилтиосульфоната натрия (ТС-13) на рост опухоли и онколитический эффект доксорубина. У мышей, получавших ТС-13 с питьевой водой (100 мг/кг), на 21-й день после инокуляции клеток LLC наблюдалось торможение роста опухоли на 32,3 %. Двукратные внутривенные инъекции доксорубина в кумулятивной дозе 8 мг/кг сопровождалось торможением роста опухоли на 49,5 %, а совместное назначение ТС-13 и доксорубина – на 55,4 %. При микроскопическом исследовании первичных опухолевых узлов обнаружено, что монотерапия ТС-13 и совместное применение с доксорубином сопровождалось уменьшением объема зон деструктивных изменений (некроз, отек и кровоизлияния), меньшим полиморфизмом клеточного состава и отсутствием воспалительной инфильтрации в подлежащих мышечных тканях, а также преобладанием альтернативно активированных макрофагов (выявлено путем иммуногистохимического исследования с применением антител к индуцибельной NO-синтазе и аргиназе 1). В пользу последнего также свидетельствует тот факт, что применение ТС-13, в отличие от доксорубина, ингибировало генерацию оксида азота перитонеальными макрофагами. Таким образом, в настоящей работе обнаружено, что ТС-13 не только сам по себе угнетает опухолевый рост, но и усиливает действие доксорубина; его эффект, как и других редокс-активных соединений, не ограничивается сигнальной системой Keap1/Nrf2/ARE. Результаты показывают перспективность изучения ТС-13 для борьбы с химиорезистентностью опухолей.

Ключевые слова: активированные кислородные метаболиты, перевиваемая карцинома легких Льюис, серосодержащий фенольный антиоксидант ТС-13, система Keap1/Nrf2/ARE.

ANTITUMOR EFFECT OF THE ORIGINAL MONOPHENOL INDUCER OF KEAP1/NRF2/ARE SIGNALING SYSTEM

V.S. Pavlov, A.S. Mezhevalova, A.E. Serykh, L.P. Romakh, A.V. Kovner, P.M. Kozhin

Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

Abstract

The role of reactive oxygen and nitrogen species (RONS) and endogenous defense mechanisms against oxidative damage, primarily redox-sensitive signaling system of the antioxidant-responsive element Keap1/Nrf2/ARE, is extremely ambiguous and can change sign depending on the stage of the process, type and location of the neoplasm. In the present study, the effect of novel synthetic phenolic antioxidant 3-(3'-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl) propylthiosulfonate sodium (TS-13) on tumor growth and the oncolytic effect of doxorubicin was studied in experimental model of transplantable tumor (Lewis lung carcinoma, LLC) in mice. On day 21 following LLC cell inoculation, tumor growth was inhibited by 32.3 % in mice that received TS-13 with drinking water (100 mg/kg). Two intraperitoneal injections of doxorubicin in a cumulative dose of 8 mg/kg body weight and co-administration of TS-13 and doxorubicin were associated with tumor growth inhibition by 49.5 % and 55.4 %, respectively. Microscopic examination of primary tumor nodes revealed that TS-13 as a single agent or in combination with doxorubicin decreased the volume of zones of destructive changes (necrosis, edema and hemorrhage), reduced polymorphism of the cell composition and abolished inflammatory infiltration in the underlying muscle tissues, as well as increased the content of alternatively activated macrophages (detected by immunohistochemical studies using antibodies to inducible NO synthase and arginase 1). The latter is also supported by the fact that the use of TS-13, in contrast to doxorubicin, inhibited nitric oxide generation by peritoneal macrophages. In summary, the study found that TS-13 itself inhibits tumor growth and increases the effect doxorubicin; its effect, like that of other redox active compounds, is not limited to Keap1/Nrf2/ARE pathway. These data provide a basis for exploring TS-13 as a potential pharmaceutical for overcoming tumor chemoresistance.

Key words: reactive oxygen and nitrogen species, transplantable Lewis lung carcinoma, sulfur-containing phenolic antioxidant TS-13, Keap1/Nrf2/ARE pathway.

Активные формы кислорода (АФК) и азота являются важными внутриклеточными мессенджерами, которые регулируют факторы транскрипции, протеинкиназы, клеточную пролиферацию и дифференцировку, а также могут индуцировать апоптоз и некроз. В различных типах опухолевых клеток выявляется повышенный уровень образования АФК, активирующих механизмы выживания клеток в условиях гипоксии и обеспечивающих

устойчивость к химиотерапии [1]. Гиперпродукция АФК сопровождается активацией эндогенных механизмов защиты от окислительных повреждений, к которым, прежде всего, относится редокс-чувствительная сигнальная система антиоксидант-респонсивного элемента Keap1/Nrf2/ARE, контролирующая широкий спектр антиоксидантных ферментов, уровень внутриклеточного глутатиона и механизмов детоксикации ксенобиотиков; среди ее активаторов выделяют фенольные соединения [2]. Эпидемиологические исследования выявляют обратную связь между потреблением богатых фенольными антиоксидантами продуктов и риском развития рака, однако многочисленные попытки снизить заболеваемость злокачественными новообразованиями антиоксидантными витаминами не привели к заметным успехам [3], неоднозначна и роль фенольных антиоксидантов в лечении онкологических больных – снижая пролиферативную активность опухолевых клеток и формирование метастазов, они вместе с тем повышают устойчивость клеток к стрессовым воздействиям и химиотерапии [4]. Система Keap1/Nrf2/ARE также играет двойственную роль: выполняя протективную функцию на начальных стадиях опухолевого роста (инициации), на поздних стадиях избыточная экспрессия Nrf2 раковыми клетками помогает им адаптироваться и защищаться от атак хозяина-опухоленосителя [2].

Ранее на культурах опухолевых клеток нами показано, что водорастворимый серосодержащий фенольный антиоксидант 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)-пропилтиосульфат натрия (ТС-13) снижает их пролиферативную активность, при этом повышая чувствительность к доксорубину (Dox); обнаруженные эффекты ТС-13 могут быть связаны с его способностью индуцировать систему Keap1/Nrf2/ARE [5]. С целью подтверждения противоопухолевого эффекта ТС-13 *in vivo* мы провели исследование влияния данного соединения на рост перевиваемой карциномы легких Льюис у мышей.

Материал и методы

ТС-13 синтезирован в НИИ химии антиоксидантов (г. Новосибирск) [5]. Применялся противоопухолевый препарат сравнения Dox («Pfizer»). В качестве экспериментальной модели злокачественного роста использована карцинома легких Льюис (LLC). Исследование выполнено на 50 самках мышей линии C57Bl/6 в возрасте двух месяцев, которые были разделены на 5 групп: группа 1 (контроль), группа 2 (LLC), группа 3 (LLC + Dox), группа 4 (LLC + ТС-13) и группа 5 (LLC + Dox + ТС-13). Взвесь клеток LLC имплантировали мышам внутримышечно в верхнюю треть бедра в дозе 2×10^5 клеток/мышь. Dox вводили двукратно внутривентрально в дозе 4 мг/кг массы тела на 7-й и 14-й день развития опухоли ($4/5 LD_{50}$; кумулятивная доза 8 мг/кг). ТС-13 (100 мг/кг массы тела) начинали давать мышам с питьевой водой за 14 дней до инокуляции клеток и продолжали до конца эксперимента. На 21-й день развития опухоли животных выводили из эксперимента, опухоль извлекали и взвешивали; торможение роста опухоли вычисляли по формуле $TPO = (M_k - M_o) / M_k \times 100 \%$, где M_k и M_o – медианы массы опухоли в группах контроля и опыта соответственно. Образцы первичных опухолевых узлов животных подвергали стандартной гистологической обработке, окрашивали гематоксилином и эозином, а также проводили иммуногистохимическое исследование с первичными антителами к индуцибельной NO-синтазе (iNOS) (1:200, «Abcam») и аргиназе 1 (1:100, «Merck KGaA») по стандартной методике безбиотиновой окраски. Результаты представлены в виде медианы и межквартильных интервалов, для оценки межгрупповых различий использовали критерий Данна.

Результаты

У всех животных экспериментальных групп 2–5 в месте имплантации суспензии клеток развивались опухолевые узлы карциномы Льюиса. Мыши группы 3 (LLC + Dox), существенно теряли в весе (рис. 1), монофенол ТС-13 нивелировал кахектический эффект Dox, что подтверждается статистически значимо большей величиной массы тела за вычетом массы опухоли в группе 5 по сравнению с группой 3 (рис. 1). У животных из группы 5 макроскопически визуализируемые зоны деструкции и кровоизлияний в узле опухоли были меньше по сравнению с животными из остальных групп. ТС-13 существенно тормозил рост опухоли (группа 4), что проявлялось в снижении ее абсолютной и относительной массы по сравнению с позитивным контролем (группа 2). Эффект не только был сравнимым с действием Dox (группа 3), но и синергичным. Также назначение ТС-13 существенным образом влияло на генерацию оксида азота перитонеальными макрофагами: если у животных группы 2 она была значимо повышена относительно интактного контроля и введение доксорубина не отменяло данный эффект (группа 3), то способность макрофагов мышей группы 4 синтезировать NO^* была такой же, как клеток группы контроля, и статистически значимо меньше, чем в группе 2 (рис. 1).

При микроскопическом исследовании первичных опухолевых узлов у мышей групп 2 и 3 визуализировалась схожая морфологическая картина: большое скопление полиморфных и атипичных клеток, зоны деструкции представлены отеком, некрозом и кровоизлияниями. В то же время, если клеток в митозе было одинаково много, их размеры у животных группы 3 (лечение доксорубином) были меньше, чем у мышей группы 2. У животных, получавших ТС-13 (группы 4 и 5), отмечался значительный онкостатический эффект, что проявлялось в уменьшении объема зон деструктивных изменений (некроз, отек и кровоизлияния), меньшим полиморфизмом клеточного состава и отсутствием воспалительной инфильтрации в подлежащих мышечных тканях. При сравнительном анализе количества макрофагов, активированных по классическому или альтернативному пути (позитивная окраска на iNOS и аргиназу 1 соответственно), выявлено преобладание последних в группах 4 и 5, что наряду с приведёнными выше данными подтверждает способность ТС-13 в данной экспериментальной модели способствовать поляризации макрофагов по M2-типу. Данный факт был достаточно неожиданным (на моделях гранулематозного воспаления *in vitro* и *in vivo* ТС-13 усиливал генерацию NO[•] и повышал экспрессию iNOS [6]) и неоднозначным (формирование микроокружения с преобладающим содержанием M2-макрофагов способствует поддержанию благоприятных условий для развития опухоли [7]).

Заключение

В настоящей работе обнаружено, что ТС-13 не только сам по себе угнетает опухолевый рост, но и усиливает действие доксорубина. Эффект редокс-активных соединений, в том числе фенолов, не ограничивается сигнальной системой Keap1/Nrf2/ARE, распространяясь на многие другие факторы транскрипции и онкорегуляторы, что делает актуальным дальнейшие исследования в этом направлении, а также разработку теоретических концепций взаимодействия различных редокс-чувствительных сигнальных систем и их роли в развитии опухолевых процессов.

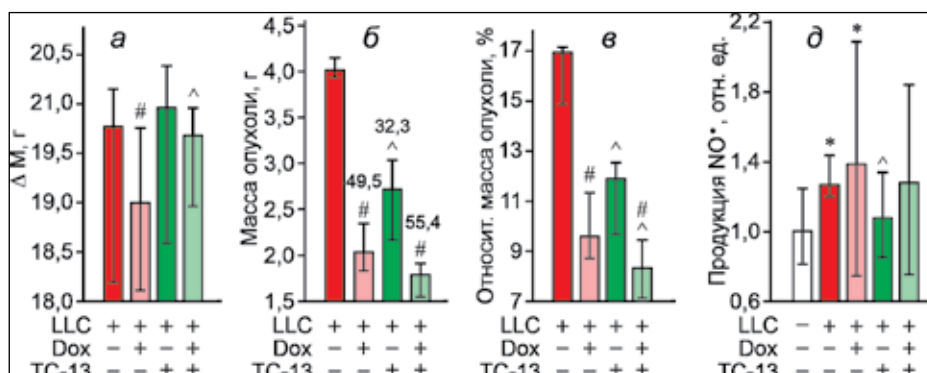


Рис. 1. Изменение относительной массы тела мышей, массы опухоли и продукции NO[•]. ΔM – масса тела за вычетом массы опухоли; * p<0.05 по сравнению с контролем; # p<0.05 по сравнению с животными, не леченными Dox, ^ p<0.05 по сравнению с животными, не получавшими

ЛИТЕРАТУРА

1. Aggarwal V., Tuli H.S., Varol A., Thakral F., Yerer M.B., Sak K., Varol M., Jain A., Khan M.A., Sethi G. Role of reactive oxygen species in cancer progression: molecular mechanisms and recent advancements. *Biomolecules*. 2019 Nov 13; 9(11): pii: E735. doi: 10.3390/biom9110735.
2. Robledinos-Anton N., Fernandez-Gines R., Manda G., Cuadrado A. Activators and inhibitors of Nrf2: A review of their potential for clinical development. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 Jul 14; 2019: 9372182. doi: 10.1155/2019/9372182.
3. Abbaszadeh H., Keikhaei B., Mottaghi S. A review of molecular mechanisms involved in anticancer and antiangiogenic effects of natural polyphenolic compounds. *Phytother Res*. 2019 Aug; 33(8): 2002–2014. doi: 10.1002/ptr.6403.
4. Russo G.L., Tedesco I., Spagnuolo C., Russo M. Antioxidant polyphenols in cancer treatment: Friend, foe or foil? *Semin Cancer Biol*. 2017 Oct; 46: 1–13. doi: 10.1016/j.semcancer.2017.05.005.
5. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Кандалинцева Н.В., Олейник А.С., Просенко А.Е., Гусаченко О.Н., Шкляева О.А., Вавилин В.А., Ляхович В.В. Антиоксидантные и противовоспалительные свойства новых водорастворимых серосодержащих фенольных соединений. *Биохимия*. 2007; 72(6): 790–798.
6. Kozhin P., Zenkov N., Kandalintseva N., Menshchikova E. Water-soluble phenolic antioxidant TS-13 enhances nitric oxide generation in *in vitro* and *in vivo* models of tuberculous granulomatous inflammation. *Free Radic. Biol. Med*. 2019; 145(Suppl. 1): S146.
7. Капитанова К.С., Науменко В.А., Гаранина А.С., Мельников П.А., Абакумов М.А., Алиева И.Б. Перспективы использования наночастиц для репрограммирования опухолевых макрофагов в иммунотерапии злокачественных новообразований. *Биохимия*. 2019; 84(7): 934–952.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ ГЕНА *BRCA1* У БОЛЬНЫХ ЛЮМИНАЛЬНЫМ В РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ПРОЛЕЧЕННЫХ ПРЕПАРАТАМИ ПЛАТИНЫ

А.М. Певзнер^{1,2}, И.А. Цыденова^{1,2}, М.К. Ибрагимова², М.М. Цыганов²

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия¹
Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

Герминальные мутации *BRCA1* в 45 % случаев повышают риск развития РМЖ, однако только в 10 % случаев обуславливают развитие наследственного рака молочной железы. Наши предыдущие исследования показали, что дефицит гена *BRCA1*, обусловленного такими изменениями, как низкая экспрессия, наличие потери гетерозиготности или делеции, связан с эффектом химиотерапии и прогнозом заболевания. Таким образом, **целью данной работы** явилось изучение различных мутаций генов *BRCA1* у пациентов до и после терапии препаратами платины и оценка связи с прогнозом заболевания и эффектом химиотерапии. **Материал и методы.** В исследование было включено 14 больных с люминальным В РМЖ. Секвенирование проводилось на приборе MiSeq™ Sequencing System (Illumina, USA) с помощью панели «Accel-Amplicon *BRCA1*, *BRCA2*, and *PALB2* Panel» (Swift Biosciences, USA). Обработка данных проводилась с помощью пайплайна GATK, аннотация с помощью инструмента ANNOVAR. **Результаты.** Были выявлены 18 ранее не описанных мутаций кодирующих областей гена *BRCA1*. Самое высокое число мутаций наблюдалось у пациентов с полной регрессией опухоли и резкое снижение изменений в гене в процессе проведения ХТ. Во всех трех группах пациентов наблюдались фазированные инсерции c.2471_2472insTTGGG, c.2470_2471insTTCCGATCTTAGTCC, c.1920_1921insTGCTCTTCCGATCTTCTGATCA.

Ключевые слова: секвенирование, рак молочной железы, мутации, CNA, инделы.

STUDY OF SOMATIC MUTATIONS OF THE *BRCA1* GENE IN PATIENT WITH LUMINAL B BREAST CANCER TREATED PLATINUM DRUG

А.М. Pevzner^{1,2}, I.A. Tsydenova^{1,2}, M.K. Ibragimova², M.M. Tsyganov²

The National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia¹
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia²

Abstract

BRCA1 germline mutations in 45 % of cases increase the risk of breast cancer, however, only in 10 % of cases they can be a cause the development of hereditary breast cancer. Our previous studies have shown that the deficiency of the *BRCA1* gene caused by changes such as low expression, the presence of a loss of heterozygosity or deletion, is associated with the effect of chemotherapy and the prognosis of the disease. Thus, the **aim of this work** was to study various mutations of the *BRCA1* genes in patients before and after treatment with platinum drugs, and to assess the relationship with the prognosis of the disease and the effect of chemotherapy. **Material and Methods.** 14 patients with luminal B breast cancer were included in the study. Sequencing was performed on a MiSeq™ Sequencing System (Illumina, USA) using the Accel-Amplicon *BRCA1*, *BRCA2*, and *PALB2* Panel (Swift Biosciences, USA). Data processing was carried out using the GATK pipeline, annotation using the ANNOVAR tool. **Results.** 18 previously undescribed mutations in the coding regions of the *BRCA1* gene were identified. The highest number of mutations was observed in patients with complete tumor regression and a sharp decrease in gene changes during NAC. In all three groups of patients, phased insertions c.2471_2472insTTGGG, c.2470_2471insTTCCGATCTTAGTCC, c.1920_1921insTGCTCTTCCGATCTTCTGATCA were observed.

Key word: sequencing, breast cancer, mutations, CAN, indels.

Актуальность

Гены *BRCA1/2* являются классическими опухолевыми супрессорами, играют важную роль в восстановлении и репарации ДНК, участвуют в контроле клеточного цикла, поддержании целостности генома и репрессируют транскрипционную активность эстрогена – сдерживают чрезмерную пролиферативную активность клеток молочной железы. Более 25 лет назад было показано, что герминальная мутация *BRCA1* 5382insC в 20-м экзоне сопряжена с высоким риском развития рака молочной железы (PMЖ) и рака яичника [1]. Пациенты, имеющие данную мутацию, обладают высокой чувствительностью к препаратам платины [2].

Однако 5382insC лишь в 10 % случаев обуславливает развитие PMЖ [3]. В предыдущих наших исследованиях было установлено, что дефицит гена *BRCA1* (не обусловленного герминальной мутацией), а именно низкая экспрессия, наличие потери гетерозиготности или делеции, связан с эффектом химиотерапии и прогнозом заболевания. В частности, было показано, что при делеции *BRCA1* пациенты особенно чувствительны к препаратам платины [4]. В этой связи представляется важным более подробное изучение данной группы больных для выявления дополнительных маркеров эффективности лечения.

Материал и методы

В исследование было включено 14 больных с люминальным В PMЖ IIА–IIIВ стадии, с морфологически верифицированным диагнозом, в возрасте 35–61 года. Все больные получали 6 курсов неoadъювантной химиотерапии по схеме СР (циклофосфан, цисплатин). После этого пациентам проводилась операция, затем 2 курса адъювантной химиотерапии, лучевая терапия и/или гормональное лечение назначались по показаниям. Материалом для исследования служили биопсийные опухолевые образцы (объемом ~10 мм³), полученные под контролем УЗИ и операционные образцы после НХТ (объемом ~30–90 мм³). ДНК выделяли с помощью набора QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). Секвенирование проводилось на приборе MiSeq™ Sequencing System (Illumina, USA) с помощью панели «Accel-Amplicon *BRCA1*, *BRCA2*, and *PALB2* Panel» (Swift Biosciences, USA). Подготовка библиотек опухолевой ДНК и ДНК крови пациента (в качестве контроля герминальных мутаций) производилась при помощи набора «Swift Normalase KIT» (Swift Biosciences, USA). Процесс включает в себя фрагментирование ДНК до 300–500 нуклеотидных пар, лигирование адаптеров (синтезированные олигонуклеотиды с известной последовательностью) с концами фрагментов и амплификацию полученных библиотек. Амплификация основана на методе мостиковой ПЦР и формировании кластеров на проточной ячейке (Berglund et al., 2011; Quail et al., 2012). Обработка данных проводилась с помощью пайплайна GATK, генетические варианты, обнаруженные в образцах опухолевой ткани молочной железы, аннотировали с помощью инструмента ANNOVAR.

Результаты

При помощи панели «Accel-Amplicon *BRCA1*, *BRCA2*, and *PALB2* Panel» был проанализирован опухолевый материал до и после лечения от 14 пациентов на наличие различных соматических мутаций. Сравнение с ДНК из крови здорового человека показало отсутствие герминальных мутаций во всех образцах.

Анализ кодирующих областей гена *BRCA1* в общей группе больных выявил в общей сложности 19 инделов, охватывающих с 3 по 22 экзоны и в основном сосредоточенных вокруг 12 и 13 экзонов. Почти все обнаруженные мутации не были ранее описаны в литературе, кроме с.5182A>T, которая является миссенс мутацией. Было обнаружено 9 делеций и 6 инсерций frameshift и 4 инсерции nonframeshift. Все мутации имеют невыявленное клиническое значение (таблица).

При исследовании связи эффекта химиотерапии со статусом гена было показано, что у пациентов с полной регрессией произошла почти полная элиминация мутаций относительно пациентов с частичной регрессией или стабилизацией заболевания, у которых произошло значительное увеличение (рис. 1). Стоит отметить, что в процессе НХТ у пациентов в группе со стабилизацией появилась ранее описанная мутация с.5182A>T. Во всех трех группах у пациентов до лечения наблюдались продолжительные фазированные инсерции с.2471_2472insTTGGG, с.2470_2471insTTCCGATCTTAGTCC, с.1920_1921insTGCTCTTCCGATCTTCTGATCA, которые были элиминированы только у пациентов с полной регрессией опухоли.

Выводы

Таким образом, были выявлены 18 ранее не описанных мутаций кодирующих областей гена *BRCA1*. Самое высокое число мутаций наблюдалось у пациентов с полной регрессией опухоли и резкое снижение изменений в гене в процессе проведения НХТ. Во всех

трех группах пациентов наблюдались фазированные инсерции с.2471_2472insTTGGG, с.2470_2471insTTCCGATCTTAGTCC, с.1920_1921insTGCTCTTCCGATCTTCTGATCA.

Исследования выполнены при поддержке гранта РФФИ № 19-75-00027.

Таблица

Новые варианты мутаций, обнаруженные у пациентов

frameshift deletion	frameshift insertion	nonframeshift insertion
c.5437delC	c.416_417insCTGTATATCTCTGGCA	c.4402_4403insTGTGTGATGT
c.5041delA	c.4432_4433insGG	c.4321_4322insTACGAAACACCC
c.4440_4441del	c.2471_2472insTTGGG	c.2471_2472insCTTGGG
c.4420_4430del	c.2471_2472insTGAT	c.2470_2471insTTCCGATCTTAGTCC
c.4407_4416del	c.1920_1921insTGCTCTTCCGATCTTCTGATCA	
c.4400delC	c.416_417insCTGTATATCTCTGGCA	
c.1920delG		
c.62delT		
c.53delA		



Рис. 1. Связь соматического статуса гена *BRCA1* с эффектом химиотерапии

ЛИТЕРАТУРА

1. Simard J., Tonin P., Durocher F., Morgan K., Rommens J., Gingras S., Samson C., Leblanc J.F., Bélanger C., Dion F. Common origins of *BRCA1* mutations in Canadian breast and ovarian cancer families. *Nature genetics*. 1994; 8(4): 392–398.
2. Byrski T., Huzarski T., Dent R., Marczyk E., Jasiowka M., Gronwald J., Jakubowicz J., Cybulski C., Wisniowski R., Godlewski D., Lubinski J., Narod S.A. Pathologic complete response to neoadjuvant cisplatin in *BRCA1*-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2014 Sep; 147(2): 401–5. doi: 10.1007/s10549-014-3100-x.
3. Семиглазов В.Ф., Бит-савва Е.М., Соколенко А.П., Имянитов Е.Н. Клинические и генетические аспекты наследственного рака молочной железы. *Медицинский академический журнал*. 2006; 6(1): 95–102.
4. Цыганов М.М., Тарабановская Н.А., Дерюшева И.В., Ибрагимова М.К., Казанцева П.В., Певзнер А.М., Слонимская Е.М., Литвяков Н.В. Ответ на неoadъювантную химиотерапию с включением препаратов платины у больной раком молочной железы с делецией гена *BRCA1* в опухоли. *Сибирский онкологический журнал*. 2019; 18(3): 103–108. doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-103-108.

СВЯЗЬ УРОВНЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ С ЛИМФОГЕННЫМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ У БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Д.С. Письменный^{1,2}, Л.А. Таширева¹, Е.О. Родионов¹, М.В. Завьялова^{1,2},
О.Е. Савельева¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Прогрессирование опухоли неразрывно связано с развитием хронического воспаления. На основе определения концентрации провоспалительных цитокинов и воспалительных индексов, характеризующих провоспалительный статус пациента, можно оценить потенции к формированию преметастатической ниши и прогнозировать риск возникновения метастазов. В исследование включен 31 пациент с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). Параметры воспалительного статуса у пациентов НМРЛ, как и их корреляции с концентрацией провоспалительных цитокинов в крови, различаются в группах с НАХТ и без таковой. Развития ЛМ ассоциировано с уменьшением уровня цитокина IL-1b, увеличением IL-6 и хемокина IL-8 у пациентов, получавших НАХТ.

Ключевые слова: провоспалительные цитокины, воспаление, лимфогенные метастазы, немелкоклеточный рак легкого.

THE RELATIONSHIP OF THE PROINFLAMMATORY CYTOKINE LEVELS WITH LYMPHOGENIC METASTASIS IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER

D.S. Pismenny^{1,2}, L.A. Tashireva¹, E.O. Rodionov¹, O.E. Savelieva¹

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

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

Abstract

Tumor progression is inextricably linked to the development of chronic inflammation. Based on the determination of the concentration of proinflammatory cytokines and inflammatory indices characterizing the proinflammatory status of the patient, one can assess the potency to the formation of a prestatistical niche and predict the risk of metastases. The study included 31 patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). The parameters of the inflammatory status in patients with NSCLC, as well as their correlations with the concentration of proinflammatory cytokines in the blood differ in groups with and without NACT. The development of LM is associated with a decrease in the level of IL-1b cytokine, an increase in IL-6, and IL-8 chemokine in the patients treated with NACT.

Key word: proinflammatory cytokines, inflammation, lymphogenous metastases, non-small cell lung cancer.

Актуальность

Прогрессирование опухоли неразрывно связано с развитием хронического воспаления [1]. Выраженность хронического воспаления зависит от соотношения и функциональных особенностей субпопуляций лейкоцитов, которые являются источниками того или иного типа цитокинов [2]. Согласно концепции Д. Лайдена, цитокины участвуют в образовании преметастатической ниши – совокупности клеточного и молекулярного микроокружения, благоприятного для развития отдаленных метастазов [3–5]. В преметастатическую нишу гематогенным путем рекрутируются опухолевые клетки-«семена». С помощью локализованных в нише цитокинов, хемокинов и факторов роста создается проангиогенное микроокружение [6], перепрограммируются незлокачественные стромальные клетки [7] и регулируется миграция в нишу клеток-предшественников [8], что способствует развитию метастазирования и защите злокачественных клеток от апоптоза [9]. Предшественником преметастатической ниши может являться прениша – очаг персистирующего хронического воспаления [10]. В связи с этим на основе оценки в крови пациентов уровня провоспалительных цитокинов, включая хемокины и факторы роста, можно оценить потенции к формированию преметастатической ниши и впоследствии метастаза.

Целью исследования явилась оценка уровня провоспалительных цитокинов у больных немелкоклеточным раком лёгкого и его связи с лимфогенным (ЛМ) метастазированием.

Материал и методы

В исследование был включен 31 пациент с немелкоклеточным раком легкого (T1–3N0–3M0) – 24 мужчины и 7 женщин, в возрасте 68,21±4,39 лет, – находившийся на лечении в торако-абдоминальном отделении НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2016 по

2018 г. Оценка экспрессии провоспалительных цитокинов (IL-1b, IL-33, IL-6, TNFa), хемокинов (IL-8, CXCL12/SDF-1, CCL2) и фактора роста (VEGFA) в периферической крови производилась с помощью мультиплексного метода xMAP. Забор крови осуществляли до оперативного этапа лечения. Оценка воспалительных индексов проводилась ранее [11]. Для статистической оценки полученных данных был использован пакет прикладных программ SPSS Statistics 17.0.

Результаты

Корреляционная взаимосвязь между провоспалительными цитокинами и воспалительными индексами. Используя корреляционный анализ, была обнаружена связь между воспалительными индексами, с одной стороны, и провоспалительными цитокинами, с другой стороны (таблица).

Характер данных связей различен между группами пациентов. В группе пациентов без ЛМ и без НАХТ отмечается стойкая прямая взаимосвязь ($R=0,7$) индекса PLR с провоспалительным цитокином IL-33 ($p=0,01$) и фактором роста VEGF ($p=0,04$). В группе пациентов с НАХТ независимо от наличия ЛМ имеется обратная взаимосвязь между хемокином CCL2 и провоспалительными индексами NLR ($p=0,08$ и $p=0,02$) и PLR ($p=0,08$ и $p=0,07$). В группе пациентов с ЛМ без НАХТ обнаружена отрицательная связь ($R=-0,5$) между цитокином IL-1b и индексом LMR ($p=0,04$).

Связь уровня провоспалительных цитокинов с лимфогенными метастазами у пациентов с НМРЛ. Сравнение параметров провоспалительных цитокинов, включая хемокины и факторы роста, в группе пациентов без НАХТ не выявило достоверных различий (рис. 1).

У больных НМРЛ с лимфогенными метастазами, получавших НАХТ, отмечалась тенденция к увеличению экспрессии хемокина IL-8 ($p=0,07$). Стоит отметить, что среди провоспалительных цитокинов статистически значимо снижался уровень IL-1b ($p=0,04$) и возрастал IL-6 ($p=0,05$) (рис. 1) по сравнению с больными без метастазов в лимфатических узлах.

Выводы

Параметры воспалительного статуса у пациентов НМРЛ, как и их корреляции с концентрацией провоспалительных цитокинов в крови, различаются в группах с НАХТ и без таковой. Развитие ЛМ ассоциировано с уменьшением уровня цитокина IL-1b, увеличением IL-6 и хемокина IL-8 у пациентов, получавших НАХТ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации, НШ-2701.2020.7.

Таблица

Корреляционная связь между пациентами в зависимости от наличия или отсутствия лимфогенных метастазов

Пациенты без ЛМ Без НАХТ		Пациенты без ЛМ С НАХТ		Пациенты с ЛМ Без НАХТ		Пациенты с ЛМ С НАХТ	
IL-33	$p=0,01$	CCL2	$p=0,08$	IL-1b	$p=0,04$	TNFa	$p=0,08$
PLR	$R=0,7$	NLR	$R=-0,9$	LMR	$R=-0,5$	PLR	$R=0,6$
VEGF	$p=0,04$	CCL2	$p=0,08$			CCL2	$p=0,02$
PLR	$R=0,07$	PLR	$R=-0,9$			NLR	$R=-0,7$
		CCL2	$p=0,08$			CCL2	$p=0,07$
		SII	$R=-0,9$			SII	$R=-0,6$

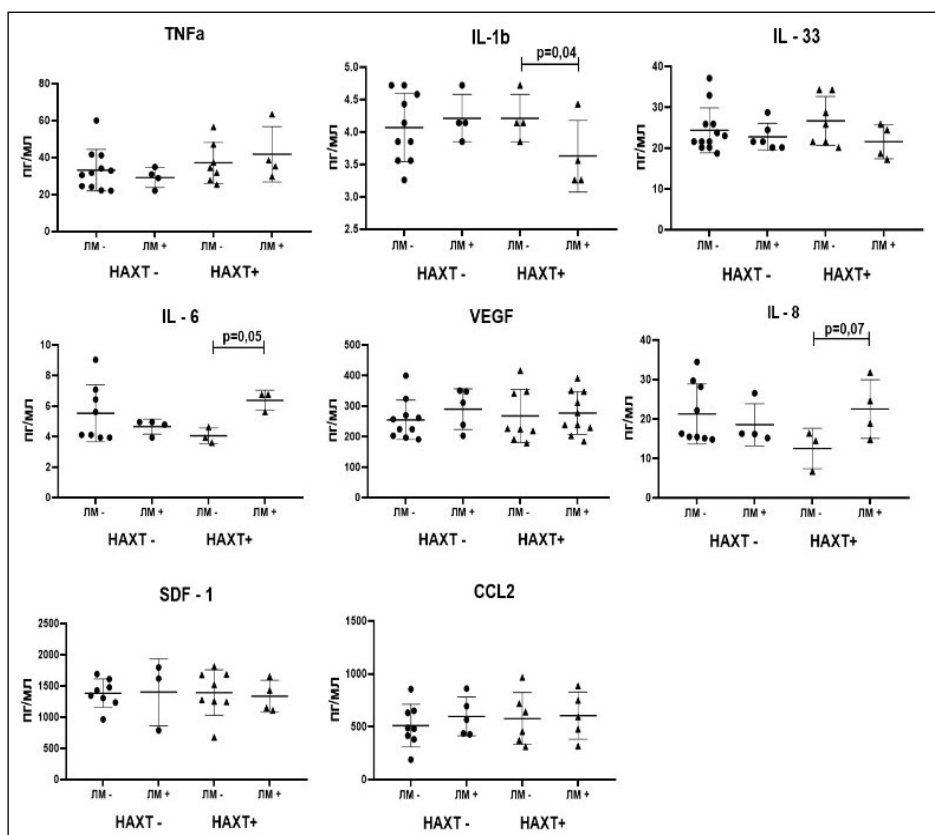


Рис. 1. Концентрация провоспалительных цитокинов, включая хемокины и факторы роста в крови пациентов с НМРП в зависимости от наличия лимфогенных метастазов

ЛИТЕРАТУРА

1. Coussens L.M., Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002 Dec 19; 420(6917): 860–7.
2. Gottschlich A., Endres S., Kobold S. Can we use interleukin-1 β blockade for lung cancer treatment? *Transl Lung Cancer Res*. 2018 Apr; 7(Suppl 2): S160–S164. doi: 10.21037/tlcr.2018.03.15.
3. Kidane D., Chae W.J., Czocho J., Eckert K.A., Glazer P.M., Bothwell M., Sweasy B. Interplay between DNA repair and inflammation, and the link to cancer. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2014 Mar-Apr; 49(2): 116–39. doi: 10.3109/10409238.2013.875514.
4. Kaplan R.N., Riba R.D., Zacharoulis S., Bramley A.H., Vincent L., Costa C., MacDonald D.D., Jin D.K., Shido K., Kerns S.A., Zhu Z., Hicklin D., Wu Y., Port J.L., Altorki N., Port E.R., Ruggero D., Shmelkov S.V., Jensen K.K., Rafii S., Lyden D. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature*. 2005; 438(7069): 820. doi: 10.1038/nature04186.
5. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Cancer Metastasis Rev*. 1989; 98–101.
6. Saharinen P., Eklund L., Pulkki K., Bono P., Alitalo K. VEGF and angiopoietin signaling in tumor angiogenesis and metastasis. *Trends Mol Med*. 2011 Jul; 17(7): 347–62. doi: 10.1016/j.molmed.2011.01.015.
7. Scherz-Shouval R., Santagata S., Mendillo M.L., Sholl L.M., Ben-Aharon I., Beck A.H., Lindquist S. The reprogramming of tumor stroma by HSF1 is a potent enabler of malignancy. *Cell*. 2014 Jul 31; 158(3): 564–78. doi: 10.1016/j.cell.2014.05.045.
8. Feng J., Wei X., Li C., Guo M., Peng M., Song Q., Han G. Mechanism of EGFR Over-expression and Mutations Leading to Biological Characteristics Changes of Human Lung Adenocarcinoma Cells through CXCR4/CXCL12 Signaling Pathway. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*. 2018 Jul 20; 21(7): 503–512. doi: 10.3779/j.issn.1009-3419.2018.07.01.
9. Burger J.A., Tsukada N., Burger M., Zvaifler N.J., Dell'Aquila M., Kipps T.J. Blood-derived nurse-like cells protect chronic lymphocytic leukemia B cells from spontaneous apoptosis through stromal cell-derived factor-1. *Blood*. 2000; 96(8): 2655–2663.
10. Perelmuter V.M., Mansikh V.N. The Concept of a Pre-niche for Localization of Future Metastases. *Tumors of the Central Nervous System*. Volume 13. Springer, Dordrecht, 2014. 93106.
11. Писменный Д. С., Таширева Л.А., Родионов Е.О., Завьялова М.В., Савельева О.Е. Связь параметров провоспалительного статуса с лимфогенным метастазированием у больных немелкоклеточным раком легкого. *Фундаментальная и клиническая онкология: достижения и перспективы развития*. 2019; 176–180.

ОЦЕНКА ПРОДУКЦИИ ПРО-/ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И ХЕМОКИНОВ КЛЕТКАМИ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В ТРЕХМЕРНОЙ СИСТЕМЕ

Е.А. Просекина, А.И. Кузнецова, Д.В. Гирдюк, М.Л. Блохина, Н.П. Пипиа

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Создание трехмерных клеточных моделей способствует изучению особенностей опухолевого микроокружения, более адекватной оценке терапевтического воздействия на малигнизированные клетки, что позволяет улучшить прогностическую ценность доклинических исследований и способствовать прогрессу эффективной лекарственной терапии злокачественных новообразований. В этом исследовании были получены 3D-модели (сфероиды) из клеток солидных опухолей пациентов, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, и произведена количественная оценка продукции опухолевыми клетками про-/противовоспалительных цитокинов (IL-10, MIF, MICA) и хемокинов (MCP-1/CCL2 и MIP-1a/CCL3, SCYB16/CXCL16, Gro-a/CXCL1). Было обнаружено, что злокачественные клетки, культивируемые в 3D-формате, имели более выраженный секреторный профиль цитокинов и хемокинов по сравнению с монослойными культурами. Полученные данные могут быть использованы для интерпретации взаимодействия опухоли и клеток иммунной системы больных солидными злокачественными новообразованиями.

Ключевые слова: опухолевые сфероиды, цитокины, хемокины, IL-10, MIF, MICA, CCL2, CCL3, CXCL16, CXCL1.

ASSESSMENT OF THE PRO-/ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES AND CHEMOKINES PRODUCTION BY HUMAN SOLID TUMORS CELLS CULTURED IN A THREE-DIMENSIONAL SYSTEM

E.A. Prosekina, A.I. Kuznecova, D.V. Girdyuk, M.L. Blokhina, N.P. Pipia

«N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology» Ministry of Healthcare of Russian Federation, Saint-Peterburg, Russia

Abstract

Creation of three-dimensional cell models contributes to the study of the characteristics of tumor microenvironment and allows more accurately assessment of the therapeutic effect on malignant cells, thereby improving prognostic value of preclinical studies and contributing to the progress in drug therapy for cancer. In this study, 3D-models (spheroids) were obtained from the solid tumors cells of patients undergoing treatment at the N.N. Petrov Research Oncology Center. The production of pro-/anti-inflammatory cytokines (IL-10, MIF, MICA) and chemokines (MCP-1/CCL2 and MIP-1a/CCL3, SCYB16/CXCL16, Gro-a/CXCL1) by tumor cells was quantified. It was found that malignant cells cultured in 3D format had a higher secretory profile of cytokines and chemokines compared to monolayer cultures. The data obtained can be used to interpret the interaction between tumor and immune system cells of patients with solid malignant neoplasms.

Key words: tumor spheroids, cytokines, chemokines, IL-10, MIF, MICA, CCL2, CCL3, CXCL16, CXCL1.

Актуальность

Доклинические модели *in vitro* до недавнего времени были в основном представлены опухолевыми клеточными линиями, культивируемыми в 2D-формате (монослой). Несмотря на то, что благодаря этим моделям была получена важная информация о свойствах потенциальных противоопухолевых агентов на ранних стадиях разработки и испытания лекарств, они не могли корректно воспроизвести градиенты питательных веществ и кислорода, возникающие в опухоли, а также предсказать проникновение и распределение препаратов в опухолевой ткани, наблюдаемые в естественных условиях [1]. Поэтому для изучения приобретенной лекарственной устойчивости малигнизированных клеток, процессов инвазии и метастазирования, взаимодействия опухолевых клеток со стромальными элементами и клетками иммунной системы всё чаще используют 3D-модели. Такие модели сохраняют важнейшие характеристики опухолей, такие как структура, рецепторный состав, секреция растворимых веществ.

Важная составляющая опухолевого микроокружения – определенная концентрация цитокинов и хемокинов, которые способствуют привлечению клеток иммунной системы из периферической крови в опухолевый очаг, развитию воспаления, подавлению цитотоксической активности иммунных клеток. Повышенная секреция подобных факторов опухолевыми клетками коррелирует с плохим прогнозом лечения и подавлением специфического противоопухолевого иммунного ответа [2].

В частности, интерлейкин-10 (IL-10) способствует привлечению и активации регуляторных Т-лимфоцитов (Treg), приобретению дендритными клетками толерогенного фенотипа, подавлению активности CD8⁺-Т-лимфоцитов и NK-клеток [3]. Фактор ингибирования миграции макрофагов (MIF) связывается с CD74 и CXCR2 на моноцитах и макрофагах, что приводит к интегрин-зависимому хемотаксису моноцитов [4].

Передача сигнала по оси CCL2–CCR2 связана с привлечением макрофагов и Treg в опухоль [5], что может способствовать опухолевому прогрессированию. Хемокин CXCL16 влияет на миграцию NKT и незрелых лимфоидных клеток [4]. CXCL1 вовлечен в процессы Т-клеточной инфильтрации, подавления цитотоксической активности CD8⁺-Т-лимфоцитов, а также инфильтрации опухолевого очага макрофагами и приобретения ими M2-фенотипа [4].

Взаимодействие лиганда MICA на опухолевых клетках с рецептором NKG2D на NK-клетках приводит к активации натуральных киллеров с последующей элиминацией опухолевых клеток. Однако для большинства опухолей характерна гиперпродукция этого лиганда с последующим “слушиванием” стресс-индуцированных молекул MICA с поверхности малигнизированных клеток, что приводит после взаимодействия NK-клеток с такой растворимой формой молекулы к потере их эффекторных функций [6].

Таким образом, возникает потребность в создании трёхмерных моделей для исследования продукции про-/противоопухолевых факторов, способных вызывать мобилизацию клеток иммунной системы, их анергию, а также изменять характеристики опухолевых клеток, увеличивая пролиферативные и инвазивные свойства.

Цель исследования – провести сравнительную оценку продукции иммуносупрессивных цитокинов и хемокинов клетками солидных опухолей, культивируемых в 2D- и 3D-системах.

Материал и методы

В исследовании были использованы 18 культур опухолевых клеток: меланомы кожи (8), рака легкого (1), рака почки (1), рака молочной железы (2), рака толстой кишки (1), леймиосаркомы (1), остеосаркомы (1), миксофибросаркомы (2), рабдомиосаркомы (1), полученных из операционного материала пациентов и криоконсервированных в биобанке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

Клетки культивировали в монослое (2D-формат) и в виде сфероидов (3D-формат), полученных методом «висячей капли» в стандартных условиях при 37 °C, 5 % CO₂, 100 % влажности с использованием среды DMEM/F-12, содержащей 20 % эмбриональной сыворотки плодов крупного рогатого скота и глутамин. Забор кондиционированной среды осуществлялся через 7 дней. Уровень цитокинов (IL-10, MIF) и хемокинов (MCP-1/CCL2 и MIP-1a/CCL3, SCYB16/CXCL16, Gro-α/CXCL1), продуцируемых монослойными культурами и опухолевыми сфероидами, определяли с помощью мультиплексного анализатора Bio-Plex® 200 (Bio-Rad, США). MICA выявляли методом ИФА в «сэндвич»-варианте с использованием набора DuoSet ELISA Kit (R&D Systems, США).

Было проанализировано 18 образцов супернатантов для 2D-культур и 18 образцов для сфероидов, исследование проводилось в «дублях». Для анализа использовали критерий Уилкоксона для связанных выборок. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Систематизацию, статистический анализ и визуализацию данных проводили с помощью R v. 3.6.2.

Результаты

Концентрация исследуемых цитокинов и хемокинов в супернатантах опухолевых клеток зависела от гистотипа культуры и увеличивалась после культивирования в 3D-формате во всех случаях (рис. 1).

Наблюдали статистически значимое увеличение продукции IL-10 в 3D-культуре по сравнению с монослоем: медиана 116,71 (7,70–649,19) пг/мл и 17,32 (минимум 1,42 – максимум 107,39) пг/мл соответственно ($p = 0,00006$).

Также выявлено значимое увеличение уровня CCL2 в кондиционированной среде сфероидов: 1707,16 (150,74–6316,80) пг/мл, в то время как в супернатанте монослойных культур концентрация составила 848,8 (4,90–1973,08) пг/мл; $p = 0,04126$. Показано статистически значимое различие концентрации хемокина CCL3: 1,82 (0,11–20,24) пг/мл по сравнению с 3,88 (1,10–1230,28) пг/мл в монослое и опухолях соответственно ($p = 0,00427$).

Секреция MIF также статистически значимо изменялась в зависимости от условий культивирования: 33,54 (3,084 – 82,662) пг/мл в 2D культурах до 62,053 (37,649 – 175,306) пг/мл в сфероидах ($p = 0,00855$).

Опухолевые клетки, растущие в монослойной культуре, продуцировали меньше CXCL: 16 (2,55 (0,14–374,17) пг/мл по сравнению с клетками в составе опухоидов: 9,04 (2,0–408,62) пг/мл; $p=0,00427$.

Концентрация CXCL1 в супернатантах 2D-культур опухолевых клеток составляла 523,72 (12,42 – 18347,05) пг/мл, в то время как опухоиды продуцировали большее количество этого хемокина: 200,49 (0–10622,54) пг/мл; $p=0,01050$.

Наблюдали статистически значимое увеличение продукции MICA в 3D-культуре: 363,56 (57,68 – 3537,50) пг/мл по сравнению с монослоем: 90,20 (15,63–1818,50) пг/мл; $p=0,000008$.

Выводы

Созданы индивидуальные трехмерные модели из клеток солидных опухолей пациентов, в которых воспроизведены ключевые характеристики опухолевого микроокружения.

Показано, что в 3D-формате опухолевые клетки характеризуются более выраженной секреторной активностью в отношении целого спектра иммуносупрессивных факторов и факторов, обеспечивающих их подвижность.

В перспективных исследованиях сфероиды (тумороиды) могут быть использованы в качестве индивидуальной предиктивной тест-системы, оценивающей функциональные характеристики клеток опухоли и иммунной системы больных злокачественными новообразованиями.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ №18–29–09014.

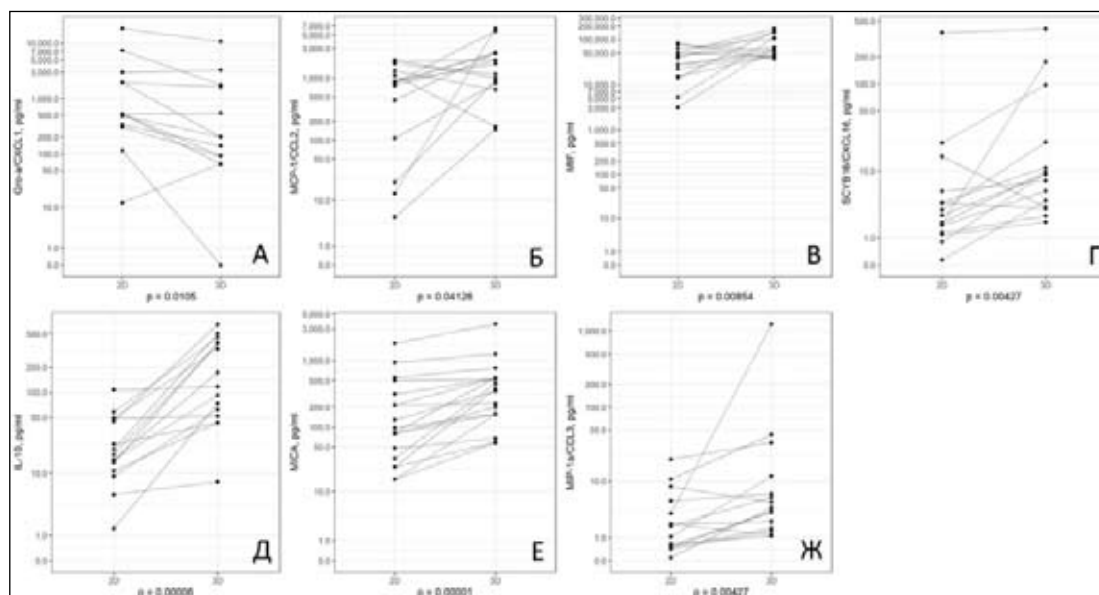


Рис. 1. Графическое изображение индивидуальных различий в продукции про/противовоспалительных цитокинов и хемокинов клетками солидных опухолей, культивируемых в системах 2D и 3D:

А – содержание хемокина Gro-a/CXCL1 в супернатантах монослойных культур и опухоидов; Б – хемокина MCP-1/CCL2; В – фактора ингибирования миграции макрофагов (MIF); Г – хемокина SCYB16/CXCL16; Д – цитокина IL-10; Е – лиганда активационного рецептора NKG2D цитотоксических Е-лимфоцитов и NK-клеток (MICA); Ж – хемокина MIP-1a/CCL3

Примечание: По оси абсцисс – условия культивирования, по оси ординат – концентрация исследуемого вещества в супернатантах культур опухолевых клеток, пг/мл

ЛИТЕРАТУРА

- Horvath P., Aulner N., Bickle M., Davies A.M., Nery E.D., Ebner D., Montoya M.C., Östling P., Pietiäinen V., Price L.S., Shorte S.L., Turcatti G., von Schantz C., Carragher N.O. Screening out irrelevant cell-based models of disease. *Nat Rev Drug Discov.* 2016 Nov; 15(11): 751–769. doi: 10.1038/nrd.2016.175.
- Noy R., Pollard J.W. Tumor-Associated Macrophages: From Mechanisms to Therapy. *Immunity.* 2014; 41(1): 49–61.
- Belli C., Trapani D., Viale G., D'Amico P., Duso B.A., Della Vigna P., Orsi F., Curigliano G. Targeting the microenvironment in solid tumors. *Cancer Treat Rev.* 2018 Apr; 65: 22–32. doi: 10.1016/j.ctrv.2018.02.004.
- Liu Z.Y., Zheng M., Li Y.M., Fan X.Y., Wang J.C., Li Z.C., Yang H.J., Yu J.M., Cui J., Jiang J.L., Tang J., Chen Z.N. RIP3 promotes colitis-associated colorectal cancer by controlling tumor cell proliferation and CXCL1-induced immune suppression. *Theranostics.* 2019 Jun 2; 9(12): 3659–3673. doi: 10.7150/thno.32126.
- Qian B.Z., Li J., Zhang H., Kitamura T., Zhang J., Campion L.R., Kaiser E.A., Snyder L.A., Pollard J.W. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast-tumour metastasis. *Nature.* 2011 Jun 8; 475(7355): 222–5. doi: 10.1038/nature10138.
- Carbone E., Neri P., Mesuraca M., Fulciniti M.T., Otsuki T., Pende D., Groh V., Spies T., Pollio G., Cosman D., Catalano L., Tassone P., Rotoli B., Venuta S. HLA class I, NKG2D, and natural cytotoxicity receptors regulate multiple myeloma cell recognition by natural killer cells. *Blood.* 2005; 105(1): 251–258.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КРОВОТОКА НА ТЕПЛООТВЕДЕНИЕ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ТЕРМОМЕТРИИ СЕАНСОВ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ В СТАТИЧНЫХ ТКАНЕЭКВИВАЛЕНТНЫХ ФАНТОМАХ

А.С. Разумова¹, А.А. Булавская¹, О.В. Грибова², И.А. Милойчикова^{1,2}, Т.А. Седельникова¹, Ж.А. Старцева², С.Г. Стучебров¹, Н.Д. Тургунова^{1,2}, Ю.М. Черепенников¹

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия¹
Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

Сочетание локальной гипертермии с лучевой терапией является одним из перспективных направлений лечения онкологических заболеваний. Для контроля уровня нагрева широко применяются статические тканеэквивалентные фантомы на базе агарового геля. Однако в таких фантомах отсутствуют естественные механизмы регуляции теплообмена, связанные с кровотоком. Данная работа посвящена оценке влияния потока крови на тепловую дозу при проведении сеанса локальной гипертермии. Показана связь между локальной температурой биологических тканей и их удельной скоростью поглощения энергии, принимая во внимание электрические свойства тканей и скорость потока крови.

Ключевые слова: локальная гипертермия, термометрия, тканеэквивалентный фантом, удельная скорость поглощения энергии.

BLOOD CIRCULATION INFLUENCE ON HEAT DISSIPATION IN THERMAL MEASUREMENTS IN STATIC TISSUE EQUIVALENT PHANTOM DURING LOCAL HYPERTHERMIA SESSIONS

A.S. Razumova¹, A.A. Bulavskaya¹, O.V. Gribova², I.A. Miloichikova^{1,2}, T.A. Sedelnikova¹, Zh.A. Startseva², S.G. Stuchebrov¹, N.D. Turgunova^{1,2}, Yu.M. Cherepennikov¹

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia¹
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

Combination of local hyperthermia and radiotherapy is one of prospective approaches for cancer treatment. Static tissue-equivalent phantom based on agar gel application are widely used for heating control. However, these phantoms do not provide simulation of natural processes of heat transfer caused by blood circulation. In this work, we investigate how blood circulation affects thermal dose of the in local hyperthermia session. The connection between local temperature of biological tissues and specific absorption rate, accounting electrical properties of tissues and blood circulation rate, is demonstrated.

Key words: local hyperthermia, thermal measurements, tissue equivalent phantom, specific absorption rate.

Актуальность

Лечение онкологических заболеваний является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины [1]. Лечение таких заболеваний основано на мультимодальном подходе и включает, в различной последовательности, лучевую терапию, хирургическое вмешательство и химиотерапию [2]. С целью снижения побочных воздействий и повышения эффективности лечения применяется гипертермический метод [3]. Метод локальной гипертермии основан на предполагаемом усилении опухолевого кровотока при нагреве, что улучшает перфузию и оксигенацию опухоли и, следовательно, позволяет повысить эффект

лучевой терапии и химиотерапии [4]. При проведении сеансов локальной гипертермии необходимо выполнять контроль с целью поддержания температуры в необходимом диапазоне 40–43°C. Данная температура является достаточной для достижения терапевтических целей радио- и химиосенсибилизации [3, 4]. Прямая инвазивная термометрия позволяет контролировать нагрев в реальном времени. Однако на практике не всегда удается ввести термодатчик в нужный участок опухоли, кроме того, дополнительные механические повреждения могут привести к нежелательным последствиям [5]. Поэтому актуальным является применение фантомов – эквивалентов человеческого тела – для проведения подобных измерений. Такие фантомы изготавливаются на базе агарового геля [6]. Биоеквивалентный фантом является статичным, и в нем отсутствуют механизмы регулирования температуры [5, 6]. Известно, что в тканях живого организма кровеносные сосуды выполняют функцию теплоотвода, т.е. при нагреве тканей температура рассеивается и можно ожидать сильного падения уровня нагрева [7]. Именно поэтому одной из самых важных задач термометрии с использованием фантомов является учет кровотока при изменении температуры ткани при локальном нагреве.

Цель исследования – изучение метода учета влияния кровотока на теплоотведение при проведении термометрии сеансов локальной гипертермии в статичных тканеэквивалентных фантомах.

Материал и методы

При проведении термометрии в область нагрева помещаются датчики, которые позволяют определить уровень нагрева и удельную скорость поглощения энергии [5, 8]. Данные параметры можно использовать при оценке термометрических измерений сеансов локальной гипертермии в фантомах с учетом охлаждения за счет кровотока [5, 8, 9].

Результаты

Из литературных источников известно, что удельная скорость поглощения энергии (SAR) описывается выражением

$$SAR \left[\frac{\dot{A} \hat{o}}{\hat{e} \hat{a}} \right] = \frac{P}{m} = c \frac{\Delta T}{\Delta t} \left[\frac{^{\circ}C}{c} \right], \quad (1)$$

где P – мощность, m – масса нагреваемого объекта, c – удельная теплоемкость, ΔT – прирост температуры за каждые 5 мин, Δt – время нагрева [8, 9].

Для определения влияния кровотока на уровень нагрева необходимо принять во внимание уравнение теплопередачи Пенна, которое описывает распределение нагрева в живых тканях:

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} + c_b \rho_b w_b(T) (T - T_b) = \nabla^2 T + SAR \cdot S(T) + q_0 1, l^{(T-36.6)}, \quad (2)$$

где ρ – массовая плотность ткани, c – удельная теплоемкость ткани, T – температура ткани, t – время нагрева, c_b – удельная теплоемкость крови, ρ_b – плотность крови, w_b – скорость потока крови, T_b – температура крови, λ – коэффициент теплопроводности ткани, SAR – удельная скорость поглощения энергии, q_0 характеризует базальную скорость метаболизма, $S(T)$ – увеличение SAR за счет изменения температуры. Температура тела в покое принята 36,6°C [8].

В стационарном случае $\frac{\partial T}{\partial t} = 0$ и $\nabla^2 T = 0$. Мы также пренебрегаем изменениями $S(T)$

и скоростью метаболизма в зависимости от нагрева.

С учетом кровотока получаем связь между локальной температурой и удельной скоростью поглощения энергии. Принимая во внимание электрические свойства тканей и скорость потока крови, получаем

$$\Delta T = (T - T_b) = \frac{SAR}{c_b \rho_b w_b(T)}, \quad (2)$$

где T – температура ткани, T_b – температура крови, SAR – удельная скорость поглощения энергии, c_b – удельная теплоемкость, ρ_b – плотность, w_b – скорость потока крови [8, 9].

По данным, представленным в работе [10], были определены коэффициенты c_b , ρ_b , w_b для различных биологических тканей.

Подставив данные из таблицы в уравнение (3), получаем связь между локальной температурой и удельной скоростью поглощения энергии для жировой ткани: $\Delta T = 0,87 \cdot SAR$ и для мышечной – $\Delta T = 1,07 \cdot SAR$.

Выводы

В работе показана связь между локальной температурой и удельной скоростью поглощения энергии в таких биологических тканях, как жировая и мышечная, с учетом их электрических свойств и скорости потока крови. Таким образом, вышеописанный подход позволяет проводить корректную оценку уровня нагрева в статичном тканезквивалентном фантоме при проведении термометрии сеансов локальной гипертермии с учетом влияния кровотока. Результаты работы найдут свое применение при разработке новых методик лечения и проведении процедур гарантии качества сеансов локальной гипертермии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-79-10014).

Таблица

Плотность, удельная теплоемкость и скорость потока крови для биологических тканей

Ткань	Плотность, $\frac{\text{г}}{\text{см}^3}$	Удельная теплоемкость, $\frac{\text{Дж}}{\text{г} \cdot ^\circ\text{C}}$	Скорость потока крови, $\frac{\text{мл}}{\text{мин} \cdot 100\text{г}}$
Жир	0,91	2,3	3,3
Мышцы	1,0	3,5	1,6

ЛИТЕРАТУРА

1. Khan F.M., Gibbons J.P. Khan's the physics of radiation therapy. Lippincott Williams & Wilkins. 2014. 572.
2. Чойнзонов Е.Л., Грибова О.В., Старцева Ж.А., Рябова А.И., Новиков В.А., Мусабаева Л.И., Полежаева И.С. Современный подход к химиолучевой терапии злокачественных глиом головного мозга. Бюллетень сибирской медицины. 2014; 13(3): 119–125.
3. Hurwitz M., Stauffer P. Hyperthermia, radiation and chemotherapy: the role of heat in multidisciplinary cancer care. Semin Oncol. 2014 Dec; 41(6): 714–29. doi: 10.1053/j.seminoncol.2014.09.014.
4. Mahdavi S.R., Yahyapour R., Nikoofar A. Cytotoxic effects of hyperthermia, chemotherapy (Navelbine) and radiation on glioma spheroids. Radiation Physics and Chemistry. 2016; 123: 20–24.
5. 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.; Atzelsberg Research Group; European Society for Hyperthermic Oncology. Guideline for the clinical application, documentation and analysis of clinical studies for regional deep hyperthermia. Strahlentherapie und Onkologie. 2012; 188(2): 198–211.
6. 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., Черепеников Ю.М., Стучебров С.Г. Измерение температурного поля в фантоме головного мозга с имитацией глиобластомы при транскраниальной высокочастотной гипертермии. Медицинская техника. 2017; 5: 34–37.
7. Ruano M.G., Duarte H.S. Time-spatial ultrasound induced temperature evaluation on perfused phantoms. The International Conference on Health Informatics. Springer, Cham, 2014. 88–91.
8. Szasz O., Szasz A. Heating, efficacy and dose of local hyperthermia. Open Journal of Biophysics. 2016; 6(1): 10–18.
9. Szasz O., Sziget G., Szasz A. Connections between the specific absorption rate and the local temperature. Open Journal of Biophysics. 2016; 6(03): 53.
10. Patterson J., Strang R. The role of blood flow in hyperthermia. International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics. 1979; 5(2): 235–241.

АНТИТЕЛА ПРОТИВ ЭСТРАДИОЛА И ПРОГЕСТЕРОНА У ЖЕНЩИН С ГОРМОН-НЕЗАВИСИМЫМИ ОПУХОЛЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.И. Рогозин

Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН, г. Кемерово, Россия

Аннотация

Трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ) относится к гормон-независимым опухолям, отличающимся высокой агрессивностью, ранним метастазированием и наихудшим прогнозом. Известно, что стероидные гормоны являются промоторами канцерогенеза молочной железы. В немногочисленных работах показана взаимосвязь иммунного ответа на низкомолекулярные химические канцерогены и стероидные гормоны с раком легкого у мужчин и раком молочной железы. **Цель работы** – изучить особенности иммунного ответа на стероидные гормоны, эстрадиол (Эс) и прогестерон (Пг), у больных с гормон-независимыми опухолями молочной железы. Исследовали антитела класса А и G, специфичные к эстрадиолу и прогестерону (IgA-Эс, IgA-Пг, IgG-Эс, IgG-Пг), у 171 женщины с трижды негативным раком молочной железы (ТНРМЖ) и у 195 здоровых женщин в постменопаузе с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа. Установлено, что у больных ТНРМЖ средний уровень IgA и IgG антител

к Эс в 1,4 раза выше, чем у здоровых женщин. Одновременное присутствие повышенных уровней IgA-Эс (>2) на фоне низких уровней IgA-Пг (≤ 2) ассоциировано с высоким риском возникновения ТНРМЖ (OR=4,8, 95 %CI 2,4–9,7). Комбинация высоких IgG АТ к Эс и Пг также чаще встречалась у больных ТНРМЖ по сравнению со здоровыми женщинами и была ассоциирована с риском возникновения РМЖ (OR=2,6, 95 %CI 1,7–4,2). Однако высокие уровни АТ к Пг (IgA или IgG) в комбинации с низкими уровнями АТ к Эс (IgA или IgG) оказались протективными и не ассоциированы с ТНРМЖ (OR=0,3). Таким образом, иммуноанализ антител против стероидных гормонов может иметь диагностическое значение в определении индивидуальных рисков возникновения гормон-независимых опухолей молочной железы и выявлении злокачественных новообразований на ранних стадиях.

Ключевые слова: антитела, эстрадиол, прогестерон, трижды негативный рак молочной железы.

ANTIBODIES AGAINST ESTRADIOL AND PROGESTERONE IN WOMEN WITH HORMONE-INDEPENDENT BREAST CANCER

A.I. Rogozin

Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry SB RAS, Kemerovo, Russia

Abstract

Triple-negative breast cancer (TNBC) refers to hormone-independent tumors characterized by high aggressiveness, early metastasis and the worst prognosis. Steroid hormones are known to be promoters of breast carcinogenesis. A few studies have shown the relationship of the immune response to low molecular weight chemical carcinogens and steroid hormones with lung cancer in men and breast cancer. The purpose of this work is to study the characteristics of the immune response to steroid hormones, estradiol (Es) and progesterone (Pg), in patients with hormone-independent breast cancer. Class A and G antibodies specific for estradiol and progesterone (IgA-Es, IgA-Pg, IgG-Es, IgG-Pg) were studied in 171 women with triple-negative breast cancer (TNBC) and in 195 healthy postmenopausal women with using non-competitive enzyme immunoassay. It was found that in patients with TNBC the average level of IgA and IgG antibodies to Es is 1.4 times higher than in healthy women. The simultaneous presence of elevated levels of IgA-Es (> 2) and low levels of IgA-Pg (≤ 2) is associated with a high risk of TNBC (OR = 4.8, 95 % CI 2.4–9.7). The combination of high IgG antibodies to Es and Pg was also more common in TNBC patients compared with healthy women and was associated with a risk of breast cancer (OR = 2.6, 95 % CI 1.7–4.2). However, high levels of antibodies to Pg (IgA or IgG) in combination with low levels of antibodies to Es (IgA or IgG) were protective and were not associated with TNBC (OR=0.3). Thus, the immunoassay of antibodies against steroid hormones can have diagnostic value in determining the individual risks of hormone-independent breast cancer and in the detection of malignant neoplasms in the early stages.

Key words: antibodies, estradiol, progesterone, triple negative breast cancer.

Трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ) относится к гормон-независимым опухолям, отличающимся высокой агрессивностью, ранним метастазированием и наихудшим прогнозом. Выявляется этот подтип опухоли в достаточно раннем возрасте (40–55 лет) у 10–24 % пациенток [1]. Известно, что важную роль в канцерогенезе молочной железы играют стероидные гормоны [2], а также аддукты стероидов с макромолекулами организма (ДНК, белками). В ряде работ [3, 4] было показано, что эстрогеновые аддукты с ДНК присутствуют в ткани молочной железы и в сыворотке крови у женщин с высоким риском развития рака молочной железы (РМЖ) и у больных РМЖ. С другой стороны, в немногочисленных работах [5–7] выявлена взаимосвязь иммунного ответа на низкомолекулярные химические канцерогены и стероидные гормоны с раком легкого у мужчин и раком молочной железы.

Цель работы – изучить особенности образования антител (АТ) против стероидных гормонов, эстрадиола (Эс) и прогестерона (Пг), у больных с гормон-независимыми опухолями молочной железы.

Материал и методы

Нами были обследованы 366 женщин в постменопаузе. В исследуемую группу была включена 171 женщина с диагнозом инфильтрирующая карцинома молочной железы, которые поступили на лечение в Областной клинический онкологический диспансер г. Кемерово. Диагноз РМЖ в каждом случае был подтвержден морфологически. У большинства женщин была выявлена I и II стадии заболевания (28,7 и 52,0 %), III и IV стадии составили 17,5 % и

1,8 % соответственно. Информация о рецепторном статусе опухоли у больных ТНРМЖ была взята из протоколов патологоанатомического отделения. Средний возраст больных ТНРМЖ составил $61,7 \pm 8,6$ года. В группу сравнения были включены 195 здоровых женщин без патологии молочной железы (средний возраст – $58,8 \pm 5,9$ года). Забор периферической крови осуществлялся согласно этическим стандартам в соответствии с Хельсинкской декларацией 2000 г. Все лица, участвовавшие в исследовании, дали информированное письменное согласие на участие в нем.

Иммуноанализ IgA и IgG АТ против Эс и Пг проводили с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа, подробная методика описана в работе [8]. Уровни АТ выражались в относительных единицах и рассчитывались по отношению связывания АТ с гаптеном (за вычетом фоновое связывания) к белку-носителю. Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета программ Statistica 8.0, (StatSoftInc., USA). Ненормальный характер распределения количественных показателей определили с помощью критерия Шапиро – Уилка. Различия между группами определяли с помощью U-критерия Манна – Уитни при уровне значимости $p < 0,05$ и непараметрического критерия χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность вариации. Ассоциации АТ к стероидным гормонам с риском РМЖ оценивали на основании показателя отношения шансов (OR) с доверительным интервалом (CI) при 95 % уровне значимости. Для выявления пороговых значений уровней АТ (cut-off) был проведен ROC-анализ [9].

Результаты

В результате исследования было обнаружено, что у больных РМЖ с трижды негативным типом опухоли средний уровень АТ к Эс и Пг в 1,4 раза значимо выше, чем у здоровых женщин (медианы: IgA-Эс 2,6 против 1,8, $p = 0,0001$; IgG-Эс 5,3 против 3,8, $p < 0,0001$ соответственно). По уровню АТ к Пг больные РМЖ не отличались от здоровых женщин ($p > 0,05$). С помощью ROC-анализа были определены значения cut-off для АТ к стероидным гормонам: IgA-Эс=2, IgA-Пг=2, IgG-Эс=5, IgG-Пг=4. Данные представлены в таблице.

Повышенные уровни АТ класса А к Эс статистически значимо чаще выявлялись у больных ТНРМЖ по сравнению со здоровыми женщинами ($p = 0,001$). При этом величина OR составила 2,0 (95 % CI 1,3–3,1). Повышенные уровни АТ класса G (IgG-Эс>5) также чаще встречались у больных ТНРМЖ в отличие от здоровых доноров ($p < 0,0001$). При этом риск возникновения рака возрастает в 2,5 раза (OR=2,5, 95 % CI 1,6–3,8). По уровню IgA и IgG АТ против Пг исследуемые группы не отличались ($p > 0,05$).

Анализ комбинаций АТ к Эс и Пг показал следующее: одновременно повышенные уровни IgA-Эс на фоне низких IgA-Пг чаще встречались у больных ТНРМЖ ($p < 0,0001$), такая комбинация ассоциирована с высоким риском возникновения ТНРМЖ (OR=4,8, 95 % CI 2,4–9,7), а одновременно низкие уровни IgA-Эс и повышенные уровни IgA-Пг чаще встречались у здоровых женщин ($p = 0,003$), такая комбинация не ассоциирована с риском возникновения РМЖ (OR=0,3, 95 % CI 0,1–0,7).

Одновременное присутствие повышенных уровней АТ класса G к Эс и Пг (IgG-Эс>5, IgG-Пг>4) ассоциировано с риском возникновения ТНРМЖ (OR=2,6, 95 % CI 1,7–4,2, $p < 0,0001$). Напротив, высокие уровни IgG-Пг в комбинации с низкими уровнями IgG-Эс оказались протективными (OR=0,3, 95 % CI 0,1–0,6, $p = 0,001$).

Выводы

В результате исследования было установлено, что повышенные уровни АТ к Эс обоих классов ассоциированы с риском возникновения ТНРМЖ. При этом максимальный риск ТНРМЖ выявляется при комбинации высоких IgA-Эс на фоне низких уровней IgA-Пг (OR=4,8). Напротив, высокие уровни АТ к Пг (IgA или IgG) в комбинации с низкими уровнями АТ к Эс (IgA или IgG) оказались протективными и не ассоциированы с ТНРМЖ (OR=0,3). Таким образом, иммуноанализ АТ против стероидных гормонов может иметь диагностическое значение в определении индивидуальных рисков возникновения гормон-независимых опухолей молочной железы и выявлении злокачественных новообразований на ранних стадиях.

Таблица

Частота встречаемости низких и высоких IgA и IgG антител к эстрадиолу и прогестерону (IgA-Эс, IgA-Пр, IgG-Эс, IgG-Пр) у здоровых женщин и больных трижды негативным раком молочной железы (ТНРМЖ)

Антитела	Больные ТНРМЖ n=171 n/%	Здоровые женщины n=195 n/%	χ^2 , (p)	OR (95 %CI)
IgA-Эс ≤ 2 >2	66/38,6 105/61,4	109/55,9 86/44,1	10,2 (0,001)	0,5 (0,3–0,8) 2,0 (1,3–3,1)
IgA-Пр ≤ 2 >2	95/55,6 76/44,4	90/46,2 105/53,8	2,8 (0,09)	
IgG-Эс ≤ 5 >5	80/46,8 91/53,2	134/68,7 61/31,3	17,2 (<0,0001)	0,4 (0,3–0,6) 2,5 (1,6–3,8)
IgG-Пр ≤ 4 >4	94/55,0 77/45,0	124/63,6 71/36,4	2,5 (0,11)	

ЛИТЕРАТУРА

1. Тюлядин С.А., Стенина М.Б., Фролова М.А. Тройной негативный рак молочной железы. Практическая онкология. 2010; 11(4): 247–252.
2. Kaaks R., Rinaldi S., Key T.J., Berrino F., Peeters P.H., Biessy C., Dossus L., Lukanova A., Bingham S., Khaw K.T., Allen N.E., Bueno-de-Mesquita H.B., van Gils C.H., Grobbee D., Boeing H., Lahmann P.H., Nagel G., Chang-Claude J., Clavel-Chapelon F., Fournier A., Thiebaut A., González C.A., Quirós J.R., Tormo M.J., Ardanaz E., Amiano P., Krogh V., Palli D., Panico S., Tumino R., Vineis P., Trichopoulos A., Kalapothaki V., Trichopoulos D., Ferrari P., Norat T., Saracci R., Riboli E. Postmenopausal serum androgens, oestrogens and breast cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Endocr. Relat. Cancer*. 2005; 12(4): 1071–1082.
3. Rogan E.G., Badawi A.F., Devanesan P.D., Meza J.L., Edney J.A., West W.W., Higginbotham S.M., Cavalieri E.L. Relative imbalances in estrogen metabolism and conjugation in breast tissue of women with carcinoma: potential biomarkers of susceptibility to cancer. *Carcinogenesis*. 2003; 24(4): 697–702.
4. Pruthi S., Yang L., Sandhu N.P., Ingle J.N., Beseler C.L., Suman V.J., Cavalieri E.L., Rogan E.G. Evaluation of serum estrogen-DNA adducts as potential biomarkers for breast cancer risk. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2012 Oct; 132(1–2): 73–9. doi: 10.1016/j.jsmb.2012.02.002.
5. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костяно М.В., Титов В.А., Вафин И.А., Рагожина С.Е. Взаимное влияние антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону на риски возникновения рака легкого. *Российский иммунологический журнал*. 2015; 9(18) 3: 343349.
6. Аносова Т.П., Поленок Е.Г., Аносов М.П., Красильникова К.С., Костяно М.В., Вержбицкая Н.Е., Гуров Е.А., Вафин И.А., Рагожина С.Е., Глушков А.Н. Антитела к ксено- и эндобиотикам у больных раком молочной железы. *Известия Самарского научного центра РАН*. 2012; 5(2): 440–443.
7. Chagnaud J.L., Faiderbe S., Geffard M. Identification and immunochemical characterization of IgA in sera of patients with mammary tumors. *Int. J. Cancer*. 1992; 50: 395–401.
8. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костяно М.В., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А. Индивидуальный иммунологический фенотип и риск рака молочной железы у женщин в постменопаузе. *Российский иммунологический журнал*. 2019; 13(22) 1: 46–54.
9. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Caspian J. Intern. Med*. 2013; 4(2): 627–635.

ОПУХОЛЕВЫЙ РОСТ ИЗМЕНЯЕТ ОТВЕТ ТИМОЦИТОВ НА СЕМАФОРИН 3А

К.В. Рутто, И.В. Кудрявцев

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Нейрональный фактор семафорин 3А обладает также и иммунорегуляторными свойствами. Известно, что этот фактор оказывает иммуносупрессорное действие в отношении тимоцитов – подавляет миграцию и адгезию тимоцитов к эпителиальным клеткам тимуса человека. Действие семафорина 3А на адгезию тимоцитов при опухолевом росте не изучалось. **Целью работы** было изучение действия семафорина 3А на адгезию тимоцитов к эпителиальным клеткам тимуса мыши *in vitro* при росте гепатомы 22а. Исследование проводили с использованием линии кортикального сТЕС1–2 эпителия тимуса мыши. Впервые выявлено существенное различие в ответе тимоцитов, полученных от мышей с опухолью, на семафорин 3А по сравнению с тимоцитами, полученными от контрольных мышей. Если у контрольных мышей семафорин 3А в концентрации 100 и 200 нг/мл ингибировал адгезию тимоцитов мыши к клеткам сТЕС1–2, то у мышей с гепатомой 22а семафорин 3А оказывал стимулирующий эффект. Данное различие не связано с изменением экспрессии рецепторов Ngr-1 и PlexA в тимоцитах, что было показано с помощью ОТ-ПЦР и проточной цитометрии.

Ключевые слова: семафорин 3А, PlexA1, нейропиплин-1, эпителиальные клетки, тимус.

TUMOR GROWTH MODIFIES THYMOCYTE RESPONSE TO SEMAPHORIN 3A

K.V. Rutto, I.V. Kudryavtsev

Institute for Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia

Abstract

The neuronal factor semaphorin 3A has also immunoregulatory properties. It is known that this factor has an immunosuppressive effect against thymocytes – it inhibits the migration and thymocyte adhesion to human thymic epithelial cells. The effect of semaphorin 3A on thymocyte adhesion during tumor growth was not studied. The aim of the study was to evaluate the effect of semaphorin 3A on thymocyte adhesion to thymic epithelial cells *in vitro* during the growth of hepatoma 22a. We used murine line cortical thymic epithelial cTEC1–2. Significant difference was found for the first time in the response to semaphorin 3A of thymocytes that were obtained from mice bearing tumors compared to thymocytes obtained from control mice. While semaphorin 3A at concentration of 100 and 200 ng/ml down-regulated adhesion of control thymocytes, adhesion of thymocytes obtained from hepatoma 22a bearing mice was up-regulated. This effect was not associated with any changes in the expression of thymocyte receptors – Nrp-1 and PlexA1 as evaluated with the help RT-PCR and flow cytometry.

Key words: Sema3A, PlexA1, NRP-1, epithelial cells, thymus.

Актуальность

Нейрональный фактор семафорин 3А первоначально был описан в качестве сигнальной молекулы для аксонального наведения. В настоящее время семафорин 3А является одним из основных представителей нового класса молекул «иммунные семафорины» [1]. Показано, что семафорин 3А является негативным регулятором Т-клеточного звена иммунитета и подавляет пролиферативную активность периферических Т-лимфоцитов человека [2]. Важно, что данный фактор также синтезируется и в тимусе человека [3]. Семафорин 3А оказывает ингибирующее действие на миграцию, стимулированную SDF-1 α , и адгезию тимоцитов к эпителиальным клеткам тимуса человека [3]. Однако влияние семафорина 3А на процесс адгезии тимоцитов к клеткам эпителия тимуса при опухолевом росте не изучено. Как известно, опухолевый рост приводит к инволюции тимуса, которая сопровождается снижением тимопоэза и развитием Т-клеточного иммунодефицита. В процессе тимопоэза возникают межклеточные контакты между тимоцитами и эпителиальными клетками. Эти контакты необходимы для осуществления селекции, передачи ростовых и дифференцировочных сигналов [4].

Цель исследования – изучить действие семафорина 3А на адгезию тимоцитов к кортикальным эпителиальным клеткам тимуса мыши *in vitro* при росте гепатомы 22а.

Материал и методы

Клеточная линия. В работе использовали линию клеток кортикального cTEC1–2 эпителия тимуса мыши, любезно предоставленную в наше распоряжение профессором M. Kasai из Токийского университета [5]. Клетки культивировали в среде DMEM (Sigma, США) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, Великобритания), 0,1 мг/мл гентамицина (Биолот, Россия) и 0,6 мг/мл глутамина (Биолот, Россия) во влажной атмосфере при 5 % CO₂ и 37 °C.

Индукция опухолевого роста. Для получения опухолей мышам-самцам линии СЗНА (питомник «Рапполово», Санкт-Петербург) весом 16–18 г. подкожно в область спины инокулировали суспензию клеток гепатомы 22а в количестве 2х10⁵ на мышь; контрольные животные получали равный объем забуференного 0,14М раствора NaCl (pH7,2). Клеточная линия гепатомы 22а (МН-22а/МГ-22а) была получена из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН. Животных умерщвляли путем цервикальной дислокации на 7 и 21-е сут опухолевого роста.

Адгезия тимоцитов к клеткам эпителия тимуса. Адгезию тимоцитов к клеткам эпителия проводили по методу Lepelletier et al. [3] с некоторыми модификациями. К монослою кортикальных эпителиальных клеток добавляли тимоциты и инкубировали в среде DMEM с добавлением 1 % фетальной сыворотки в течение 120 мин в CO₂-инкубаторе в присутствии или отсутствие семафорина 3А в различных концентрациях. Соотношение тимоцитов к

исходному количеству клеток эпителия составляло 3:1. По окончании инкубации неприкрепившиеся тимоциты отмывали с помощью раствора DPBS, содержащего Ca^{2+} и Mg^{2+} и 0,5 % бычьего сывороточного альбумина (Биолот, Россия), а адгезированные клетки отделяли от дна планшета с помощью аккутазы (Sigma, США). Клетки анализировали в световом микроскопе и подсчитывали в камере Горяева, где тимоциты значительно отличались от эпителиальных клеток по размеру и морфологии. Индекс адгезии выражали в процентах и определяли как отношение числа адгезированных тимоцитов к внесенному.

Обратная транскрипция с последующей полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР).

Для оценки уровня экспрессии мРНК PlexA1 и Nrp-1 в тимоцитах мышей использовали полуколичественный метод обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР). Суммарную РНК выделяли одноступенчатым методом с помощью TRI реактива (Sigma, США). Последовательности специфических праймеров и условия проведения ПЦР для оценки экспрессии мРНК PlexA1, Nrp-1 и β -актина были описаны ранее [6]. В качестве гена сравнения использовали β -актин. Визуализацию ПЦР-продуктов осуществляли в 1 % агарозном геле (Sigma, США) с добавлением бромистого этидия (ICN, США) и последующим фотографированием.

Выявление поверхностных маркеров с помощью проточной цитофлуориметрии. Экспрессию Nrp-1 и PlexA1 на поверхности тимоцитов определяли на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США) путём окрашивания клеток козьими антителами против NRP-1 мыши, меченными CFS (FAB566F, R&D Systems, США), а также моноклональными крысиными антителами против PlexA1 мыши, меченными APC (FAB4309A, R&D Systems, США), и соответствующими изотипическими антителами. Для каждого из образцов было проанализировано не менее 25000 одиночных клеток. Обработку данных проводили при помощи программы Kaluza™ v.1.3 (Beckman Coulter, США).

Статистическая обработка. Данные обрабатывали с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты

На первоначальном этапе работы показано, что при 120 мин сроке культивирования семафорин 3А оказывал дозозависимое ингибирующее влияние на адгезию тимоцитов к кортикальным эпителиальным клеткам тимуса мыши, с максимальным эффектом в концентрации 200 нг/мл. Полученные результаты согласуются с данными Lepelletier et al., полученными на клетках человека [3]. Необходимо было проверить, сохраняется ли ингибирующее действие семафорина 3А на адгезию тимоцитов, полученных от животных с опухолями. Оказалось, что при внесении семафорина 3А к тимоцитам, полученным от мышей с опухолью, семафорин 3А в концентрации 200 нг/мл усиливал адгезию на 7 и 21-е сут роста гепатомы 22а, т.е. оказывал противоположный эффект по сравнению с контрольными животными. Так, индекс адгезии на 7-е сут опухолевого роста составил – в контроле $36,26 \pm 1,15$ ($n=3$) и $42,25 \pm 1,45$ ($n=3$) у животных с гепатомой ($p<0,05$); а на 21-е сут – $39,06 \pm 2,51$ ($n=3$) в контроле и $53,8 \pm 4,43$ ($n=3$) у животных с гепатомой ($p<0,05$).

Поскольку было выявлено изменение ответа тимоцитов на семафорин 3А в тесте адгезии при росте опухоли, необходимо было проверить, не связан ли данный эффект с изменением рецепторного аппарата клеток, а именно с изменением экспрессии Nrp-1 и PlexA1.

По данным ОТ-ПЦР наблюдалось усиление экспрессии мРНК Nrp-1 при росте гепатомы 22а. Так, экспрессия мРНК Nrp-1 на 7-е сут опухолевого роста составила – в контроле $1,72 \pm 0,13$ у.е. ($n=9$) и $3,86 \pm 0,88$ у.е. ($n=11$) у животных с гепатомой ($p<0,05$); а на 21-е сут – $1,66 \pm 0,16$ у.е. ($n=12$) в контроле и $2,82 \pm 0,29$ ($n=12$) у животных с гепатомой ($p<0,01$). Однако это не было подтверждено с помощью проточной цитометрии: разницы в мембранной экспрессии Nrp-1 между опытными и контрольными животными не было обнаружено на этих же сроках. На 7-е сут опухолевого роста процент содержания Nrp-1⁺ клеток среди тимоцитов не изменялся ($44,06 \pm 2,99$ в контроле; $48,87 \pm 3,28$ – у мышей с гепатомой 22а, $n=10$); так же как и на 21-е сут опухолевого роста ($59,45 \pm 1,77$ в контроле; $55,24 \pm 3,08$ – у животных с гепатомой 22а, $n=7$).

Таким образом, при росте опухоли, возможно, происходит нарушение процесса трансляции, поэтому, несмотря на усиление экспрессии Nrp-1 на уровне мРНК, его мембранная экспрессия не изменяется.

При исследовании экспрессии мРНК PlexA1 с помощью ОТ-ПЦР не было обнаружено достоверных изменений как на 7-й, так и на 21-й день роста опухоли, что было подтверждено при проведении проточной цитофлуориметрии. Так, на 7-е сут опухолевого роста процент содержания PlexA1⁺ тимоцитов составил $31,8 \pm 12,7$ в контроле и $24,0 \pm 0,9$ у животных с

опухолью ($n=4$); на 21-е сут – $23,73 \pm 4,74$ в контроле и $20,23 \pm 5,62$ у животных с гепатомой ($n=6$).

Однако для проведения сигнала от семафорина 3А в клетку необходимо присутствие на поверхности клетки двух рецепторов одновременно (Nrp-1 и плексина класса А) [7]. Для этого у опытных и контрольных животных исследовали относительное содержание Nrp-1⁺ PlexA1⁺-timoцитов, которое составило 10–16 %. Однако разницы по этому показателю между двумя группами животных также не выявлено как на 7-е, так и на 21-е сут роста опухоли.

Можно предположить, что различие в действии семафорина 3А на адгезию тимоцитов к клеткам эпителия тимуса может быть связано с взаимодействием основного рецепторного комплекса (Nrp-1 и плексина класса А) с адгезионной молекулой L1-CAM (CD171), которая экспрессируется на тимоцитах мыши [8], однако необходимы дополнительные исследования.

Выводы

В данной работе впервые исследована адгезия тимоцитов к эпителиальным клеткам тимуса мыши при росте экспериментальной опухоли. Впервые выявлено существенное различие в ответе тимоцитов, полученных от мышей с опухолью, на семафорин 3А по сравнению с тимоцитами, полученными от контрольных мышей, так как вместо ингибирования адгезии наблюдалось стимулирование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kumanogoh A., Kikutani H. Immune semaphorins: a new area of semaphorin research. *J. Cell Sci.* 2003; 17(116): 3463–3470.
2. Lepelletier Y., Moura I. C., Hadj-Slimane R., Renand A., Fiorentino S., Baude C., Shirvan A., Barzilai A., Hermine O. Immunosuppressive role of semaphorin-3A on T cell proliferation is mediated by inhibition of actin cytoskeleton reorganization. *Eur. J. Immunol.* 2006; 7(36): 1782–1793. doi: 10.1002/eji.200535601.
3. Lepelletier Y., Smaniotto S., Hadj-Slimane R., Villa-Verde D.M. S., Nogueira A.C., Dardenne M., Hermine O., Savino W. Control of human thymocyte migration by neuropilin-1/semaphorin-3A-mediated interaction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Mar 27; 104(13): 5545–50. doi: 10.1073/pnas.0700705104.
4. Abramson J., Anderson G. Thymic epithelial cells. *Annu Rev Immunol.* 2017 Apr 26; 35: 85–118. doi: 10.1146/annurev-immunol-051116-052320.
5. Kasai M., Mizuochi T. Culture and characterization of thymic epithelial cell lines. *Methods Mol. Biol.* 2007; 380: 107–123. doi: 10.1007/978-1-59745-395-0_7.
6. Киселева Е.П., Лямина И.В., Цвиркун С.А., Рутто К.В., Кудрявцев И.В., Людыно В.И. Изучение роли семафорина 3А в тимусе в норме и при опухолевом росте. *Медицинский академический журнал.* 2013; 4(13): 42–48.
7. Takamatsu H., Kumanogoh A. Diverse role for semaphorin – plexin signaling in the immune system. *Trends Immunol.* 2012; 33: 127–135.
8. Kowitz A., Kadmon G., Eckert M., Schirmacher V., Schachner M., Altevogt P. Expression and function of the neural cell adhesion molecule L1 in mouse leukocytes. *Eur. J. Immunol.* 1992; 5(22): 1199–1205. doi: 10.1002/eji.1830220514.

ЭЛЕКТРОННАЯ БАЗА ДАННЫХ ДЕТЕЙ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ С СИСТЕМОЙ ПОДДЕРЖКИ ПРИНЯТИЯ ВРАЧЕБНЫХ РЕШЕНИЙ: НОВАЯ ЭРА ИНФОРМАТИЗАЦИИ

М.Ю. Рыков

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), г. Москва, Россия

Abstract

Во всем мире проблема лечения детей с онкологическими заболеваниями является значимой и актуальной. В Российской Федерации структура заболеваемости детей злокачественными новообразованиями до настоящего времени неизвестна, как неизвестно и точное число первичных пациентов, что объясняется отсутствием единого детского канцер-регистра. С целью повышения достоверности статистических данных и обеспечения преемственности в оказании медицинской помощи как между отдельными этапами, так и между различными медицинскими организациями разработана электронная база данных детей с онкологическими заболеваниями, содержащая систему поддержки принятия врачебных решений (оцифрованные клинические рекомендации).

Ключевые слова: детская онкология, канцер-регистр, система поддержки принятия врачебных решений.

AN ELECTRONIC DATABASE OF CHILDREN WITH CANCER WITH A SUPPORT SYSTEM FOR MEDICAL DECISION-MAKING: A NEW ERA OF INFORMATIZATION.

M.Yu. Rykov

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract

Around the world, the problem of treating children with cancer is significant and relevant. In the Russian Federation, the structure of the incidence of malignant neoplasms in children is still unknown, and the exact number of primary patients is also unknown, which is explained by the lack of a single pediatric cancer register. In order to increase the reliability of statistical data and ensure continuity in the provision of medical care both between separate stages and between different medical organizations, an electronic database of children with oncological diseases has been developed, which contains a medical decision support system (digitalized clinical recommendations).

Key words: paediatric oncology, cancer-register, medical decision support system.

Актуальность. Во всем мире проблема лечения детей с онкологическими заболеваниями является значимой и актуальной [1]. В Российской Федерации структура заболеваемости детей злокачественными новообразованиями до настоящего времени неизвестна, поскольку учет пациентов Федеральной службой государственной статистики осуществляется на основании кодов МКБ-10, основанной на топографо-анатомической локализации опухолей, тогда как в странах Европы и США для этих целей используется специализированная Международная классификация болезней – онкология (МКБ-О), основанная на «Международной гистологической классификации опухолей» Всемирной организации здравоохранения [2]. При этом неизвестно и точное число первичных пациентов, поскольку единый детский канцер-регистр отсутствует. Это подтверждается и существенно более низкой заболеваемостью (13,4 на 100 тыс. 0–17 лет) в Российской Федерации по сравнению с развитыми странами (18–20 на 100 тыс. 0–17 лет). На современном этапе развитие отечественного здравоохранения невозможно без внедрения информационных технологий. Активная цифровизация предполагает не только создание ресурсных баз, направленных на сбор и хранение достоверных статистических данных, но и последующий автоматизированный анализ накопленной информации, обеспечение маршрутизации пациентов, а также преемственности в лечебном процессе [3, 4]. С учетом чрезвычайной сложности и наукоемкости лечения детей с онкологическими заболеваниями, требующего мультидисциплинарного подхода, современные информационные технологии включают, в том числе, систему поддержки принятия врачебных решений, то есть алгоритмы действий врача в зависимости от конкретной клинической ситуации.

Цель исследования – повышение достоверности статистических данных и качества медицинской помощи детям с онкологическими заболеваниями.

Материал и методы

В настоящее время система сбора данных и учета детей с онкологическими заболеваниями характеризуется рядом существенных изъянов, которые блокируют возможности для применения накопленной информации с целью контроля и совершенствования качественных параметров лечебного процесса, научной деятельности: учет и дальнейшее построение аналитических срезов на основании диагнозов по классификации МКБ-10 (которая основана на локализации опухолевого процесса) может иметь существенную ценность с точки зрения страховой медицины, однако для детской онкологии весь комплекс из лечебных мероприятий, научных изысканий, построения прогностических моделей зависит в гораздо большей степени от гистологической картины заболевания; потребителю предоставляются агрегированные показатели, которые можно условно отнести к критериям качества, такие как время, затраченное на установление диагноза, время до начала лечения и т. д. [5] Данной информации категорически недостаточно для того, чтобы обоснованно производить анализ по таким критериям, как достаточность предпринятых системой здравоохра-

нения усилий, доступность современных средств и методов диагностики и лечения; критерии качества оказания медицинской помощи, которые отражены в клинических рекомендациях (протоколах лечения), могут быть изменены в дальнейшем. Недоступность исходных ретроспективных данных не позволяет проверить новые гипотезы и их критерии [6].

С целью преодоления сложившихся дефектов статистических данных необходимо создание базы данных детей с онкологическими заболеваниями. Помимо перечисленного выше, база данных в рамках модели «пациент – региональное отделение детской онкологии – медицинская организация федерального подчинения» позволит решить и другие важные задачи. Рассмотрим преимущества для каждой из сторон, участвующих в лечении пациентов.

Медицинская организация федерального подчинения:

1. Учет пациентов с указанием диагноза, даты первичного обращения к врачу, даты верификации диагноза, катамнестических данных;
2. Анализ полученного ранее (на базе медицинской организации второго уровня) лечения;
3. Анализ критериев оценки качества проведенного лечения;
4. План лечения;
5. Рекомендации по дальнейшему лечению;
6. Информация о доступности коек и количестве пациентов в региональных отделениях детской онкологии.

Региональное отделение детской онкологии:

1. Учет пациентов с указанием диагноза, даты первичного обращения к врачу, даты верификации диагноза, катамнестических данных;
2. Анализ критериев оценки качества проведенного лечения;
3. Возможность запрашивать и получать консультации в научно-исследовательских институтах федерального подчинения;
4. Информация о доступности ресурсов в научно-исследовательских институтах федерального подчинения.

Пациент (законные представители пациента):

1. Доступ к плану лечения, включая график приема лекарственных средств;
2. Доступ к рекомендациям по уходу за пациентом в амбулаторном (домашнем) режиме в соответствии с его диагнозом и состоянием;
3. Возможности дальнейшей маршрутизации.

Также разработана электронная карта Российской Федерации, которая в режиме реального времени отображает для каждого субъекта Российской Федерации следующую информацию: число организаций, оказывающих медицинскую помощь детям с онкологическими заболеваниями в каждом субъекте, число коек, врачей и пациентов в каждой из них.

В процессе оказания плановой медицинской помощи детям с онкологическими заболеваниями та ее часть, которая связана с выполнением лекарственной терапии для конкретного пациента, может быть условно разделена на отдельные этапы, которые могут полностью или частично циклически повторяться. Пример такого разбиения: определение потребности пациента в лекарственных препаратах (ЛП), в том числе в связи и на основе медицинских стандартов и клинических рекомендаций; определение доступности этих ЛП в местных условиях; назначение ЛП; введение ЛП; оценка ответа пациента на терапию.

В современной практике региональной системы здравоохранения эти подпроцессы существуют по отдельности, при этом зачастую не удается отследить их взаимосвязь. В частности, не всегда удается проанализировать, была ли потребность в ЛП удовлетворена как в целом, так и в отношении конкретных пациентов. При этом для одних участников процесса фактом удовлетворения потребности является размещение заказа с учетом планируемых конкретным пациентам доз, для других – получение ЛП пациентами в аптеке, а для третьих – введение ЛП пациенту.

Между тем, в случае предоставления лекарственного обеспечения за счет средств федерального и регионального бюджет аспекты адресности и подтвержденности фактов такой помощи является весьма важным для всех участников системы, в первую очередь для распорядителей соответствующих бюджетов и контролирующих инстанций.

Автоматизируемые системой виды деятельности включают в себя:

- Контроль актуальности определения (вычисления) текущей потребности региона в ЛП, поставляемых за счет федерального и/или регионального бюджетов;

- Прослеживание преемственности между потребностью в ЛП конкретных пациентов и итоговой реализацией этих ЛП, вплоть до введения конкретных единиц первичной упаковки ЛП;
- поддержание соответствия между назначениями ЛП (в том числе дозами) и медицинскими стандартами и клиническими рекомендациями;
- контроль соответствия между объемами и сроками предоставления в размещенных логистических заказах на получение ЛП аптеками и медицинскими организациями (МО) реальной текущей потребности, определенной по назначениям;
- отслеживание фактического получения (в том числе введения, если применимо) пациентами ЛП, назначенных им ранее в рамках запланированных курсов лекарственной терапии, для ЛП, предоставляемых за счет федерального и/или регионального бюджета;
- Поддержание преемственности и обоснование необходимых корректирующих воздействий по факту расхождений между сформулированной в предыдущие периоды перспективной потребностью в ЛП на текущий период и текущей потребностью в этих ЛП;
- Формулирование перспективной потребности на ЛП, поставляемые за счет федерального и/или регионального бюджетов.

Результаты

Программное обеспечение, обладающее названным выше функционалом, с 1 сентября 2017 г. внедрено в клиническую практику онкологического отделения химиотерапии опухолей ГБУЗ АО «Архангельская областная детская клиническая больница им. П.Г. Выжлецова» (Архангельск) и лаборатории комплексных методов лечения онкологических заболеваний у детей ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России (Москва). За 18 мес функционирования (01.09.17 – 01.01.20) в электронную базу данных внесена информация о 318 пациентах с различными ЗНО, в возрасте от 1 мес до 17 лет (средний возраст 5,4 года), из них в базу данных ГБУЗ АО «Архангельская областная детская клиническая больница им. П.Г. Выжлецова» – о 175 пациентах, в базу данных ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России – о 143 пациентах. Анализ заболеваемости детского населения солидными опухолями в 2011–2018 гг. выявил рост данного показателя на 55,3 % (с 4,2 до 9,4 на 100 тыс. 0–17 лет).

Выводы

Это объясняется повышением достоверности статистических данных, достигнутым с помощью внедрения электронной базы данных детей с онкологическими заболеваниями в клиническую практику онкологического отделения химиотерапии опухолей ГБУЗ АО «Архангельская областная детская клиническая больница им. П.Г. Выжлецова». Также электронная база данных позволила исключить «дублирование» пациентов при продолжении ими лечения на базе медицинской организации федерального подчинения. Целесообразно транслировать полученный опыт на онкологию взрослых.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferrari A., Albritton K., Osborn M., Barr R., Johnson R.H., Stark D., Whelan J. Cancer in Adolescents and Young Adults. 2017. P. 509.
2. Automated childhood cancer information system [Internet]. URL: <http://accis.iarc.fr> (cited 15.01.2019).
3. Gupta S., Rivera-Luna R., Ribeiro R.C., Howard S.C. Pediatric oncology as the next global child health priority: the need for national childhood cancer strategies in low- and middle-income countries. PLoS Med. 2014 Jun 17; 11(6): e1001656. doi: 10.1371/journal.pmed.1001656.
4. Gupta S., Rivera-Luna R., Ribeiro R.C., Howard S.C. Pediatric oncology as the next global child health priority: the need for national childhood cancer strategies in low- and middle-income countries. PLoS Med. 2014 Jun 17; 11(6): e1001656. doi: 10.1371/journal.pmed.1001656.
5. Kellie S.J., Howard S.C. Global child health priorities: what role for paediatric oncologists? Eur J Cancer. 2008 Nov; 44(16): 2388–96. doi: 10.1016/j.ejca.2008.07.022.
6. Conklin A., Morris Z., Nolte E. What is the evidence base for public involvement in health-care policy: results of a systematic scoping review. Health Expect. 2015 Apr; 18(2): 153–65. doi: 10.1111/hex.12038.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ МЕТАСТАЗОВ В ГОЛОВНОЙ МОЗГ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С УЧЕТОМ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПОДТИПА

Ж.Е. Сабельникова¹, М.М. Сарычева^{1,2}, Е.Я. Мозерова^{1,2}, А.А. Ложков¹

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины», г. Челябинск, Россия¹

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, Россия²

Аннотация

Цель исследования – определить показатели общей выживаемости (ОВ) в зависимости от вида лучевой терапии, оценить показатели метод-специфической выживаемости в зависимости от биологического подтипа рака молочной железы (РМЖ). В Челябинском областном клиническом центре онкологии и ядерной медицины (ЧОКЦО и ЯМ) в период с 2012 по 2019 г. 60 пациенткам с метастатическим поражением головного мозга при РМЖ была проведена лучевая терапия. Медиана возраста составила 51,7±10,82 года. Преобладали пациентки со II и III стадиями. Среди биологических подтипов чаще встречались HER2 положительный нелюминальный и тройной негативный варианты. Среднее время до прогрессирования составило 30 мес. Облучение всего головного мозга (ОВГМ) было проведено 39 пациенткам. Стереотаксическая фракционная лучевая терапия (СТЛТ) проводилась 21 пациентке. При медиане наблюдения в 61 мес ОВ составила 39 мес вне зависимости от вида лучевой терапии и биологического подтипа РМЖ. Метод-специфическая выживаемость – 10 мес. ОВ после проведения СТЛТ на метастазы в головной мозг была почти в 3 раза выше по сравнению с пациентками, получившими ОВГМ (19 мес против 7 мес соответственно, $p>0,05$). Наилучшие результаты лечения отмечены у пациенток с метастазами в головной мозг люминального В HER2 положительного типа: ОВ составила 17 мес, 1-летняя – 31 %. Самым неблагоприятным в плане ответа на лечение стал тройной негативный рак. Так, медиана ОВ после проведенного лечения не превышала 5 мес, а показатель 1-летней выживаемости составил 11 % ($p>0,05$).

Ключевые слова: стереотаксическая лучевая терапия, рак молочной железы, биологический подтип опухоли, метастазы в головной мозг.

EVALUATION OF THE EFFICACY OF RADIATION THERAPY FOR BREAST CANCER BRAIN METASTASES CONSIDERING A BIOLOGICAL CANCER SUBTYPE

Zh.E. Sabelnikova¹, M.M. Sarycheva^{1,2}, E.Ya. Mozerova^{1,2}, A.A. Lozhkov¹

Chelyabinsk regional clinical center of Oncology and nuclear medicine, Chelyabinsk, Russia¹

South Ural state medical University, Department of Oncology, radiology and radiotherapy, Chelyabinsk, Russia²

Abstract

The aim of the study was to assess the overall survival (OS) rates depending on the type of radiation therapy as well as method-specific survival rates depending on the biological subtype of breast cancer. In the Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine, from 2012 to 2019, 60 patients with brain metastasis of breast cancer were given radiation therapy. The median age was 51.7±10.82 years. Patients with stages II and III prevailed. Among biological subtypes, HER2 positive non-luminal and triple negative variants were the most common. The average time to progression was 30 months. Whole brain irradiation was given to 39 patients. Fractional stereotactic radiation therapy (FSRT) was performed on 21 patients. With a median follow-up of 61 months, overall survival was 39 months, regardless of the type of radiation therapy and biological subtype of breast cancer. Method-specific survival was 10 months. The OS was approximately 3 times higher in patients who received FSRT delivered to brain metastases compared to that observed in patients who received whole brain irradiation (19 months versus 7 months, respectively,

$p > 0.05$). The best treatment results were observed in patients with brain metastases of luminal B HER2 positive type: OS was 17 months, 1-year-old survival rate – 31 %. The most unfavorable in terms of response to treatment was triple negative cancer. Thus, the median OS after the treatment did not exceed 5 months, and the 1-year survival rate was 11 % ($p > 0.05$).

Key words: stereotactic radiation therapy, breast cancer, biological tumor subtype, brain metastases.

Актуальность

В настоящее время частота метастатического поражения головного мозга при раке молочной железы (РМЖ) неуклонно растет [1, 2].

Немаловажную роль, определяющую эффективность лучевого лечения метастатического поражения головного мозга, играет биологический подтип опухоли [3, 4]. Так, в исследовании Miller было показано увеличение медианы ОВ у пациенток с люминальным В HER2 положительным подтипом при проведении лучевой терапии по поводу метастазов рака молочной железы в головной мозг по сравнению с пациентками с тройным негативным подтипом (18,8 мес по сравнению с 8,4 мес соответственно) [5]. Cho et al. в своем исследовании отметили более высокие показатели ОВ у пациенток с HER2 положительным не люминальным подтипом после радиохирургического лечения по сравнению с пациентками с тройным негативным раком [6].

На данный момент, согласно литературным данным, оптимальным методом лечения метастазов в головной мозг рака молочной железы (МГМ РМЖ) является сочетание нейрохирургического удаления метастазов с последующим радиохирургическим лечением. При этом наилучшие результаты лечения достигаются у пациенток с МГМ РМЖ люминального В HER2 положительного подтипа [7].

Материал и методы

С 2012 по 2019 г. на базе ЧОКЦО и ЯМ 60 пациенткам с метастатическим поражением головного мозга при РМЖ (табл. 1) была проведена лучевая терапия. Медиана возраста составила $51,7 \pm 10,82$ года. Преобладали пациентки со II и III стадиями. Среди биологических подтипов чаще встречались HER2 положительный не люминальный и тройной негативный варианты. Среднее время до прогрессирования составило 30 мес. Облучение всего головного мозга было проведено 39 пациенткам. Стереотаксическая фракционная лучевая терапия проводилась 16 пациенткам, радиохирургия – 5, среди них – 4 проводилось радиохирургическое лечение ложа удаленного метастаза (табл. 1).

При оценке результатов лечения мы принимали во внимание наиболее значимые показатели, определяющие эффективность проведенной терапии – медиану общей выживаемости в зависимости от вида лучевой терапии, показатели метод-специфической выживаемости в зависимости от биологического подтипа рака молочной железы. Анализ результатов лечения проведен при помощи программы IBM SPSS Statistics 20.0.

Результаты

При медиане наблюдения в 61 мес общая выживаемость составила 39 мес вне зависимости от вида лучевой терапии и биологического подтипа РМЖ. Однолетняя ОВ составила 87,2 %, 2-летняя – 71 %, 3-летняя – 52 %.

Метод-специфическая выживаемость составила 10 мес. Показатели 1-летней, 2-летней и 3-летней выживаемости составили 32 %, 20,3 % и 16 % соответственно.

Анализируя результаты лечения в зависимости от методики лучевой терапии, мы отметили тенденцию к увеличению показателей выживаемости у пациенток при проведении СТЛТ. ОВ после проведения СТЛТ на метастазы в головной мозг была почти в 3 раза выше по сравнению с пациентками, получившими ОБГМ, – 19 мес против 7 мес соответственно, $p > 0,05$ (рис. 1).

Наилучшие результаты лечения отмечены у пациенток с метастазами в головной мозг люминального В HER2 положительного типа (табл. 2): ОВ составила 17 мес, 1-летняя – 31 %. Самым неблагоприятным в плане ответа на лечение стал тройной негативный рак. Так, медиана ОВ после проведенного лечения не превышала 5 мес, а показатель 1-летней выживаемости составил 11 % ($p > 0,05$).

Выводы

Таким образом, отмечено увеличение показателей общей выживаемости у пациенток, которым проводилась стереотаксическая фракционная лучевая терапия, в сравнении с ОБГМ. Наилучшие результаты лечения отмечены после облучения метастазов в головной мозг люминального В HER2 положительного подтипа рака молочной железы.

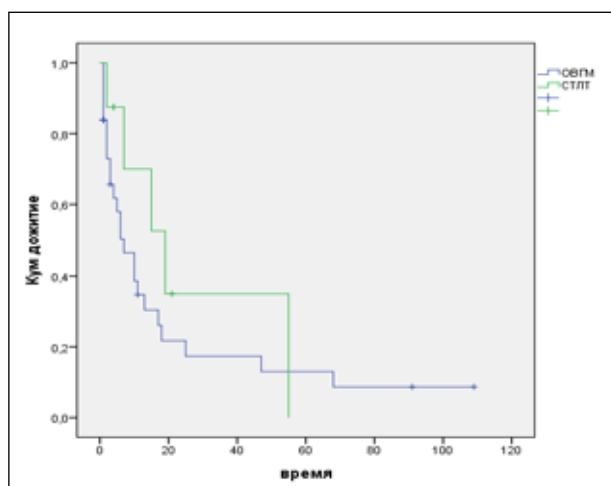


Рис. 1. Результаты лечения в зависимости от вида лучевой терапии. Примечание: ось абсцисс – время жизни в месяцах; ось ординат – кумулятивное дожитие; СТЛТ – стереотаксическая лучевая терапия; ОВГМ – облучение всего головного мозга

Таблица 1

Характеристика пациентов

Показатель		Количество пациентов	
		%	Абс.
Возраст	>50 лет	57 %	34
	<50 лет	43 %	26
Стадия	I	10 %	6
	II	39 %	23
	III	33 %	20
	IV	18 %	11
	Люминальный А	13 %	5
Биологический подтип	Люминальный В HER2 отрицательный	15 %	6
	Люминальный В HER2 положительный	20 %	8
	HER2 положительный не люминальный	26 %	10
	Тройной негативный	26 %	10
Объем облучения	ОВГМ	65 %	39
	Гипофракционирование	26,7 %	16
	Радиохирургия	8,3 %	5

Таблица 2

Результаты лечения в зависимости от биологического подтипа опухоли

Биологический подтип	1-лет.	2-лет.	3-лет.	ОВ	p
Люминальный А	30 %	25 %	—	7 мес	0,21
Люминальный В (HER2 отрицательный)	30 %	—	—	6 мес	0,23
Люминальный В (HER2 положительный)	31 %	—	—	17 мес	0,095
HER2 положительный (не люминальный)	29,2 %	—	—	7 мес	1,7
Тройной негативный	11,1 %	—	—	5 мес	0,15

ЛИТЕРАТУРА

1. Jeene P.M., de Vries K.C., van Nes J.G.H., Kwakman J.J.M., Wester G., Rozema T., Braam P.M., Zindler J.D., Koper P., Nuytens J.J., Vos-Westerman H.A., Schmeets I., Niël C.G.H.J., Hutschemaekers S., van der Linden Y.M., Verhoeff J.J., Stalpers L.J.A. Survival after whole brain radiotherapy for brain metastases from breast cancer is poor in 6325 Dutch patients treated between 2000 and 2014. *Acta Oncol.* 2018 May; 57(5): 637–643. doi: 10.1080/0284186X.2017.1418534.
2. Kocher M., Soffiotti R., Abacioglu U., Villà S., Fauchon F., Baumert B.G., Fariselli L., Tzuk-Shina T., Kortmann R.D., Carrie C., Ben Hassel M., Kouri M., Valeinis E., van den Berge D., Collette S., Collette L., Mueller R.P. Adjuvant whole-brain radiotherapy versus observation after radiosurgery or surgical resection of one to three cerebral metastases: results of the EORTC 22952–26001 study. *J Clin Oncol.* 2011 Jan 10; 29(2): 134–41. doi: 10.1200/JCO.2010.30.1655.
3. Matsunaga S., Shuto T., Kawahara N., Suenaga J., Inomori S., Fujino H. Gamma Knife surgery for metastatic brain tumors from primary breast cancer: treatment indication based on number of tumors and breast cancer phenotype. *J Neurosurg.* 2010 Dec; 113 Suppl: 65–72.
4. Tallet A.V., Azria D., Le Rhun E., Barlesi F., Carpentier A.F., Gonçalves A., Taillibert S., Dhermain F., Spano J.P., Metellus P. Rationale for the Use of Upfront Whole Brain Irradiation in Patients with Brain Metastases from Breast Cancer. *Int J Mol Sci.* 2014 May 8; 15(5): 8138–52. doi: 10.3390/ijms15058138.

5. Miller J.A., Kotecha R., Ahluwalia M.S., Mohammadi A.M., Chao S.T., Barnett G.H., Murphy E.S., Vogelbaum M.A., Angelov L., Peereboom D.M., Suh J.H. Overall survival and the response to radiotherapy among molecular subtypes of breast cancer brain metastases treated with targeted therapies. *Cancer*. 2017 Jun 15; 123(12): 2283–2293. doi: 10.1002/cncr.30616.

6. Cho E., Rubinstein L., Stevenson P., Gooley T., Philips M., Halasz L.M., Gensheimer M.F., Linden H.M., Rockhill J.K., Gadi V.K. The use of stereotactic radiosurgery for brain metastases from breast cancer: who benefits most? *Breast Cancer Res Treat*. 2015 Feb;149(3):743–9. doi: 10.1007/s10549-014-3242-x.

7. Brown P.D., Ballman K.V., Cerhan J.H., Anderson S.K., Carrero X.W., Whitton A.C., Greenspoon J., Parney I.F., Laack N.N., Ashman J.B., Bahary J.P., Hadjipanayis C.G., Urbanic J.J., Barker F.G., Farace E., Khuntia D., Giannini C., Buckner J.C., Galanis E., Roberge D. N107C/CEC.3: A phase III trial of post-operative stereotactic radiosurgery (SRS) compared with whole brain radiotherapy (WBRT) for resected metastatic brain disease (LBA-1). *Lancet Oncol*. 2017 Aug; 18(8): 1049–1060. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30441-2.

РОЛЬ СТЕРЕОТАКСИЧЕСКОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С МЕТАСТАЗАМИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА В ПЕЧЕНЬ

**М.М. Сарычева^{1,2}, Р.Ю. Карабут¹, И.А. Важенин¹, Е.Я. Мозерова^{1,2},
А.А. Ложков¹, А.Т. Жумабаева¹**

ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины»,

г. Челябинск, Россия¹

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России,

г. Челябинск, Россия²

Аннотация

Целью исследования было определение эффективности применения стереотаксической лучевой терапии (СТЛТ) у пациентов с метастазами колоректального рака в печень. В исследование вошли 10 пациентов, получившие лечение с 2011 по 2018 г. в Челябинском областном клиническом центре онкологии и ядерной медицины. Средний возраст больных составил 64±9,1 (от 47 до 78 лет) года. Преобладали пациенты мужского пола. Первичная опухоль локализовалась в сигмовидной кишке (n=5), прямой кишке (n=3) и ободочной (n=2). Медиана общей выживаемости (ОВ) для пациентов с метастазами колоректального рака в печень от момента постановки диагноза составила 46 мес, показатели 1-летней ОВ – 87,5 %; 2-летней – 72,9 %; 3-летней – 58,3 %; 5-летней – 14 %. Выживаемость после проведенного курса СТЛТ – 38 мес, 1-летний локальный контроль отмечен в 90 % случаях.

Ключевые слова: метастазы, колоректальный рак, стереотаксическая лучевая терапия, печень.

THE ROLE OF STEREOTACTIC RADIATION THERAPY IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER METASTASES IN THE LIVER

**M.M. Sarycheva^{1,2}, R.Yu. Karabut¹, I.A. Vazhenin¹, E.Ya. Mozerova^{1,2},
A.A. Lozhkov¹, A.T. Zhumabaeva¹**

GBUZ «Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine», Chelyabinsk, Russia¹

FGBU VO «South Ural State Medical University» of the Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia²

Abstract

The aim of this study was to determine the effectiveness of stereotactic radiation therapy (SRT) in patients with colorectal cancer metastases in the liver. The study included 10 patients who received treatment from 2011 to 2018. at Chelyabinsk regional clinical center of oncology and nuclear medicine. The average age of patients was 64 ± 9.1 (from 47 to 78 years). Male patients predominated. The primary tumor was located in the sigmoid colon (n=5), rectum (n=3) and colon (n=2). The median overall survival (OS) for patients with colorectal cancer metastases in the liver from the time of diagnosis was 46 months, the 1-year OS was 87,5 %; 2-year-old – 72,9 %; 3-year-old – 58,3 %; 5-year-old – 14 %, respectively. Survival after the course of STLT is 38 months, 1-year local control was noted in 90 % of cases.

Key words: metastases, colorectal cancer, stereotactic radiation therapy, liver.

Актуальность

Традиционно основным стандартом лечения пациентов с метастазами колоректального рака в печень является проведение химиотерапии при множественном поражении и хирургической резекции при олигометастатическом поражении [1]. До недавнего времени показания к проведению лучевой терапии у данной категории пациентов были ограничены в виду малой эффективности и рассматривались только с паллиативной целью. Однако появление возможности точно доставлять высокие дозы с помощью стереотаксической лучевой терапии (СТЛТ) изменило эту парадигму, и в настоящее время в современных рекомендациях по лечению пациентов с метастазами колоректального рака в печень мы можем увидеть такую опцию, как применение гипофракционной лучевой терапии у пациентов с олигометастатическим поражением печени, наряду с хирургической резекцией [2–5]. Самая ранняя публикация результатов применения СТЛТ при метастазах колоректального рака в печень относится к 1994 г. и была представлена группой радиологов из Швеции. В данной работе исследователи сообщают о первых результатах лечения 14 пациентов с подведением суммарной очаговой дозы от 7,7 до 30 Гр, за 1–4 фракции. Исследователи отметили достижение 80 % показателя локального контроля в течение 2-летнего периода наблюдения [6]. Современные литературные данные сообщают о достижении локального контроля при применении СТЛТ у пациентов с метастазами колоректального рака в печень в диапазоне от 90 до 100 % при низких показателях токсичности, не превышающих 1–2 степени и проявляющихся в виде тошноты, диспепсических нарушений. [7]. Основными прогностическими факторами, влияющими на выбор методики радиотерапии у пациентов с метастазами в печень, согласно литературным данным, являются удовлетворительный общий статус пациента и проведение неадекватной химиотерапии до начала лучевого лечения, а также количество метастазов и контролируемость первичного процесса. Так, у пациентов с наличием не более 2–3 метастатических очагов 1- и 2-летняя ОВ составляет 67,3 % и 44,1 % соответственно [8–10].

Цель исследования – оценка эффективности и токсичности СТЛТ в режиме гипофракционирования при лечении пациентов с метастазами колоректального рака в печень

Материал и методы

В основу данного исследования положен анализ результатов лечения 10 пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом метастазов колоректального рака в печень, которым проведено лечение в период с 2011 по 2018 г. на базе ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины». Основными показаниями для проведения СТЛТ были: отказ в оперативном лечении с учетом различных факторов (возраст пациентов, тяжесть сопутствующей патологии и т. д.), опухоль размерами до 5,0 см в диаметре. Противопоказания: опухоль более 5,0 см в диаметре, нарушение функции печени, множественное метастатическое поражение, сопутствующая патология в стадии декомпенсации.

Средний возраст больных составил $64 \pm 9,1$ (от 47 до 78 лет) года. Преобладали пациенты мужского пола. В большинстве случаев у больных первично была диагностирована II стадия опухолевого процесса. Наиболее часто опухоль локализовалась в сигмовидной кишке. Более подробно характеристика пациентов представлена в таблице.

Подготовка к СТЛТ включала в себя установку под ультразвуковым контролем рентгеноконтрастных меток в печень (от 3 до 5 штук на расстоянии не менее 20 мм и 15 градусов друг от друга). С последующим проведением через 5–7 дней разметки на компьютерном томографе с использованием индивидуального матраса. После проведения КТ разметки выполнялось оконтуривание критических органов и опухолевого очага, с обязательным отступ на планируемый объем (CTV) от 1 до 2 мм. По окончании этапа оконтуривания проводилось дозиметрическое планирование по 75 % изодозе с учетом индексов конформности и гетерогенности. Лечение на аппарате CyberKnife проводилось с использованием системы контроля дыхательных движений, работа которой основана на создании корреляционной модели между дыхательной моделью пациента, отслеживаемой в режиме реального времени, и локализацией цели в различных точках дыхательного цикла. Локализация цели определялась путем получения рентгеновского изображения, позволяющего визуализировать внутренние маркеры, при этом модель дыхания отслеживалась по наружным маркерам (светодиодные световодные датчики) в режиме реального времени. Стереотаксическое облучение данной категории пациентов проводилось с дозой 45 Гр за 3 сеанса. Средний облучаемый объем составил: GTV-7,41 см³, CTV- 18,62 см³.

Результаты

Медиана общей выживаемости (ОВ) для пациентов с метастазами колоректального рака в печень от момента постановки диагноза составила 46 мес, показатели 1-летней ОВ – 87,5 %; 2-летней – 72,9 %; 3-летней – 58,3 %; 5-летней – 14 % соответственно (рис. 1). Специфическая выживаемость (после проведенного курса СТЛТ) – 38 мес.

Однолетний локальный контроль составил 90 %. В 30 % (n=3) случаев отмечен частичный ответ на проведенный курс СТЛТ спустя 3–6 мес после СТЛТ, в 60 % (n=6) – стабилизация процесса, отрицательная динамика в виде увеличения размеров метастаза зафиксирована у 1 пациента.

Выводы

Таким образом, СТЛТ является эффективным методом локального воздействия на метастазы колоректального рака в печень и может рассматриваться в качестве самостоятельного варианта лечения у неоперабельных пациентов.

Таблица

Характеристика пациентов

Показатель		Количество пациентов	
		%	Абс.
Пол	Жен.	40 %	4
	Муж.	60 %	6
Возраст	> 70 лет	70 %	7
	< 70 лет	30 %	3
Стадия первичного процесса	II	40 %	4
	III	30 %	3
	IV	30 %	3
Локализация первичного процесса	Прямая кишка	30 %	3
	Сигмовидная кишка	50 %	5
	Восходящий отдел ободочной кишки	20 %	2

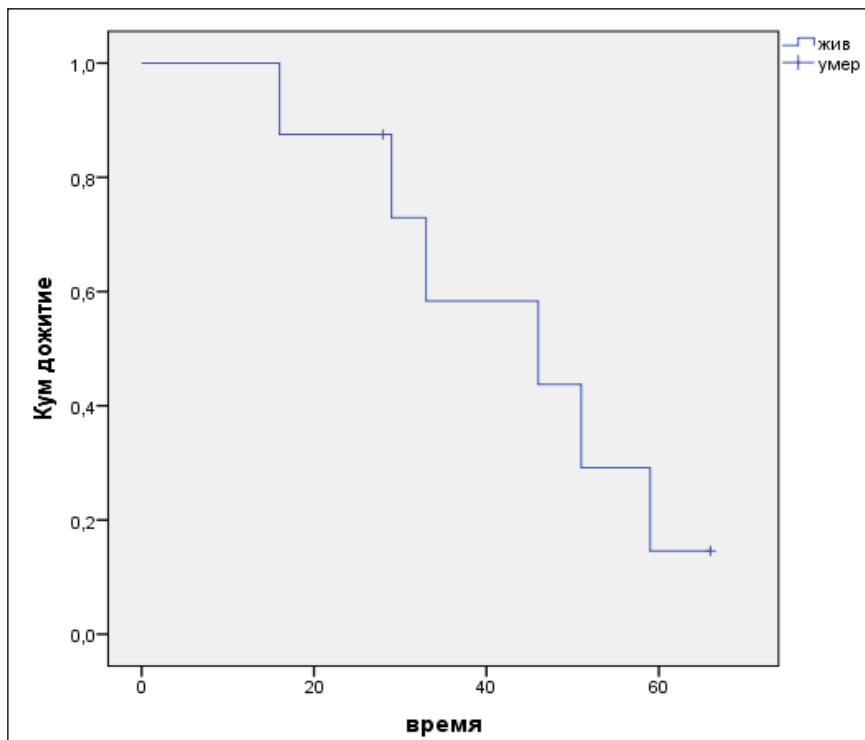


Рис.1. Показатели общей выживаемости

ЛИТЕРАТУРА

1. Engstrand J., Nilsson H., Strömberg C., Jonas E., Freedman J. Colorectal cancer liver metastases: a population-based study on incidence, management and survival. *BMC Cancer*. 2018 Jan 15; 18(1): 78. doi: 10.1186/s12885-017-3925-x.
2. Aiken K.L., Hawkins M.A. Stereotactic body radiotherapy for liver metastases. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2015 May; 27(5): 307–15. doi: 10.1016/j.clon.2015.01.032.
3. Goodman B.D., Mannina E.M., Althouse S.K., Maluccio M.A., Cardenas H.R. Long-term safety and efficacy of stereotactic body radiation therapy for hepatic oligometastases *Pract Radiat Oncol*. 2016 Mar-Apr; 6(2): 86–95. doi: 10.1016/j.prro.2015.10.011.
4. Ohri N., Tomé W.A., Méndez Romero A., Miften M., Ten Haken R.K., Dawson L.A., Grimm J., Yorke E., Jackson A. Local Control After Stereotactic Body Radiation Therapy for Liver Tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2018 Jan 6. pii: S0360–3016(17)34525-X. doi: 10.1016/j.ijrobp.2017.12.288.
5. Joo J.H., Park J.H., Kim J.C., Yu C.S., Lim S.B., Park I.J., Kim T.W., Hong Y.S., Kim K.P., Yoon S.M., Park J., Kim J.H. Local control outcomes using stereotactic body radiation therapy for liver metastases from colorectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2017 Nov 15; 99(4): 876–883. doi: 10.1016/j.ijrobp.2017.07.030.
6. Lax I., Blomgren H., Näslund I. Stereotactic radiotherapy of malignancies in the abdomen. Methodological aspects. *Acta Oncol*. 1994; 33(6): 677–83.
7. Wild A.T., Yamada Y. Treatment Options in Oligometastatic Disease: Stereotactic Body Radiation Therapy Focus on Colorectal Cancer. *Visc Med*. 2017 Mar; 33(1): 54–61. doi: 10.1159/000454685.
8. Fode M., Hoyer M. Survival and prognostic factors in 321 patients treated with stereotactic body radiotherapy for oligo-metastases. *Radiother Oncol*. 2015 Feb; 114(2): 155–60. doi: 10.1016/j.radonc.2014.12.003.
9. Vernaleone M., Bonomo P., Di Cataldo V., Saieva C., Masi L., Desideri I., Greto D., Francolini G., Becherini C., Livi L. Robotic stereotactic radiotherapy for liver oligometastases from colorectal cancer: a single-center experience. *RadiolMed*. 2019 Sep; 124(9): 870–876. doi: 10.1007/s11547-019-01042-8.
10. Klement R.J., Abbasi-Senger N., Adebahr S., Alheid H., Allgaeuer M., Becker G., Blanck O., Boda-Heggemann J., Brunner T., Duma M., Eble M.J., Ernst I., Gerum S., Habermehl D., Hass P., Henkenberens C., Hildebrandt G., Imhoff D., Kahl H., Klass N.D., Krempien R., Lewitzki V., Lohaus F., Ostheimer C., Papachristoflou A., Petersen C., Rieber J., Schneider T., Schrade E., Semrau R., Wachter S., Wittig A., Guckenberger M., Andrasschke N. The impact of local control on overall survival after stereotactic body radiotherapy for liver and lung metastases from colorectal cancer: a combined analysis of 388 patients with 500 metastases. *BMC Cancer*. 2019 Feb 26; 19(1): 173. doi: 10.1186/s12885-019-5362-5.

ЭКСПРЕССИЯ МРНК КАЛЬПАИНОВ ПРИ ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ГОРТАНИ

Е.А. Сиденко

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

Аннотация

Предрак характеризуется диспластическими изменениями эпителия гортани, протекающими на фоне хронических заболеваний. Важную роль в формировании плоскоклеточного рака гортани (ПРГ) и переходе предопухолевых заболеваний в злокачественные играют протеолитические системы, к которым относятся кальпаины. **Цель исследования** – определить уровень экспрессии мРНК *CAPN1* и *CAPN2* в диспластически измененном и злокачественном эпителии гортани. В работу были включены 9 пациентов с предопухолевыми заболеваниями, ассоциированными с диспластическими изменениями эпителия гортани (DI-II) и 24 пациента с ПРГ (T1–3N0–1M0). Анализ экспрессии генов *CAPN1* и *CAPN2* проводился методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) в диспластически измененной, опухолевой и условно-нормальной ткани гортани, полученной путем биопсии. Выявлены различия в уровне экспрессии изучаемых генов при сравнении групп пациентов с предопухолевыми и опухолевыми заболеваниями гортани. У пациентов с плоскоклеточным раком показатели экспрессии мРНК *CAPN1* и *CAPN2*, были в 3,5 и в 4 раза выше, чем у пациентов с диспластическими изменениями эпителия гортани соответственно. Полученные результаты согласуются с данными литературы и подтверждают значимую роль кальпаинов в регуляции процессов канцерогенеза.

Ключевые слова: предрак, рак гортани, канцерогенез, *CAPN1*, *CAPN2*.

CALPAIN MRNA EXPRESSIONS IN PRETUMOR AND TUMOR DISEASES OF THE LARYNX

E.A. Sidenko

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

Abstract

A precancer is characterized by dysplastic changes in the laryngeal epithelium following underlying chronic diseases. Proteolytic systems including calpains are played an important role in the formation of squamous cell carcinoma of the larynx (SCC) and the transition of precancerous diseases to malignant. The aim of the study was to determine the expression levels of CAPN1 and CAPN2 mRNAs in dysplastic and malignant laryngeal epithelium. The study included 9 patients with precancerous diseases associated with dysplastic changes in the laryngeal epithelium (DI-II) and 24 patients with SCC (T₁₋₃N₀₋₁M₀). Analysis of the expression of the CAPN1 and CAPN2 genes was carried out by real-time PCR (PCR-RT) in dysplastically altered, tumor and conditionally normal laryngeal tissue obtained by biopsy. Differences in the level of expressions of the studied genes were revealed by comparison of the groups of patients with pretumor and tumor diseases of the larynx. In patients with squamous cell carcinoma, CAPN1 and CAPN2 mRNA expression were 3.5 and 4 times higher than in patients with dysplastic changes in the laryngeal epithelium, respectively. The results obtained are consistent with the literature data and confirm the significant role of calpains in the regulation of carcinogenesis.

Key words: precancer, laryngeal cancer, carcinogenesis, CAPN1, CAPN2.

Актуальность

Предопухолевые (предраковые) заболевания гортани определяются как эпителиальные диспластические поражения, которые могут трансформироваться в рак *in situ* [1]. Группу облигатного предрака составляют различные хронические заболевания, такие как папилломатоз, хронический гиперпластический ларингит (ХГЛ) и дискератоз гортани [2]. Хотя механизм опухолевой трансформации от диспластических изменений гортани до рака остаётся полностью не изученным, считается, что он представляет собой ступенчатый процесс, в котором за генетическими повреждениями следуют морфологические изменения в плоском эпителии [3]. Рак гортани является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований верхних дыхательных путей. Более 95 % случаев опухолей приходится на плоскоклеточный рак, что говорит об относительной гомогенности заболевания по сравнению с другими типами опухолей. К главным факторам риска возникновения плоскоклеточного рака гортани относят употребление табака и алкоголя, которые, по-видимому, оказывают синергический эффект [4]. Несмотря на усовершенствование и доступность диагностического оборудования, рак гортани по-прежнему остаётся сложной локализацией для диагностики опухолевых процессов на ранних стадиях [5]. Протеолитические системы оказывают огромное влияние на процессы канцерогенеза. Кальпаины (Capns) представляют собой класс внутриклеточных протеаз, функции которых зависят от концентрации Ca²⁺ [6]. В настоящее время выявлено 16 членов кальпаиновой системы. Кальпаин-I (μ-кальпаин) и кальпаин-II (m-кальпаин) являются наиболее изученными изоформами [7]. Отличительной особенностью кальпаиновых протеаз является их способность к ограниченному протеолизу белковых субстратов, приводящая к образованию стабильных фрагментов. В ряде исследований показано, что уровни экспрессии и активности некоторых кальпаинов значительно повышаются в различных типах злокачественных опухолей, включая шванному, рак молочной железы, рак желудка, колоректальный рак, меланому, рак поджелудочной железы, рак гортани и карциному эндометрия [8–11]. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что кальпаины принимают активное участие в развитии опухолей различных локализаций, включая плоскоклеточный рак гортани.

Целью исследования являлась оценка различий в экспрессии мРНК *CAPN1* и *CAPN2* у пациентов с предопухолевыми и опухолевыми заболеваниями гортани.

Материал и методы

В исследование было включено 9 пациентов с диспластически измененным эпителием гортани разной степени (DI–II) и 24 пациента с плоскоклеточным раком (T1–3N0–1M0). Материалом для исследования послужили образцы диспластически измененной, опухолевой и условно-нормальной ткани гортани, полученные путём биопсии. Анализ экспрессии генов кальпаинов (*CAPN1*, *CAPN2*) проводился методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Праймеры подбирались с использованием специализированных программ «Vector NTI Advance11.5» и базы данных «NCBI». Результаты ПЦР-РВ выражали в условных единицах (уровень экспрессии изучаемых генов по отношению к уровню экспрессии гена-рефери). В качестве гена-рефери использовали ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH и уровень экспрессии каждого целевого гена нормализовали по отношению к экспрессии GAPDH. Изменение уровня экспрессии мРНК между опухолевой и нормальной тканью рассчитывали по

формуле $2\Delta\Delta Ct$. Статистический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica 10.0.

Результаты

На первом этапе исследования было проведено сравнение показателей экспрессии исследуемых генов между диспластически измененным (D(I-II)) и злокачественным (T1–3N0–1M0) эпителием гортани. Обнаружили, что уровень экспрессии генов *CAPN1* и *CAPN2* у пациентов с плоскоклеточным раком в 3,5 и в 4 раза больше, чем у пациентов с диспластическими изменениями эпителия гортани соответственно (таблица).

Полученные результаты согласуются с данными литературы и подтверждают, что кальпаины принимают непосредственное участие в регуляции процессов канцерогенеза [12]. Увеличение уровня экспрессии кальпаинов в злокачественном эпителии может быть связано с повышенной протеолитической активностью, направленной на утилизацию поврежденных и выполнивших свою функцию белков. р данными литературы и подтверждают, что кальпаины

На втором этапе исследования мы получили данные об изменении экспрессии изучаемых показателей в зависимости от распространенности опухолевого процесса (рис. 1).

Рисунок 1 демонстрирует отсутствие значимых различий уровня экспрессии *CAPN1* и *CAPN2* в зависимости от распространенности опухолевого процесса.

Таким образом, исследование кальпаинов в диспластически измененном и злокачественном эпителии гортани показало их вовлеченность в процессы развития рака, что согласуется с полученными ранее данными для опухолевых заболеваний других локализаций [8–11]. В перспективе возможно выделить дополнительные критерии, которые помогут прогнозировать риск развития рака гортани у пациентов с хроническими заболеваниями, ассоциированными с диспластическими изменениями эпителия различной степени.

Выводы

Обнаружены значимые различия в уровне экспрессии мРНК *CAPN1* и *CAPN2* у пациентов с хроническими заболеваниями гортани, ассоциированными с диспластическими изменениями эпителия по сравнению с пациентами со злокачественными новообразованиями гортани. Показана роль кальпаинов как основных компонентов протеолитической системы в развитии ПРГ и возможном участии в процессах перехода предрака в рак.

Таблица

Уровень экспрессии мРНК *CAPN1* и *CAPN2* в диспластически изменённом (D(I-II)) и злокачественном (T1–3N0–1M0) эпителии гортани

Изучаемые ткани	n	Анализируемые показатели, Ме (Q25 – Q75)	
		<i>CAPN1</i> Усл.Ед.	<i>CAPN2</i> Усл.Ед.
Дисплазия D(0–2)	9	0,5 (0,08–0,72)	0,5 (0,06–0,76)
Рак гортани T1–3N0–1M0	24	1,75* (0,25–11,21)	2,00* (0,47–4,12)
Ур.значимости		p=0,034	p=0,01

Примечание: * – значимость различий по сравнению с группой D(0–2), p < 0,05. Название табл. поставить на место

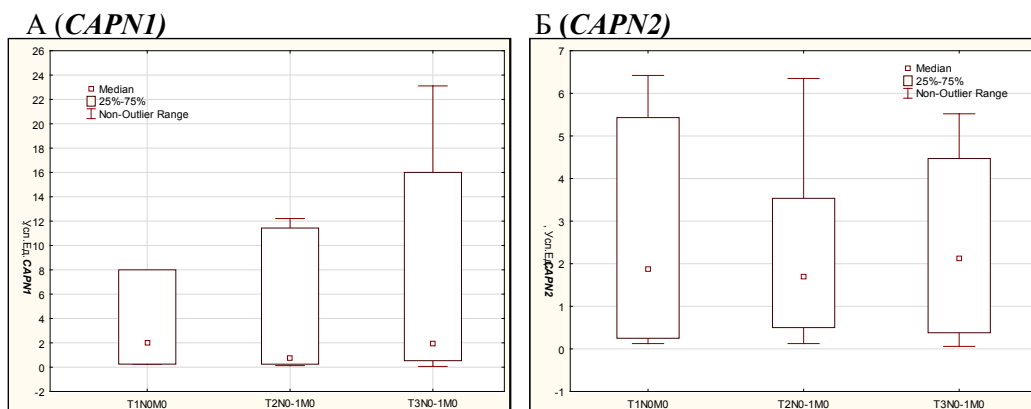


Рис. 1. Уровень экспрессии мРНК *CAPN1* и *CAPN2* в зависимости от распространенности опухолевого процесса

ЛИТЕРАТУРА

1. Weller M.D., Nankivell P.C., McConkey C., Paleri V., Mehanna H.M. The risk and interval to malignancy of patients with laryngeal dysplasia; a systematic review of case series and meta-analysis. Clin Otolaryngol. 2010 Oct; 35(5): 36472. doi: 10.1111/j.1749-4486.2010.02181.x.
2. Черемисина О.В., Чойнзонов Е.Л., Панкова О.В., Меньшиков К.Ю. Хронический гиперпластический ларингит как критерий формирования группы риска по раку гортани. Рос. оториноларингология. 2013; 2(63): 84–89.
3. Trivedi S., Rosen C.A., Ferris R.L. Current understanding of the tumor microenvironment of laryngeal dysplasia and progression to invasive cancer. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2016 April; 24(2): 121–127. doi: 10.1097/MOO.0000000000000245.
4. Leemans C.R., Braakhuis B.J., Brakenhoff R.H. The molecular biology of head and neck cancer. Nature reviews cancer. 2011; 11(1): 9–22. doi: 10.1038/nrc2982.
5. Черемисина О.В., Чойнзонов Е.Л. Возможности эндоскопической диагностики предопухолевых заболеваний и рака гортани в современной онкологии. Сибирский онкологический журнал. 2007; 3: 5–9.
6. Xiang Y., Li F., Wang L., Zheng A., Zuo J., Li M., Wang Y., Xu Y., Chen C., Chen S., Xiao B., Tao Z. Decreased calpain 6 expression is associated with tumorigenesis and poor prognosis in HNSCC. Oncology letters. 2017; 13(4): 2237–2243. doi: 10.3892/ol.2017.5687.
7. Wan T.T., Li X.F., Sun Y.M., Li Y.B., Su Y. Role of the calpain on the development of diabetes mellitus and its chronic complications. Biomed Pharmacother. 2015 Aug; 74: 187–190. doi: 10.1016/j.biopha.2015.08.008.
8. Moretti D., Bello B.D., Allavena G., Maellaro E. Calpains and cancer: Friends or enemies? Archives of biochemistry and biophysics. 2014; 564: 26–36. doi: 10.1016/j.abb.2014.09.018.
9. Storr S.J., Carragher N.O., Frame M.C., Parr T., Martin S.G. The calpain system and cancer. Nature Reviews Cancer. 2011; 11(5): 364–374. doi: 10.1038/nrc3050.
10. Иванова Э.В., Кондакова И.В., Спирина Л.В., Афанасьев С.Г., Августиневич А.В., Черемисина О.В. Химотрипсинподобная активность протеасом и общая активность кальпаинов при раке желудка и толстой кишки. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014; 157(6): 753–756.
11. 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: 45–70.
11. Ma D., Fang J., Liu Y., Song J.J., Wang Y.Q., Xia J., Cheng B., Wang Z. High level of calpain1 promotes cancer cell invasion and migration in oral squamous cell carcinoma. Oncology letters. 2017; 13(6): 4017–4026. doi: 10.3892/ol.2017.5970.

РЕКОНСТРУКЦИИ ПОСТРЕЗЕКЦИОННЫХ ДЕФЕКТОВ У БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЕВЫМ ПОРАЖЕНИЕМ КОСТЕЙ

**П.К. Ситников, И.И. Анисеня, С.А. Табакаев, И.Г. Фролова,
А.В. Богоутдинова, Л.С. Сапунова, А.А. Федоров, Х.И. Хакимов**

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

Аннотация

Обследовано 60 больных с опухолевым поражением костей, которым проводилось удаление опухоли с резекцией кости в пределах здоровой ткани. Всем пациентам выполнялась пластика пострезекционного дефекта различными костно-пластическими материалами. 28 пациентам была выполнена криоабляция остаточной полости. Установлено, что биодegradация композитных материалов и остеорегенерация в зоне костной пластики происходят в более короткие сроки после криохирургического лечения.

Ключевые слова: опухолевое поражение костей, пострезекционный дефект, костно-пластические материалы, криохирurgia.

RECONSTRUCTION OF POST-RESECTION DEFECTS IN PATIENTS WITH TUMOR LESIONS OF BONES

**P.K. Sitnikov, I.I. Anisenja, S.A. Tabakaev, I.G. Frolova, A.V. Bogoutdinova,
L.S. Sapunova, A.A. Fedorov, K.I. Khakimov**

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

Abstract

We examined 60 patients with tumor lesions of the bones who underwent tumor resection with bone resection within healthy tissue. All patients underwent plastic repair of a post-resection defect with various osteoplastic materials. 28 patients underwent cryoablation of the residual cavity. It was found that biodegradation of

composite materials and osteoregeneration in the area of bone grafting occur in a shorter time after cryosurgical treatment.

Key words: bone tumor lesion, post-resection defect, osteoplastic materials, cryosurgery.

Актуальность

Опухолевое поражение костей – это множество новообразований с различной патоморфологической и клинко-рентгенологической картиной, 1,5 % от них представляют первичные злокачественные опухоли [1, 2]. Доброкачественные опухоли костей встречаются в 2–3 раза чаще, чем злокачественные [2, 3]. Метастазы в кости занимают 96 % от всех новообразований костной системы [2, 4]. Хирургическое лечение является основным методом лечения опухолевого поражения костей [1–5]. Выполнять органосохраняющие операции удается благодаря применению современных подходов в лечении [2–6]. Комбинированное лечение, включающее дополнительное интраоперационное лечебное воздействие (радиочастотное, ультразвуковое или криоабляция), позволяет выполнять радикальные операции и уменьшать количество рецидивов [2–4]. Реконструкция пострезекционного дефекта воссоздает анатомическую структуру оперированной кости, тем самым восстанавливая функцию, что, в свою очередь, улучшает качество жизни пациентов [1–5]. Использование аутотрансплантата («золотой стандарт») ограничивает ряд факторов и возможных осложнений, которые, по данным литературы, могут достигать 20, 6 % [5–9]. В качестве альтернативы аутокости применяются натуральные, композитные и искусственные костно-пластические материалы [7–9]. Несмотря на их многообразие и различные физико-химические свойства, все они изучались и апробировались преимущественно в условиях челюстно-лицевой хирургии, стоматологии, травматологии, ортопедии и нейрохирургии [8, 9]. Не существует четких рекомендаций по применению конкретных костно-пластических материалов после выполнения различных вариантов хирургического и комбинированного лечения при опухолевом поражении костей [9]. Изменения пораженной кости и окружающей ее ткани после дополнительного лечебного воздействия могут существенно влиять на процессы адаптации элементов костной пластики. Используемые в зоне пострезекционных костных дефектов после криохирургического лечения пластические материалы в настоящее время остаются неизученными, что 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 клинко-рентгенологических данных.

Материал и методы

В исследование было включено 60 пациентов с морфологически верифицированным опухолевым поражением костей: хондрома (n=18, 28,3 %), ГКО (n=15, 23,3 %), хондросаркома (n=12, 20 %), МТС рака почки (n=3, 5 %), фиброзная дисплазия (n=3, 5 %), киста (n=3, 5 %), миеломная болезнь (n=2, 3,4 %), хондробластома (n=2, 3,4 %), липома (n=2, 3,4 %), остеома (n=1, 1,6 %) и бурая опухоль (n=1, 1,6 %). Средний возраст больных составил 43,4 года. Женщин 39, мужчин 21. Всем пациентам проводилось хирургическое лечение в объеме удаления опухоли с резекцией кости в пределах здоровых тканей. 28 (46,6 %) пациентам была выполнена интраоперационная криоабляция остаточной полости жидким азотом 3 циклами с экспозицией замораживания 1 мин, с последующим самопроизвольным оттаиванием. Всем пациентам выполнялась пластика пострезекционного дефекта. Аутотрансплантат использовался в 16,7 % случаев (n=10). У 39 пациентов применялись композитные костно-пластические материалы: BoneMedik-S – 18 (30 %), Остеоматрикс – 13 (21,7 %), Коллапан – 8 (13,3 %). Реконструкция медицинским цементом выполнялась в 18,3 % случаев (n=11). Повторное хирургическое лечение по поводу рецидива выполнялось 3 пациентам (5 %) с ГКО. Оценка изменения структуры оперированной кости и пластического материала, темпы и степень резорбции последнего проводились на основании КТ-денситометрии. Измерялись средняя плотность (HU) и среднее отклонение плотности (HU) в зоне реконструкции через 1, 3, 6, 9, 12 мес после хирургического лечения. Общее функциональное состояние больных оценивалось с помощью шкалы Карновского в сроки динамического наблюдения.

Результаты

При визуальной оценке фиксировалась более быстрая биодеградация композитных костно-пластических материалов (размытость контуров гранул). Медленная резорбция и остеорепа-рация наблюдались у пациентов, которым в качестве пластического материала применялся

аутооттрансплантат. После хирургического лечения нарастание плотности составило: Bone Medik-S от 3,4 % до 23,9 % (медиана – 11 %); Остеоматрикс от 3,9 % до 22,3 % (медиана – 14,5 %); Коллапан от 1,1 % до 25,9 % (медиана – 10 %). После криохирургического лечения регистрировались изменения плотности по границам резекции в виде более быстрого нарастания зон остеосклероза, а плотность увеличивалась: Bone Medik-S от 5,7 % до 33,4 % (медиана – 13 %); Остеоматрикс от 3,1 % до 27,2 % (медиана – 15,5 %); Коллапан от 1,4 % до 28,3 % (медиана – 11,5 %). Восстановления функции пораженной кости в более быстрые сроки удалось достичь, используя медицинский цемент. На сроки нетрудоспособности и реабилитационный период влияют размер опухолевого поражения и пострезекционного дефекта кости, а также их расположение относительно близлежащего сустава.

Заключение

Применение композитных костно-пластических материалов после криохирургического лечения опухолевого поражения костей способствует более быстрой остеорегенерации в зоне пострезекционного дефекта. При обширных пострезекционных дефектах вблизи суставов для достижения более быстрого функционального результата следует использовать медицинский цемент.

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., Streithöfer A., Hantes J. Operationsverfahren bei Knochentumoren. Pathologie. 2014 Nov; 35 Suppl 2: 232–6. doi: 10.1007/s00292-014-2004-1.
3. Fritzsche H., Schaser K.D., Hofbauer C. Benigne Tumoren und tumorähnliche Läsionen des Knochens. Allgemeine Behandlungsprinzipien. Orthopäde. 2017 Jun; 46(6): 484–497. doi: 10.1007/s00132-017-3429-z.
4. Freeman A.K., Sumathi V.P., Jeys L. Metastatic tumors of bone. Surgery (Oxford). 2015 Jan. 33(1): 34–39. doi: 10.1016/j.mpsur.2014.10.005.
5. Jeys L., Morris G., Evans S., Stevenson J., Parry M., Gregory J. Surgical Innovation in Sarcoma Surgery. Clinical Oncology. 2017 Aug. 29(8): 489–499. doi: 10.1016/j.clon.2017.04.003.
6. Анищенко И.И. Малоинвазивные, видеоассистированные и эндоскопические ревизионные операции в ортопедической онкологии. Евразийский онкологический журнал. 2016; 2(9): 109–119.
7. Кирилова И.А., Садовой М.А., Подорожная В.Т. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства. Хирургия позвоночника. 2012; 3: 72–83.
8. Шумилова А.А., Шишаккая Е.И. Материалы для восстановления костной ткани. Журнал сибирского федерального университета. 2014; 2(7): 209–221.
9. Heinemann S., Gelinsky M., Worch H., Hanke T. Resorbierbare Knochenersatzmaterialien. Orthopäde. 2011 März; 40: 761–773. doi: 10.1007/s00132-011-1748-z.

РОЛЬ АКТИВНОСТИ ПРОТЕАСОМ В ПРОГНОЗЕ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

В.Е. Скурихина¹, 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

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) является одной из часто встречающихся и активно метастазирующих злокачественных опухолей. В регуляции содержания и активности внутриклеточных белков, принимающих участие в развитии рака, важная роль принадлежит внутриклеточным протеолитическим системам, к числу которых относятся протеасомы. Изменения в активности протеасомной системы наблюдаются при злокачественных опухолях разных локализаций. В этой связи целью работы явилось изучение активности протеасом в прогнозе неблагоприятного исхода НМРЛ. **Материал и методы.** Исследовалась неизмененная и опухолевая ткань от 36 больных НМРЛ. Все больные не получали НАХТ. Активность протеасом оценивали флуориметрическим методом по гидролизу флуорогенного олигопептида (Suc-LLVY-AMC для химотрипсин-подобной активности, Cbz-LLG-AMC для каспаза-подобной активности). Содержание белка определяли по методу Лоури. Статистическая обработка результатов проводилась с применением пакета программ IBM SPSS Statistics 20. **Результаты.** Химотрипсин-подобная и каспаза-подобная активности протеасом были изучены в отношении исходов 2-летней

общей выживаемости больных НМРЛ. Показано, что высокие химотрипсин-подобная (выше $48,8 \times 10^3$ Ед/мг белка) и каспаза-подобная (выше $31,2 \times 10^3$ Ед/мг белка) активности протеасом отрицательно влияют на выживаемость больных НМРЛ. **Выводы.** Разработан способ прогноза риска развития неблагоприятного исхода у больных НМРЛ в течение двух лет после операции. Для химотрипсин-подобной активности протеасом – чувствительность 80 %, специфичность 90 %. Для каспаза-подобной активности протеасом – чувствительность 83 %, специфичность 88 %.

Ключевые слова: протеасомы, химотрипсин-подобная активность, каспаза-подобная активность, немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), прогноз выживаемости.

THE ROLE OF PROTEASOME ACTIVITY IN PREDICTING THE POOR OUTCOME OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER

V.E.Skurikhina¹, D.N Kostromitsky²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia¹

Tomsk Regional Oncology Center, Tomsk, Russia²

Abstract

Non-small cell lung cancer (NSCLC) is one of the most common and actively metastatic malignant tumors. An important role in the regulation of the level and activity of intracellular proteins that are actively involved in the development of cancer are played by intracellular proteolytic systems, including proteasomes. Changes in the activity of the proteasome system are observed in malignant tumors of different locations. In this regard, the **aim** of the work was to study the activity of proteasomes in the prognosis of an poor outcome of NSCLC. **Material and Methods.** All patients did not receive NAHT. The activity of the proteasomes was evaluated by fluorometric method for the hydrolysis of a fluorogenic oligopeptide (Suc-LLVY-AMC for chymotrypsin-like activity, Cbz-LLG-AMC for caspase-like activity). Protein level was determined by the Lowry method. Statistical processing of the results was carried out using the IBM SPSS Statistics 20 software package. **Results.** Chymotrypsin-like and caspase-like proteasome activities have been studied in relation to the outcomes of 2-year overall survival of patients with NSCLC. It was shown that high chymotrypsin-like (above $48,8 \times 10^3$ U/mg protein) and caspase-like (above $31,2 \times 10^3$ U/mg protein) proteasome activities negatively affect the survival of patients with NSCLC. **Conclusions.** The method has been developed for predicting the risk of poor outcome in patients with NSCLC within two years after surgery. For chymotrypsin-like proteasome activity sensitivity is 80 %, specificity is 90 %. For caspase-like proteasome activity the sensitivity is 83 %, specificity is 88 %.

Key words: proteasomes, chymotrypsin-like activity, caspase-like activity, non-small cell lung cancer (NSCLC), survival prognosis

Актуальность

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) относится к новообразованиям с высоким уровнем летальности – более 20 % от всех умерших от злокачественных новообразований [1]. Несмотря на внедрение новых методов лечения, основанных на комбинировании радикального оперативного вмешательства с лучевой и/или лекарственной противоопухолевой терапией, пятилетняя выживаемость больных НМРЛ не превышает 55 % [2]. В связи с этим в последние годы активно разрабатываются диагностические подходы, направленные на выявление признаков прогрессирования заболевания. Помимо проведения стандартных клиничко-инструментальных исследований, существенную помощь при прогнозировании исхода у больных НМРЛ оказывают молекулярные маркеры, определяемые в крови или ткани. Возникновение и развитие злокачественных новообразований связано с активацией пролиферации, ингибированием процесса апоптоза, нарушением клеточного цикла, а также стимуляцией выработки факторов роста, что, в свою очередь, связано с функционированием протеасомной системы, поскольку эффективная регуляция количества и функции многих белков зависит и от процессов, связанных с их деградацией [3, 4]. В ряде исследований продемонстрировано участие протеасомной системы в развитии опухолей различных локализаций [5–8]. При НМРЛ, как и при любом патологическом процессе, протеолитические системы играют важную роль, так как осуществляют регуляцию ключевых процессов в клетке. На клеточной культуре НМРЛ подтверждено участие протеасом в деградации Bax и Bim белков при регуляции апоптоза [9].

Цель исследования – изучить активность протеасом в прогнозе неблагоприятного исхода НМРЛ.

Материал и методы

Исследовалась неизменная и опухолевая ткань от 36 больных НМРЛ (T2–3N0–2M0). Все больные не получали предоперационной терапии. Активность протеасом определяли в осветленном гомогенате опухолевой ткани по гидролизу флуорогенного олигопептида Suc-LLVY-AMC для химотрипсин-подобной активности и Cbz-LLG-AMC для каспаза-подобной активности. Для оценки активности примесных протеаз применяли специфический ингибитор протеасом – MG132. Удельную активность протеасом выражали в единицах активности на 1 мг белка. Содержание белка определяли по методу Лоури. Статистическая обработка результатов проводилась с применением пакета программ IBM SPSS Statistics 20.

Результаты

Химотрипсин-подобная (ХПА) и каспаза-подобная (КПА) активности протеасом были изучены в отношении исходов 2-летней общей выживаемости больных НМРЛ. В анализируемой выборке в течение 2-летнего периода после операции 78 % пациентов были живы, а у 22 % пациентов был зарегистрирован летальный исход.

Прогностическая значимость признаков в отношении общей выживаемости у больных НМРЛ оценена с использованием обобщенного критерия Гехана–Вилкоксона (для ХПА $\chi^2=5,603$, $p=0,005$; для КПА $\chi^2=3,176$, $p=0,053$) (рис. 1). При ХПА выше $48,8 \times 10^3$ Ед/мг белка и КПА выше $31,2 \times 10^3$ Ед/мг белка прогнозируют высокую вероятность развития неблагоприятного исхода.

Проверка специфичности и чувствительности показателей, показавших статистически значимый результат в отношении общей выживаемости, осуществлялась с помощью ROC-анализа (рис. 2). Для ХПА протеасом чувствительность 80 %, специфичность 90 %. Для КПА протеасом чувствительность 83 %, специфичность 88 %. Для определения относительного риска влияния активности протеасом на исход заболевания оценивалась переменная Меры риска при построении таблиц сопряженности (для ХПА относительный риск=1,5, $p=0,015$; для КПА относительный риск=2,2, $p=0,033$).

Таким образом, применение предлагаемого способа в качестве дополнительного прогностического критерия позволяет с высокой чувствительностью и специфичностью предполагать возможный исход заболевания у больных НМРЛ и использовать его для расчета риска развития неблагоприятного исхода у больных НМРЛ после радикальной операции.

Выводы

Разработан способ прогноза риска развития неблагоприятного исхода у больных НМРЛ в течение двух лет после операции. При ХПА протеасом выше $48,8 \times 10^3$ Ед/мг белка и КПА протеасом выше $31,2 \times 10^3$ Ед/мг белка прогнозируют высокую вероятность развития неблагоприятного исхода: при увеличении ХПА на каждую 1×10^3 Ед/мг белка риск развития неблагоприятного исхода увеличивается в 1,5 раза; при увеличении КПА на каждую 1×10^3 Ед/мг белка риск развития неблагоприятного исхода увеличивается в 2,2 раза.

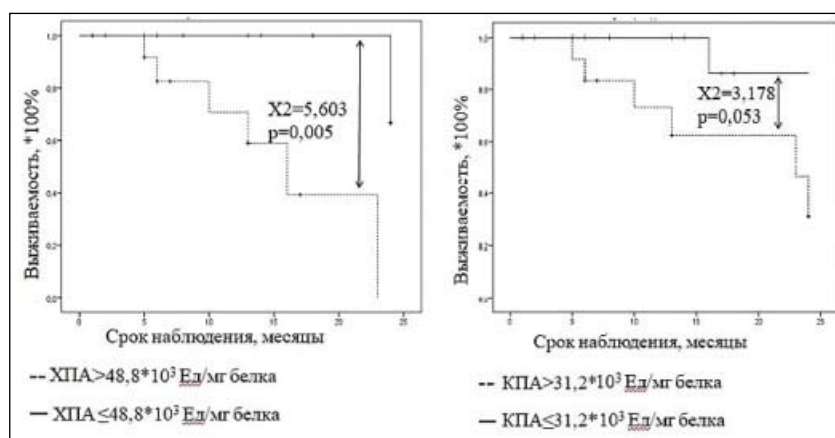


Рис. 1. Показатели 2-летней общей выживаемости больных НМРЛ в зависимости от уровня химотрипсин-подобной (ХПА) и каспаза-подобной (КПА) активностей протеасом в опухолевой ткани

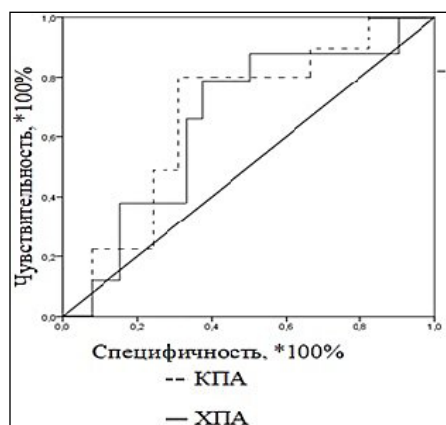


Рис. 2. ROC-кривые для определения оценки качества бинарной классификации уровня химотрипсин-подобной (ХПА) и каспаза-подобной (КПА) активности протеасом в отношении развития неблагоприятного исхода

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России. 2018. 250 с.
2. Postmus P.E., Kerr K.M., Oudkerk M., Senan S., Waller D.A., Vansteenkiste J., Escrui C., Peters S.; ESMO Guidelines Committee. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2017 Jul 1; 28(suppl_4): iv1–iv21. doi: 10.1093/annonc/mdx222.
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. van Kasteren S.I., Overkleeft H., Ova H., Neefjes J. Chemical biology of antigen presentation by MHC molecules. *Curr Opin Immunol.* 2014 Feb; 26: 21–31. doi: 10.1016/j.coi.2013.10.005.
5. Какурина Г.В., Черемисина О.В., Чойнзонов Е.Л., Кондакова И.В. Циркулирующие протеасомы в патогенезе плоскоклеточного рака головы и шеи. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2017; 163(1): 108–111.
6. Шашова Е.Е., Колегова Е.С., Кондакова И.В., Завьялов А.А. Внутриклеточный и циркулирующий пулы протеасом: значение при злокачественных новообразованиях различных локализаций. *Сибирский онкологический журнал.* 2015; 6: 76–82.
7. Шашова Е.Е., Колегова Е.С., Завьялов А.А., Слонимская Е.М., Кондакова И.В. Изменение активности при метастазировании рака легкого и рака молочной железы человека. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2017; 163(4): 486–489.
8. Ding F., Xiao H., Wang M., Xie X., Hu F. The role of the ubiquitin-proteasome pathway in cancer development and treatment. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2014 Jun 1; 19: 886–95.
9. Geng Y., Zhou Y., Wu S., Hu Y., Lin K., Wang Y., Zheng Z., Wu W. Sulforaphane Induced Apoptosis via Promotion of Mitochondrial Fusion and ERK1/2-Mediated 26S Proteasome Degradation of Novel Pro-survival Bim and Upregulation of Bax in Human Non-Small Cell Lung Cancer Cells. *J Cancer.* 2017 Aug 2; 8(13): 2456–2470. doi: 10.7150/jca.19383.

ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИЕ ОПЕРАЦИИ ПРИ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОМ РАКЕ

В.Г. Собенин^{1,2}, А.В. Купчин^{1,2}, А.В. Пономарев^{1,2}, А.А. Кельн^{1,2,3}

Областной урологический центр МСЧ «Нефтяник», г. Тюмень, Россия¹

Государственное автономное учреждение здравоохранения Тюменской области Многопрофильный клинический медицинский центр «Медицинский город», г. Тюмень, Россия²

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень, Россия³

Аннотация

Введение. Рак почки составляет 4,7 % и является наиболее распространенным онкоурологическим злокачественным новообразованием. Для сохранения максимальной функции почки при органосохраняющем лечении используются различные методы, но техника резекции без пережатия почечной артерии и сохранение почечного кровотока во время всей операции являются основным направлением развития хирургической техники. **Материал и методы.** В 2014 году из 137 резекций почки только 35 (25 %) выполнено лапароскопическим и робот-ассистированным доступами. В 2017 г. из 107 операций 58 (53 %) малоинвазивных резекций почки, в 2018 г. – 73 (44 %) из 166 операций. Среди пациентов, оперированных по поводу опухоли почки в 2014 и 2018 гг., преобладали мужчины – 148 (65 %) и 178 (58 %) соответственно. Средний возраст пациентов составил 65,4 (39–81) года. **Результаты.** Среднее время РАРП в 2017 г. составило 114 (70–250) мин, в 2018 г. время операции сократилось до 107 (75–150) мин. Для выполнения ЛРП в 2017 г. потребовалось от 30 до 250 мин и в среднем составило 108 мин, в 2018 г. среднее время ЛРП стало меньше и составило 88 (43–180) мин. Средний объем

интраоперационной кровопотери для пациентов, перенесших РАРП, в 2017 г. составил 83 (50–200) мл, в 2018 г. объем кровопотери стал несколько больше – 105 (30–300) мл. Средний объем кровопотери при ЛРП в 2017 г. составил 108 (30–650) мл, в 2018 г. объем кровопотери так же стал больше, как и в группе РАРП, составив 132 (30–1300) мл. Время тепловой ишемии в группе РАРП составило в 2017 г. – 21,5 (0–45) мин, в 2018 г. время ишемии стало меньше, составив 19 (0–25) мин. В группе ЛРП в 2017 г. ВТИ в среднем 24 (0–30) мин, в 2018 г. данный показатель сократился до 16 (0–28) мин. **Выводы.** Совершенствование хирургических навыков и опыта органосохраняющих операций при опухоли почки позволяют увеличить долю резекций почек при лечении рака почки. Внедрение в практику техники нулевой ишемии позволяет сократить время ишемии почки при незначительно увеличенном объеме кровопотери.

Ключевые слова: рак почки, резекция почки, «Zero» ишемия.

ORGAN-PRESERVING OPERATIONS FOR RENAL CELL CARCINOMA

V.G. Sobenin^{1,2}, A.V. Kupchin^{1,2}, A.V. Ponomarev^{1,2}, A.A. Kelin^{1,2,3}

Regional Urological Center Health-care unit «Neflyanik», Tyumen, Russia¹

MCMC «Medical City», Tyumen, Russia²

Tyumen State Medical University of the Russia Ministry of Health, Tyumen, Russia³

Abstract

Kidney cancer is 4.7 % and is the most common oncurological malignancy. Various methods are used to preserve the maximum function of the kidney during organ-preserving treatment, but the technique of resection without clamping the renal artery and preserving the renal blood flow during the entire operation is the main direction of development of surgical technique. **Background.** Analyze the results in organ-preserving treatment of kidney cancer. **Material and Methods.** In 2014, out of 137 minimally invasive kidney resections, 35 (25 %) were laparoscopic kidney resections (LKR) and robot-associated kidney resections (RAKR). In 2017, out of 107 minimally invasive kidney resections, there were 58 (53 %), and in 2018, out of 166 resections, there were 73 (44 %). Among the patients operated on for kidney cancer in 2014 and 2018, men predominated, making up 148 (65 %) and 178 (58 %), respectively. The average age of patients was 65.4 (39–81) years. **Results.** In 2017, the average RAKR time was 114 (70–250) min., in 2018 – 107 (75–150) min. In 2017, the average LKR time was 180 (30 to 250 min.), in 2018 – 88 (43–180) min. The average volume of intraoperative blood loss after RAKR in 2017 was 83 ml (50–200) ml, in 2018 – 105 (30–300) ml. In 2017, the average volume of blood loss in LKR was 108 (30–650) ml, in 2018 – 132 (30–1300) ml. The time of thermal ischemia in the RAKR group was 21.5 (0–45) min. in 2017, 19 (0–25) min. in 2018, 24 (0–30) min. In the RAKR group in 2017, and this indicator decreased to 16 (0–28) min. in 2018. **Conclusion.** Improvement of surgical skills and experience in organ-preserving operations for kidney tumors can increase the proportion of kidney resections in the treatment of kidney cancer. The introduction of the zero ischemia technique into practice allows reducing the time of kidney ischemia with a not significantly increased volume of blood loss.

Key words: kidney cancer, kidney resection «Zero» ischemia.

Введение

В 2019 году показатель заболеваемости раком почки (РП) составил 8,6 на 100 000 населения. В структуре онкологических заболеваний данная локализация составляет 4,7 % и является одним из наиболее распространенных онкоурологических злокачественных новообразований. По уровню прироста заболеваемости РП у мужчин уступает только раку предстательной железы [1, 2]. Резекция почки является операцией выбора в лечении пациентов с опухолями почки, особенно в стадии T1a–б. Данная операция применяется в качестве стандартного лечения. В последнее время показания к РП были расширены, в рекомендации включены опухоли почки в стадиях T1_b/T2, если имеется неизменённая контралатеральная почка [3, 4]. Основными результатами резекции почки являются: негативный хирургический край, сохранение функции почек и любые повторные хирургические вмешательства и осложнения [5, 6]. Отрицательное влияние тепловой ишемии почки на послеоперационную функцию почки, а также внедрение новых технологий в хирургии привели к разработке различных операционных приемов – сокращение времени тепловой ишемии (ВТИ) почки и минимизация интраоперационной травмы. В последнее время урологи активно применяют технику нулевой («Zero») ишемии из-за ее потенциальных преимуществ в сохранении

функции почки. Впервые данный метод был описан I.S. Gill [6, 7]. Для сокращения ВТИ почки используются различные методы: селективная или суперселективная ишемия; техника резекции без пережатия почечной артерии, раннее восстановление почечного кровотока, пережатие почечной паренхимы, предоперационная суперселективная трансартериальная эмболизация опухоли (P-STE), последовательная шовная реноррафия (SPSR); использование радиочастотной абляции и различные комбинации перечисленных методов [8]. Общая цель всех методов состоит в том, чтобы обеспечить нулевую ишемию без пережатия почечных сосудов. Современные публикации результатов работы большинства урологических клиник показывают, что нет единого подхода при выборе доступа и путей сокращения времени ишемии в органосохраняющей хирургии рака почки [9–11].

Цель работы – изучить собственные результаты органосохраняющего лечения рака почки.

Материал и методы

В урологическом центре МСЧ «Нефтяник» в течение последних 5 лет увеличилась доля органосохраняющих операций, выполняемых малоинвазивным доступом (лапароскопическая и робот-ассистированная резекция почки) в лечении пациентов с опухолями почки в стадии T1. В 2014 году из 137 резекций почки только 35 (25 %) выполнено лапароскопическим и робот-ассистированным доступами. В 2017 г. из 107 операций – 58 (53 %) малоинвазивных резекций почки, в 2018 г. из 166 операций – 73 (44 %). Соотношение органосохраняющих и органосохраняющих операций в течение последних 4 лет остается на одном уровне: в 2014 г. из 229 операций на почке количество резекций составило 137 (59 %), в 2017 г. – 152 (51 %) из 297, в 2018 г. из 304 операций на почке по поводу опухоли было 166 (55 %) резекций почки.

Среди пациентов, оперированных по поводу опухоли почки в 2014 и 2018 гг., преобладали мужчины – 148 (65 %) и 178 (58 %) соответственно. Средний возраст больных в 2014 г. составил 64 (39–81) года и в 2018 г. – 67 лет (42–78 лет).

У пациентов, оперированных малоинвазивным доступом, стадия T1a была у 265 (87 %), T1b – у 39 (13 %) пациентов.

Среди пациентов, перенесших лапароскопическую резекцию почки (ЛРП) в 2017 г., средний размер опухоли составил 29 (7–60) мм, в 2018 г. – 29 (10–50) мм, в группе робот-ассистированной резекции почки (РАРП) данный показатель значимо не отличался и составил в 2017 г. – 28 мм (20–47), в 2018 г. – 29 (12–41) мм.

Лапароскопическая резекция почки выполнялась на оборудовании Karl storz и Olympus под общим наркозом трансперитонеальным или забрюшинным доступами. Для РАРП применяли роботическую систему daVinci Si и выполняли операции трансперитонеальным доступом.

Результаты

Результаты оценены по времени операции, объему кровопотери, времени тепловой ишемии, числу операций, выполненных без ишемии почки, и количеству осложнений. Среднее время РАРП в 2017 г. составило 114 (70–250) мин, в 2018 г. время операции сократилось до 107 (75–150) мин. Для выполнения ЛРП в 2017 г. потребовалось от 30 до 250 мин – в среднем 108 мин, в 2018 г. среднее время ЛРП стало меньше и составило 88 (43–180) мин. Средний объем интраоперационной кровопотери для пациентов, перенесших РАРП в 2017 г., составил 83 (50–200) мл, в 2018 г. объем кровопотери стал несколько больше – 105 (30–300) мл. Средний объем кровопотери при ЛРП в 2017 г. составил 108 (30–650) мл, в 2018 г. объем кровопотери так же стал больше, как и в группе РАРП, – 132 (30–1300) мл.

В течение последних лет обращает на себя внимание сокращение ВТИ при малоинвазивных органосохраняющих операциях по поводу рака почки. Время тепловой ишемии в группе РАРП составило в 2017 г. – 21,5 (0–45) мин, в 2018 г. время ишемии стало меньше, составив 19 (0–25) мин. В группе ЛРП в 2017 г. ВТИ в среднем было 24 (0–30) мин, в 2018 г. данный показатель сократился до 16 (0–28) мин.

Сокращение ВТИ обусловлено активным внедрением в практику малоинвазивных органосохраняющих операций без остановки кровотока в почке. Так, в 2017 г. выполнено 5 (12 %) ЛРП в условиях “Zero” ишемии, в 2018 г. данный показатель составил 20 (27 %) случаев. Среди пациентов, перенесших РАРП, операция в условиях “Zero” ишемии в 2017 г. выполнена в 2 (13 %), а в 2018 г. – в 3 (23 %) случаях.

После малоинвазивной резекции почки пациенты выписывались из стационара на 4–5-е сут. Среди осложнений по классификации Clavien – Dindo 3в степени отмечен только один случай ЛРП в 2017 г., потребовавший релапароскопии по причине послеоперационного

кровотечения. В 2018 г. осложнения по классификации Clavien –Dindo 3в степени и выше не зарегистрированы.

Выводы

Совершенствование хирургических навыков и опыта органосохраняющих операций при опухоли почки позволяет увеличить долю резекций почек в хирургическом лечении рака почки и сократить время операции. Внедрение в практику техники “Zero” ишемии позволяет сократить время тепловой ишемии почки при незначительно увеличенном объеме кровопотери. Частота осложнений при активном внедрении малоинвазивного лечения опухоли почки сохраняется на низком уровне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М., 2016. 250 с.
2. Кельн А.А., Лыков А.В., Купчин А.В. Билатеральный почечно-клеточный рак. Тюменский медицинский журнал. 2015; 4: 46–48.
3. Mir M.C., Ercole C., Takagi T., Zhang Z., Velet L., Remer E.M., Demirjian S., Campbell S.C. Decline in renal function after partial nephrectomy: etiology and prevention. J Urol. 2015 Jun; 193(6): 1889–98. doi: 10.1016/j.juro.2015.01.093.
4. Зырянов А.В., Кельн А.А., Суриков А.С., Пономарев А.В., Купчин А.В., Лебедев А.В., Понов И.Б. Диагностическая ценность повторной биопсии предстательной железы под fusion-контролем. Онкоурология. 2017; 3: 71–76.
5. Hung A.J., Cai J., Simmons M.N., Gill I.S. “Trifecta” in partial nephrectomy. J Urol. 2013 Jan; 189(1): 36–42. doi: 10.1016/j.juro.2012.09.042.
6. Gill I.S., Eisenberg M.S., Aron M., Berger A., Ukimura O., Patil M.B., Campese V., Thangathurai D., Desai M.M. «Zero ischemia» partial nephrectomy: novel laparoscopic and robotic technique. Eur Urol. 2011 Jan; 59(1): 128–34. doi: 10.1016/j.euro.2010.10.002.
7. Hou W., Ji Z. Achieving zero ischemia in minimally invasive partial nephrectomy surgery. Int J Surg. 2015 Jun; 18: 48–54. doi: 10.1016/j.ijssu.2015.04.046.
8. Кельн А.А. Анализ результатов радикального лечения пациентов с мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря. Университетская медицина Урала. 2016; 2(5): 27–29.
9. Журавлев В.Н., Зырянов А.В., Баженов И.В., Пономарев А.В. Сравнение результатов резекции почки из малоинвазивных и традиционных доступов. Медицинский вестник Башкортостана. 2013; 2: 58–62.
10. Кельн А.А., Лыков А.В. Экстраперитонеальная ортотопическая илеоцистопластика. Медицинский вестник Башкортостана. 2015; 10(3): 160–162.
11. Peyronnet B., Seisen T., Oger E., Vaessen C., Grassano Y., Benoit T., Carrouget J., Pradère B., Khene Z., Giwerc A., Mathieu R., Beauval J.B., Nouhaud F.X., Bigot P., Doumerc N., Bernhard J.C., Mejean A., Patard J.J., Shariat S., Roupert M., Bensalah K.; French Committee of Urologic Oncology (CCAFU). Comparison of 1800 robotic and open partial nephrectomies for renal tumors. Ann Surg. Oncol. 2016; 23: 4277–83.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕСТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ САРКОМ ЮИНГА И ПРИМИТИВНЫХ НЕЙРОЭКТОДЕРМАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

К.В. Субботина

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Саркома Юинга является одной из самых агрессивных злокачественных опухолей, поражающих костную ткань. Точная диагностика с помощью введения в практику современных методов играет важную роль в улучшении показателей излечения и выживаемости при саркомах. Нами была поставлена задача разработать и исследовать широкодоступный молекулярно-генетический метод диагностики саркомы Юинга и примитивных нейроэктодермальных опухолей, основанный на обнаружении химерных транскриптов с помощью Real-Time PCR.

Ключевые слова: саркома Юинга, диагностика, FISH, Real-Time PCR.

THE STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF THE USE OF MOLECULAR GENETIC TESTS FOR THE DIAGNOSIS OF EWING'S SARCOMA AND PRIMITIVE NEUROECTODERMAL TUMORS

K.V. Subbotina

Institute of chemical biology and fundamental medicine Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Abstract

Ewing's sarcoma is one of the most aggressive malignant tumors affecting bone tissue. Accurate diagnosis by introducing modern methods into practice plays an important role in improving cure rates and survival in sarcomas. We are developing and researching a widely available molecular genetic method for the diagnosis of Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumors based on the detection of chimeric transcripts using real-time PCR.

Key words: Ewing sarcoma, diagnostics, FISH, Real-Time PCR.

Саркома Юинга (СЮ) была описана доктором Джеймсом Юингом – первым профессором патологии Корнельского университета в 1921 г. [1]. Она представляет собой остеолитическое злокачественное новообразование, которое состоит из разных вариантов соединительной ткани и имеет разные степени дифференцировки. По данным ВОЗ, СЮ является наиболее распространенной детской опухолью костей с агрессивным поведением и быстрым распространением метастазов, которые локализуются в костном мозге, легких, плевре, внутренних органах и забрюшинном пространстве [2]. Опухоль преимущественно возникает у детей и подростков (в основном в возрасте 10–15 лет), а также может встречаться у людей старшего возраста, но значительно реже. СЮ относят к опухолям семейства саркомы Юинга (ОССЮ). Также к этому семейству следует отнести и высокозлокачественные примитивные нейроэктодермальные опухоли (PNET), которые поражают как мягкие ткани, так и кости [3]. Все ОССЮ имеют схожий нейрогенный фенотип и возникают вследствие одной и той же хромосомной транслокации, чаще между 11-й и 22-й хромосомами (85 %), в результате которой с перестроенных генов *EWSR1* и *FLI1* образуется химерный транскрипт [4]. Оставшиеся 10–15 % случаев занимают альтернативные транслокации, приводящие к слиянию гена *EWSR1* с другими факторами транскрипции ETS, такими как *ERG*, *ETV1*, *ATF1* и *CREB1* и др. Далее с них синтезируется химерный онкопротеин, который экспрессируется во всех опухолевых клетках и поддерживает их выживание. Химерный белок обладает ДНК-связывающей функцией белка *FLI1*, а также функцией регуляции транскрипции белка *EWSR1*. Считается, что онкопротеин бесконтрольно включает и выключает транскрипцию различных генов [5]. Это нарушение регуляции транскрипции приводит к неконтролируемому росту, пролиферации, аномальному созреванию и выживанию клеток, которые в дальнейшем приводят к развитию опухоли. СЮ характеризуется патогномоничной для данного заболевания хромосомной транслокацией. Обнаружение одного из нескольких характерных слияний, чаще *всею EWSR1-FLI1*, является золотым стандартом диагностики СЮ. В основном данное изменение генома детектируется с помощью метода FISH гибридизации [6]. Чтобы повысить информативность метода, требуется проведение множественных гибридизаций, поэтому к одному из его недостатков относится моноплексность. Кроме того, FISH метод игнорирует некоторые виды мутаций и поломок генетического кода, что может стать важным упущением в диагностике. Чтобы не допустить ошибок в постановке диагноза, необходимо использовать более точные методы, например молекулярно-генетические тесты. Эти методы обладают мультиплексностью, то есть они способны проводить тестирование одновременно нескольких перестроек во время одного теста. Таким образом, становится возможным выявлять сразу несколько специфических для опухолей транслокаций. Одним из таких методов является Real-Time PCR анализ. Он является эффективным инструментом диагностики опухолей с хромосомными транслокациями. Метод Real-Time PCR широко применяется в клинической практике, доступен во всех лабораториях, проводит исследования минимальной метастатической патологии и оценивает прогностическую значимость подтипов химерных транскриптов даже при отсутствии свежей опухолевой ткани. Таким образом, целью нашей работы стала разработка

метода диагностики СЮ и PNET на основе выявления химерных транскриптов с помощью Real-Time PCR, адаптированного для анализа фиксированной ткани в парафиновых блоках, и дальнейшее исследование его эффективности.

Материал и методы

Нами была проанализирована информация о спектре химерных транскриптов, а также о частоте их встречаемости при различных формах сарком человека в базе данных COSMIC [7]. С помощью программы Vector NTI был проведен дизайн олигонуклеотидов и флюоресцентно меченных проб для выявления частых транскриптов, имеющих минимальный размер амплифицируемого фрагмента кДНК. Проведено клонирование участков, выбранных олигонуклеотидных последовательностей в плазмидные вектора pBlueScript II SK(+) с дальнейшей возможностью синтеза РНК транскриптов для использования в качестве контрольных ДНК и РНК. Далее проводилась оптимизация метода выделения мРНК для качественного и количественного увеличения выхода кДНК на 30 образцах колоректального рака (КРР), 20 образцах немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). В процессе оптимизации использовались три метода: № 1 (гидролиз белков с помощью Proteinase K с последующим добавлением ДНК-азы и спиртовым осаждением), № 2 (гидролиз белков с помощью Proteinase K, экстракция белков фенол-хлороформом с последующим спиртовым осаждением), № 3 (солюбилизация белков и ДНК в концентрированном растворе хаотропного реагента (гуанидин-изотиоционат) с последующим спиртовым осаждением). В ходе дальнейшего исследования анализировались 10 образцов РНК, выделенные из фиксированной ткани в парафиновых блоках СЮ. Клинический материал был предоставлен коллегами из ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Петрова (Санкт-Петербург), МНИОИ им. П.А. Герцена (Москва). Уровень экспрессии исследуемых слияний генов определялся в ходе проведения real-time PCR на амплификаторах LightCycler 96 (Roche, Швейцария) и Cfx 96(Bio-Rad). В качестве контрольных образцов были использованы плазмиды, сконструированные в нашей лаборатории «Фармакогеномики» – sdw 120, sdw 129, sdw 130.

Результаты

Обнаружена высокая частота образования химерных транскриптов СЮ вследствие слияний гена EWSR1 с генами FLI1 (60,46 %), ATF1 (8,32 %), ERG (6,5 %), NRA3 (3,37 %), CREB1 (1,15 %). Проведён дизайн специфичных праймеров, зондов для выявления наиболее частых перестроек EWSR1-FLI1, EWSR1-ATF1 и SS18-SSX1 и контрольных фрагментов для Real-Time PCR. В процессе оптимизации был определен наилучший протокол выделения тотальной РНК- №2, на основе гидролиза белков с помощью Proteinase K с последующей экстракцией белков фенол-хлороформом, который использовался в дальнейшем. В анализируемых 10 FFPE образцах СЮ, предоставленных коллегами из МНИОИ им. П.А. Герцена (Москва), была найдена перестройка EWSR1 – ATF1. Обнаружение такого малого количества перестроек, по-видимому, объясняется небольшим объемом выборки, низким качеством FFPE блоков, изначально неправильным патологоанатомическим диагнозом.

Выводы

1. В результате анализа базы данных Cosmic и литературы было выяснено, что наиболее часто встречающимися транскриптами являются EWSR1-FLI1 (60,46 %), EWSR1-ATF1 (8,32 %), EWSR1-ERG (5,22 %), EWSR1-NRA3 (2,30 %), EWSR1-CREB1 (1,15 %), SS18-SSX1, SS18-SSX2. Исходя из последовательностей всех известных перестроек, были определены последовательности для дизайна праймеров и зондов на 5'- и 3'- концах генов.

2. Произведён дизайн специфичных праймеров, зондов для выявления наиболее частых перестроек EWSR1-FLI1, EWSR1-ATF1 и контрольных фрагментов для Real-Time PCR, которые были предоставлены для дальнейшего получения синтетических фрагментов и плазмид с этими фрагментами.

3. После проведенной оптимизации метода выделения РНК из FFPE образцов КРР и НМРЛ с помощью системы BCL-XL удалось обнаружить, что метод на основе гидролиза белков с помощью Proteinase K с последующей экстракцией белков фенол-хлороформом показал значительно лучший результат. Этот метод требует проверки в ходе дальнейшей работы при валидации на большем объеме выборки.

4. При проверке контрольных систем обнаружилось, что контроль Sdw 129 работает с системой 3 (EWSR1- FLI1), контроль Sdw 130 работает с системой 4 (EWSR1- ATF1), контроль Sdw 120 не работает ни с одной из систем, что может быть связано с ошибками в процессе дизайна контроля или же с нарушением процесса клонирования.

Далее планируется увеличение выборки пациентов, анализ наличия выбранных типов химерных генов в предоставленных коллегами из ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова

(Санкт-Петербург), МНИОИ им. П.А. Герцена (Москва) клинических образцах (FFPE блоков) с наличием классического патологоанатомического заключения – саркома Юинга, PNET; планируется дальнейший анализ специфичности и чувствительности разработанного теста при условии достаточной репрезентативности формируемой выборки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Scott E. Ewing Sarcoma and the History of Similar and Possibly Related Small Round Cell Tumors: From Whence Have We Come and Where are We Going. *Advances in Anatomic Pathology*. 2018; 1(20): 25–37.
2. Lin J.K., Liang J. Sinonasal Ewing sarcoma: a case report and literature review. *Perm J*. 2018; 22: 17086. doi: 10.7812/TPP/17-086.
3. Семёнова А.И. Саркома Юинга: характеристика заболевания, особенности диагностики, лечебная тактика. *Практическая онкология*. 2015; 11(1): 45–50.
4. Gamberi G., Cocchi S., Benini S., Magagnoli G., Morandi L., Kreshak J., Gambarotti M., Picci P., Zanella L., Alberghini M. Molecular Diagnosis in Ewing Family Tumors. *J Mol Diagn*. 2011 May; 13(3): 313–24. doi: 10.1016/j.jmoldx.2011.01.004.
5. Keir A.R. The Biology of Ewing Sarcoma. *ISRN Oncology*. 2015; 20: 17.
6. Yamaguchi U., Hasegawa T., Morimoto Y., Tateishi U., Endo M., Nakatani F., Kawai A., Chuman H., Beppu Y., Endo M., Kurotaki H., Furuta K. practical approach to the clinical diagnosis of Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumour and other small round cell tumours sharing EWS rearrangement using new fluorescence in situ hybridisation probes for EWSR1 on formalin fixed, paraffin wax embedded tissue. *Clinical Pathology*. 2015; 4: 18–21.
7. Catalog of Somatic Mutations in Cancer, 2020 [Internet]. <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>.

КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ДЕНОСУМАБОМ У ПАЦИЕНТОВ С ГИГАНТОКЛЕТОЧНОЙ ОПУХОЛЬЮ КОСТИ

**С.А. Табакаев, И.Г. Фролова, Е.М. Слонимская, С.А. Величко,
П.К. Ситников, А.В. Богоутдинова, И.И. Анисеня, Л.С. Сапунова**

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

Аннотация

Существуют различные методики денситометрии костных структур. Однако не все они применимы для оценки динамики изменения опухоли кости на этапах консервативной терапии. В исследование было включено 15 пациентов с гигантоклеточной опухолью кости до применения таргетного препарата деносумаб и на этапах реализации терапии через 3, 6 курсов. Данным пациентам была проведена визуальная оценка лучевых методов исследования и количественная компьютерная томография. Показано, что на основе данных лучевых методов исследования можно косвенно судить об ответе гигантоклеточной опухоли кости на проводимую таргетную терапию.

Ключевые слова: денситометрия, КТ-денситометрия, гигантоклеточная опухоль кости, деносумаб.

COMPUTER TOMOGRAPHY IN ASSESSING THE EFFECTIVENESS OF DENOSUMAB TARGETED THERAPY IN PATIENTS WITH A GIANT CELL TUMOR OF BONE

**S.A.Tabakaev, I.G. Frolova, E.M. Slonimskaja, S.A. Velichko,
P.K. Sitnikov, A.V. Bogoutdinova, I.I. Anisenja, L.S. Sapunova**

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

Abstract

There are various bone densitometry techniques. However, not all of them are applicable to assess the dynamics of changes in bone tumors during the stages of conservative therapy. The study included 10 patients with a giant cell tumor of bone before using the targeted drug denosumab and at the implementation stages of therapy through 3, 6 courses. These patients were given a visual assessment of radiation research

methods and quantitative computer tomography. It is shown that on the basis of the data of radiation methods of research, one can indirectly judge the response of a giant cell tumor of bone to the targeted therapy.

Key words: densitometry, CT-densitometry, giant cell tumor of bone, denosumab.

Актуальность

По данным литературы, имеются различные методы денситометрии костной ткани: двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, количественная компьютерная томография, двухэнергетическая КТ, моноэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, ультразвуковая остеоденситометрия. При этом стандартные (автоматические) программы для денситометрии, рекомендованные Международным обществом по клинической денситометрии ISCD, исследуют поясничный отдел позвоночника, одновременно два проксимальных отдела бедренных костей, композиционный состав тела позвонка, латеральную проекцию позвоночника, кости предплечья [1]. Полученные результаты пациента сравниваются с референтной базой, заложенной в денситометрическую систему фирмой-производителем, содержащую нормативные показатели по полу и возрасту, которые используются для сравнения с ними показателей обследуемого пациента [2]. Для оценки же изменений в опухоли под воздействием консервативной терапии разработаны критерии RECIST1, RECIST1.1, SNOI, основанные на измерении как размеров, так и плотности образования.

Гигантоклеточная опухоль кости (ГКО) является наиболее часто встречаемой доброкачественной первичной костной опухолью, частота ее встречаемости достигает 20 % [3, 4]. В последнее время для лечения ГКО появился новый генноинженерный препарат деносуаб, который обладает способностью ингибировать образование, активацию и продолжительность существования остеокластов [5], тем самым замедлить прогрессирование опухолевого процесса. В настоящее время нет разработанных методик динамического наблюдения за пациентами с гигантоклеточной опухолью кости с помощью лучевых методов исследования. Наиболее информативным методом, позволяющим оценить костную структуру, является рентгеновская компьютерная томография. Однако при визуальном анализе данных КТ порой невозможно однозначно высказаться о динамике изменений в кости.

Цель исследования – изучить возможности КТ-денситометрии у пациентов с гигантоклеточной опухолью кости для оценки динамики изменений при применении таргетного препарата деносуаб.

Материал и методы

Материалом для исследования явились данные результатов обследования 15 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом гигантоклеточной опухоли, получающих комбинированное лечение таргетным препаратом деносуаб с последующим хирургическим этапом. Исследования проводились до получения препарата, через 3 и 6 курсов лечения. Пациенты находились в возрастном интервале от 23 до 58 лет, средний возраст составил $40,5 \pm 3$ года. Все исследования проводились на мультиспиральном компьютерном томографе Somatom Emotion 6 «Siemens». Зонами исследования были проксимальный, средний и дистальный отделы опухоли с определением денситометрической плотности. Базовые точки располагались в каждой исследуемой зоне в следующем порядке: на уровне самой передней точки опухоли в аксиальной проекции, на уровне самой задней точки опухоли и 2 промежуточные точки в самых латеральных отделах опухоли. Путем построения закрытых многоугольников ROI через эти точки будет исследована средняя плотность и среднее отклонение плотности внутри многоугольника на указанных уровнях опухоли.

Результаты

При визуальной оценке определялось усиление неоднородности опухоли за счет появления участков повышенной плотности, нарастания зоны остеосклероза вокруг опухоли.

После 3 курсов при КТ-денситометрии определялось увеличение средней плотности в пределах от 9,1 до 13,7 %, среднее отклонение плотности – от 20,1 до 22,4 %. После 6 курсов отмечено более значительное повышение плотности – от 35,8 до 44,9 % и среднего отклонения – от 12,6 до 20,4 % соответственно.

Выводы

Таким образом, по данным КТ-денситометрии можно косвенно судить об ответе гигантоклеточной опухоли кости на проводимую таргетную терапию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ларионова Т.А., Сазонова Н.В., Овчинников Е.Н. Рентгеновская абсорбциометрия в анализе минеральной плотности костной ткани у ортопедотравматологических больных. *Гений ортопедии*. 2009; 3: 98–102.

2. Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш. Клиническое значение и методы определения снижения минеральной плотности кости у детей. Практическая медицина. 2016;8(100): 87–90.

3. Huh A., Vilelli N., Martinez D., Ting J., Birhiray R., Payner T.D., Kulwin C.G. Denosumab Treatment for a Residual Giant Cell Tumor of the Clivus: A Case Report and Review of the Literature. World Neurosurg. 2018 Oct; 118: 98–101. doi: 10.1016/j.wneu.2018.06.242.

4. Блудов А.Б., Неред А.С., Замогильная Я.А., Кочергина Н.В. Гигантоклеточная опухоль кости. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2014; 1: 16–34.

5. Справочник ВИДАЛЬ. Лекарственные препараты в России, 2013. М.: АстраФармСервис. 1640 с.

ИСТОЧНИК БИОМАТЕРИАЛА ДЛЯ *IN VIVO*-ПОДОБНОЙ МОДЕЛИ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

С.В. Тимофеева, С.Ю. Филиппова, И.В. Межевова, Т.В. Шамова,
А.О. Ситковская

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Рассмотрен способ создания первичных клеточных культур в качестве источника биоматериала для 3D-биопечати *in vivo*-подобной модели глиальных опухолей. Первичную культуру создавали из глиальной опухолевой ткани пациентов с введенной предоперационно 5-аминолевулиновой кислотой (5-АЛА). **Целью исследования** были получение жизнеспособной ткани глиальной опухоли с применением 5-АЛА и создание стабильной первичной клеточной линии для 3D-биопечати *in vivo*-подобной модели глиальных опухолей. Для получения первичной глиальной клеточной культуры были использованы образцы ткани опухоли пациентов с глиобластомой и анапластической астроцитомой.

Ключевые слова: первичные культуры, глиома, *in vivo*-подобная модель, 5-АЛА, 3D-биопечать.

BIOMATERIAL SOURCE FOR A GLIAL TUMOR *IN VIVO*-LIKE MODEL

S.V. Timofeeva, S.Yu. Filippova, I.V. Mezhevova, T.V. Shamova,
A.O. Sitkovskaya

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

The method of creating primary cell cultures as a biomaterial source for 3D bioprinting a glial *in vivo*-like model is considered. The primary culture was obtained from the patient's glial tumor tissue with previously operative administered 5-aminolevulinic acid (5-ALA). 5-ALA increases the fluorescence contrast between tumor and surrounding tissue, however, to date, the effect of 5-ALA on *in vitro* cells is unknown. The aim of our study was to obtain viable glial tumor tissue using 5-ALA and create a stable primary cell line for 3D bioprinting in an *in vivo*-like model of glial tumors. Tumor tissue samples of patients with glioblastoma and anaplastic astrocytoma were used to obtain the primary glial cell culture.

Key words: primary cell culture, glioma, *in vivo*-like model, 5-ALA, 3D-bioprinting.

Выбор источника клеток для 3D-биопечати *in vivo*-подобной модели глиальных опухолей имеет решающее значение и должен учитывать способность к пролиферации и стабильному метаболизму [1]. Глиобластомы имеют инфильтративный характер роста, в связи с чем не всегда возможно определить границы опухоли. Одним из стандартных методов интраоперационной флуоресцентной навигации опухоли является введение предоперационно 5-АЛК [2], который повышает уровень протопорфирина IX в опухолевых клетках в течение нескольких часов. Однако влияние красителя на клетки *in vitro* не известно.

Целью исследования были получение жизнеспособной ткани глиальной опухоли с применением 5-АЛА и создание стабильной первичной клеточной линии для использования в 3D-биопечати.

Материал и методы

Опухолевая ткань была получена от пациентов с гистологически подтвержденным диагнозом глиобластома во время оперативного вмешательства с использованием визуального контроля Orp1 Pentero™ Blue E400 и 5-ALA.

Материал дезагрегировали на BD Machine с Medicons 50 мкм (BD). Клетки глиобластомы культивировали в среде DMEM/F12 с L-глутамином (Gibco), содержащей 10 % фетальной сыворотки теленка (Биолот, Россия), 1 % незаменимых аминокислот (NEAA, Sigma-Aldrich) и 0,5 % пенициллин-стрептомицина (Биолот), при 37 °C [3].

Иммуногистохимический анализ был выполнен на глиальных клеточных линиях с использованием антител к глиальному фибриллярному кислом белку (GFAP) и индексу пролиферации (Ki-67). Микросателлитный анализ проводили на контрольных образцах ткани в формалин-фиксированных парафиновых блоках (ФФПБ) и первичных культурах глиальных опухолей пациентов с использованием D2S123, D17S250, D5S346 методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР). Для детекции продуктов амплификации использовали электрофорез в капиллярном геле (Applied Biosystems, CA, USA) в соответствии с протоколами производителя. Полученные данные анализировали с помощью программного обеспечения GeneScan Analysis и Genotyper Software от Applied Biosystems.

Результаты

На протяжении культурального периода (10 пассажей) не наблюдалось явно выраженных морфологических изменений в клетках, что косвенно свидетельствует об отсутствии угнетения из-за увеличения в них протопорфирина IX. Позитивная экспрессия GFAP на клеточных отростках звездообразной формы была четко визуализирована, что указывало на морфологическую особенность глиальных опухолей. Индекс пролиферации Ki-67 составил 70 %. ПЦР-амплификация D2S123, D17S250 и D5S346 была проведена для первичных культур глиальных опухолей в разных пассажах по сравнению с контрольными образцами ткани в ФФПБ. Изменения наблюдались в локусе D17S250 (148–148/148–152) для линии первичной клеточной культуры анапластической астроцитомы после шестого пассажа.

Выводы

Накопление порфиринов из 5-ALA в глиальных опухолевых клетках не препятствует созданию клеточной культуры *in vitro* из ткани опухоли. Анапластическая астроцитомы характеризуется высоким потенциалом малигнизации. Изменения генотипа, вероятно, связаны с процессом малигнизации опухолевых клеток *in vitro*. В то же время глиобластома характеризуется наличием опухолевых клеток в терминальной стадии. Предположительно по этой причине при длительном культивировании изменений в генотипе не наблюдалось. Таким образом, материал, полученный во время резекции с использованием 5-ALA, является надежным источником для получения стабильных клеточных линий глиальных опухолей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zeilinger K., Freyer N., Damm G., Seehofer D., Knöspel F. Cell sources for in vitro human liver cell culture models. *Exp Biol Med* (Maywood). 2016 Sep; 241(15): 1684–98. doi: 10.1177/1535370216657448.
2. Nabavi A., Thurm H., Zountas B., Pietsch T., Lanfermann H., Pichlmeier U., Mehdorn M.; 5-ALA Recurrent Glioma Study Group. Five-aminolevulinic acid for fluorescence-guided resection of recurrent malignant gliomas: a phase ii study. *Neurosurgery*. 2009 Dec; 65(6): 10706; discussion 1076–7. doi: 10.1227/01.NEU.0000360128.03597.C7.
3. Ignatov S.N., Kit O., Sitkovskaya A., Rostorguev E., Kuznetsova N., Mezheva I., Karnaukhov N., Nistratova O., Filippova S. The patient derived material obtained during tumor resection with used block Blue E400 of microscope OmniPainter™ and 5-aminolevulinic acid (SALA) proved to be a reliable source of low-differentiated astrocytic tumors primary cell culture. *GLIA*. 2019; 67(Issue S1): 716–717.

РОЛЬ СЦИНТИГРАФИИ В ДИАГНОСТИКЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С МЕТАСТАЗАМИ В ЛЕГКИЕ

К.А. Толпейкина

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины», г. Челябинск, Россия

Аннотация

Дифференцированный рак щитовидной железы (папиллярный и фолликулярный) является одним из наиболее благоприятных онкологических заболеваний, при котором летальные случаи фиксируют достаточно редко. Вместе с тем в ряде ситуаций у больных могут развиваться отдаленные метастазы

(в легкие, кости, мозг и др.), которые существенно осложняют жизнь пациента и зачастую являются причиной смерти. Самой частой мишенью метастазирования дифференцированного рака щитовидной железы являются легкие. При этом значительно ухудшаются прогноз и продолжительность жизни больных. В США приблизительно 1500 пациентов в год умирают от папиллярного рака щитовидной железы, чаще всего от дыхательной недостаточности, причиной которой служат легочные метастазы. Радиойодтерапия является методом выбора при лечении пациентов с дифференцированным раком щитовидной железы с метастазами в легкие. Чаще всего заболевание протекает бессимптомно, на ранних этапах метастазы – милиарные, по данным компьютерной томографии трактуются как пневмофиброз, «мелкоузелковые» образования в легких, крупные очаги сочетаются с множественными мелкими, диффузным поражением. Традиционно лучевые методы диагностики не обладают 100 % информативностью при обнаружении метастазов дифференцированного рака щитовидной железы, несмотря на широкое использование все более совершенной диагностической аппаратуры. На сложности идентификации метастазов в легкие при первой скintiграфии всего тела указывают многие авторы. Поэтому некоторые из них предлагают дополнительно проводить больному однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (SPECT - single photon emission computed tomography) в ситуации, когда остаточной ткани достаточно много. Так, при выполнении посттерапевтической однофотонной компьютерной томографии в 20 % случаев могут выявляться скрытые очаги опухоли, что является показанием для повторного хирургического лечения или продолжения радиойодтерапии. В зависимости от результатов сканирования с радиоактивным йодом метастазы классифицируют как накапливающие этот изотоп (в литературе фигурируют и другие термины: функционально-активные или радиойод-чувствительные) и не накапливающие его (функционально неактивные, радиойод-нечувствительные, радиойод-рефрактерные или радиойод-резистентные). Такое распределение является очень важным, поскольку определяет подход к лечению пациентов и прогноз заболевания.

Ключевые слова: дифференцированный рак щитовидной железы, посттерапевтическая однофотонная эмиссионная томография.

THE ROLE OF POST-THERAPEUTIC SINGLE-PHOTON COMPUTED TOMOGRAPHY IN THE DIAGNOSIS OF UNDIFFERENTIATED THYROID CANCER WITH METASTASES TO THE LUNGS

K.A.Tolpeykina

State Budgetary Institution of Healthcare «Chelyabinsk Regional Clinical Center Oncology and Nuclear Medicine», Chelyabinsk, Russia

Abstract

Differentiated thyroid cancer (papillary and follicular) is one of the most favorable oncological diseases, in which fatal cases are recorded quite rarely. At the same time, in a number of situations, patients may develop distant metastases (in the lungs, bones, brain, etc.), which significantly complicate the patient's life and, often, are the cause of death. The most common target of metastasis of differentiated thyroid cancer is the lungs. This significantly worsens the prognosis and life expectancy of patients. In the United States, approximately 1,500 patients a year die from papillary thyroid cancer, most often from respiratory failure caused by pulmonary metastases. Radioiodine therapy is the method of choice in the treatment of patients with differentiated thyroid cancer with metastases in the lungs. Most often, the disease is asymptomatic, at the early stages of metastasis – miliary, according to computer tomography, are treated as pneumofibrosis, «small-nodular» formations in the lungs, large foci are combined with multiple small, diffuse lesions. Traditionally, radiation diagnostic methods are not 100 % informative in detecting metastases of differentiated thyroid cancer, despite the widespread use of increasingly advanced diagnostic equipment. Many authors point out the difficulty of identifying metastases in the lungs during the first scintiography of the entire body. Therefore, some of them offer to additionally perform a single photon emission computed tomography (SPECT – single photon emission computed tomography) in a situation where there is a lot of residual tissue. Thus, when performing post-therapeutic single-photon computed tomography, hidden tumor foci can be detected in 20 % of cases, which is an indication for repeated surgical treatment or continuation of radioiodotherapy. Depending on the results of scanning with radioactive iodine, metastases are classified as accumulating this isotope (in the literature, other terms appear: functionally active or radioiod-sensitive) and not accumulating it (functionally inactive, radioiod insensitive, radioiod-refractory or radioiod-resistant). This distribution is very important because it determines the approach to treatment of patients and the prognosis of the disease.

Key words: differentiated thyroid cancer, post-therapeutic single-photon emission tomography.

Актуальность

Самой частой мишенью метастазирования дифференцированного рака щитовидной железы (ДРЩЖ) являются легкие. При этом значительно ухудшаются прогноз и продолжительность жизни больных. В США приблизительно 1500 пациентов в год умирают от папиллярного рака щитовидной железы (ПРЩЖ), чаще всего от дыхательной недостаточности, причиной которой служат легочные метастазы [1]. Традиционно лучевые методы диагностики не обладают 100 % информативностью при обнаружении метастазов дифференцированного рака щитовидной железы. В работе С. Durante et al., (2006), включающей 223 пациента, было установлено, что при проведении обзорной рентгенографии органов грудной клетки у больных с ДРЩЖ с уже диагностированными метастазами в легкие в трети случаев результат исследования был отрицательный. Микрометастазы выявлены у 29 %, крупные очаги – у 34 % [2]. Посттерапевтическая однофотонная эмиссионная томография (ОФЭКТ), по данным исследования С. Durante et al., была положительной в зависимости: от возраста – у пациентов моложе 40 лет – в 90 % случаев, старше 40 – в 56 %; от гистологического типа опухоли – до 80 % с классическим папиллярным раком; <50 % – у пациентов с низкодифференцированным, инвазивным фолликулярным, агрессивным подтипом папиллярного, Гюртле-клеточным типом; в 95 % случаев – с микрометастазами; в 37 % – с крупными очагами [2]. В исследовании С. Durante et al., включающем 444 пациента, чувствительность ОФЭКТ составила 68 % [2].

Цель исследования – улучшение качества диагностики и лечения больных дифференцированным раком щитовидной железы с метастазами в легкие.

Материал и методы

Проведен ретроспективный анализ 90 пациентов с ДРЩЖ с метастазами в легкие, получавших РЙТ в ГБУЗ «ЧОКЦО и ЯМ» с 2011 по 2019 г. Из них 16 (17,77 %) мужчин и 74 (82,22 %) женщины. В возрасте до 45 лет было 30 (33,33 %) больных, от 45 до 54 лет – 20 (22,22 %), от 55 и старше – 40 (44,44 %). Папиллярный вариант опухоли наблюдался у 77 (85,55 %), у 13 (14,44 %) был гистологически верифицирован фолликулярный тип. Перед проведением РЙТ 90 (100 %) пациентам была выполнена обзорная рентгенография органов грудной клетки (РОГК); компьютерная томография (КТ) – 47 (52,2 %), позитронно-эмиссионная томография/компьютерная томография (ПЭТ/КТ) – 30 (33,33 %) больным. Метастазы только в легкие диагностированы у 76 (84,44 %) исследуемых, сочетанное поражение легких и других органов – у 14 (15,5 %). У 8 (8,88 %) больных были повышены антитела к тиреоглобулину, уровень тиреоглобулина (ТГ) оценен у 82 (91,11 %) больных. Всем пациентам была выполнена предшествующая тиреоидэктомия с гистологической верификацией, оценены риски прогрессирования, в соответствии с которыми назначена радиойодтерапия, ее кратность и дозирование, проведена посттерапевтическая ОФЭКТ.

Результаты. Метастазы в легкие и регионарные лимфатические узлы обнаружены у 73 (81,1 %) пациентов, у 17 (18,8 %) регионарные лимфатические узлы не были поражены. Папиллярный вариант чаще сочетался с поражением шейных лимфоузлов – у 66 (90,4 %), фолликулярный – лишь у 7 (9,60 %) пациентов, в то время как сочетанные метастазы в легкие и другие органы встречались чаще при фолликулярном типе – у 6 (46,20 %) больных, – чем при папиллярном, – у 25 (32,47 %). Вторичное поражение только легких было зафиксировано у 7 (9,60 %) и у 52 (67,53 %) больных соответственно. Уровень ТГ «<10» нг/мл зафиксирован у 12 (14,63 %) пациентов, от 10–100 – у 24 (29,26 %), >100 – у 41 (50 %). Таким образом, высокий показатель ТГ был диагностирован в 66 (80,48 %) случаях. Наиболее высокий уровень тиреоглобулина был диагностирован у пациента с фолликулярным раком – 632 нг/мл. С папиллярным раком самый высокий показатель был 195 нг/мл ($p=0,4$). По данным обзорной РОГК, метастазы в легкие выявлены лишь в 18 (20 %) случаях, минимальный размер составил 3 мм. Чувствительность метода – 20 %. По КТ – у 42 (89,36 %) больных, минимальный размер – 3 мм. После курса РЙТ у остальных 10,64 % (5) вторичное поражение легких было диагностировано только по результатам посттерапевтической ОФЭКТ. По данным ПЭТ/КТ метастазы в легкие были выявлены у 25 (83,33 %) больных, минимальный размер составил 3 мм. Метастазы в легкие на посттерапевтической ОФЭКТ визуализировались в 66 (73,3 %) случаях, в 24 (26,7 %) они отсутствовали. Чувствительность метода составила 73,3 % (таблица).

У 17 (18,88 %) больных метастазы в легкие впервые были выявлены только по посттерапевтической ОФЭКТ, у 4 (4,44 %) визуализировалось очаговое накопление РФП. После чего им были выполнены КТ, ПЭТ/КТ, метастазы подтверждены лишь в 7 (41,17 %) случаях, не были диагностированы в 10 (58,83 %). Таким образом, ОФЭКТ являлась завершающим этапом стадирования опухоли [3].

Выводы

Рентгенография органов грудной клетки не является методом подтверждения или исключения при подозрении на метастазы в легкие. При метастазах менее 3 мм единственно возможный метод их выявления – посттерапевтическая однофотонная эмиссионная томография.

Таблица

Визуализация метастазов в легкие при ДРЦЖ в зависимости от вида исследования

Вид исследования	Количество пациентов (n)	Метастазы в легкие визуализируются	Метастазы в легкие отсутствуют
Рентгенография ОГК	90 (100%)	18 (20%)	72 (80%)
КТ	47 (52,20%)	42 (89,36%)	5 (10,64%)
ПЭТ/КТ	30 (33,33%)	25 (83,33%)	5 (16,67%)
Посттерапевтическая ОФЭКТ	90 (100%)	66 (73,3%)	24 (26,7%)

ЛИТЕРАТУРА

1. Кропотов М.А., Гривачев Е.А., Яковлева Л.П., Ходос А.В., Тигров М.С. Центральная шейная лимфодиссекция при хирургическом лечении папиллярного рака щитовидной железы. Злокачественные опухоли. 2019; 9(2): 27–34.
2. Durante C., Haddy N., Baudin E., Lebouilleux S., Hartl D., Travagli J.P., Caillou B., Ricard M., Lombroso J.D., De Vathaire F., Schlumberger M. Long-term outcome of 444 patients with distant metastases from papillary thyroid carcinoma: benefits and limits of radioiodine therapy. J Clin Endocrinol Metab. 2006 Aug; 91(8): 2892–9.
3. Schlumberger M., Pacini F., Michael R. Thyroid tumors. Imprimee en France par IME by ESTIMPRIM. 2015. 158,159,224,230 с.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ ПРИ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

А.А. Трусов¹, Е.С. Колегова²

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Сибирский федеральный научно-клинический центр ФМБА России», г. Северск, Россия¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный

исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) является одной из часто встречающихся злокачественных опухолей и наиболее распространенной причиной смертности от онкологической патологии. При этом метастазирование является наиболее частой причиной прогрессирования данного заболевания. В метастазировании злокачественных опухолей активное участие принимают актин-связывающие белки (АСБ), которые регулируют работу клеточного цитоскелета. Показано, что АСБ играют важную роль в развитии злокачественных опухолей. Однако вовлеченность АСБ в прогрессирование НМРЛ недостаточно изучена на молекулярном уровне. **Цель работы** – оценить роль экспрессии мРНК АСБ: аденилат-циклаза ассоциированного протеина 1 (CAP1), кофилина, профилина, фасцина и эзрина в прогнозе метастазирования НМРЛ. **Материал и методы.** Материалом для исследования явилась опухолевая и неизмененная ткань больных НМРЛ (n=46). Анализ экспрессии мРНК изучаемых белков проводился методом ПЦР в реальном времени. Уровень АСБ оценивался с помощью метода Вестерн-блоттинг. **Результаты.** При лимфогенном метастазировании НМРЛ уровень мРНК CAP1, кофилина, профилина и эзрина повышается в ткани первичной опухоли больных. Полученные закономерности были подтверждены изучением содержания АСБ методом Вестерн-блоттинг. Показана значимая связь уровня мРНК изучаемых АСБ в опухолевой ткани с 2-летней безметастатической выживаемостью.

Разработана модель прогноза риска развития отдаленных метастазов с помощью регрессии Кокса. **Выводы.** Показана связь изменения экспрессии мРНК АСБ с метастазированием НМРЛ. Разработан новый способ прогноза безметастатической выживаемости пациентов с НМРЛ.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), актин-связывающие белки (АСБ), метастазирование.

PROGNOSTIC ROLE OF ACTIN-BINDING PROTEINS IN METASTASIS OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER

A.A. Trusov¹, E.S. Kolegova²

Siberian Federal Research and Clinical Center FMBA of Russia, Seversk, Russia¹
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

Non-small cell lung cancer (NSCLC) is one of the most common malignant tumors and the most common cause of death from cancer. Moreover, metastasis is the most common cause of the progression of this disease. Actin-binding proteins (ABPs), which regulate the functioning of the cell cytoskeleton, are actively involved in the metastasis of malignant tumors. It has been shown that ABPs play an important role in the development of malignant tumors. However, the involvement of ABPs in the progression of NSCLC is poorly understood at the molecular level. **Objective.** To assess the role of ABP mRNA expression: adenyl cyclase associated protein 1 (CAP1), cofilin, profilin, fascin, and ezrin in the prognosis of NSCLC metastasis. **Material and methods:** The material for the study was the tumor and unchanged tissue of patients with NSCLC (n = 46). Analysis of mRNA expression of the studied proteins was carried out by real-time PCR. The ABPs level was assessed using the Western blotting method. **Results.** With lymphogenous metastasis of NSCLC, the level of CAP1 mRNA, cofilin, profilin, and ezrin increases in the tissue of the primary tumor of patients. The obtained patterns were confirmed by the study of the level of ABP by Western blotting. A significant relationship between the mRNA level of the studied ABPs in tumor tissue and 2-year metastatic survival was shown. A model for predicting the risk of developing distant metastases using Cox regression was developed. **Conclusions.** The relationship between changes in the expression of mRNA of ABPs and metastasis of NSCLC was shown. A new method for predicting metastatic survival in patients with NSCLC has been developed.

Key words: non-small cell lung cancer (NSCLC), actin-binding proteins (ABPs), metastasis

Актуальность

Поиск маркеров раннего выявления прогрессирования НМРЛ – важная задача молекулярной онкологии, которая активно развивается в настоящее время. Прогрессирование онкологических заболеваний характеризуется, главным образом, их быстрым метастазированием. В данном вопросе актуальным является изучение белков, которые регулируют клеточную подвижность [1]. Яркими представителями таких белков являются актин-связывающие белки (АСБ). Интересно изучить одновременно АСБ, разнонаправленные по функциям, которые они выполняют в отношении актина. Существует группа актин-деполимеризующих белков, представителями которой являются CAP1 и кофилин [2]. Эти белки могут работать как самостоятельно, так и в паре. К группе мономер-связывающих белков относится профилин, он связывает и переносит G-актин при ремоделировании цитоскелета [3]. Фасцин – представитель группы поперечносвязывающих белков, которые обеспечивают формирование пучков и ветвление нитей актина [4]. Эзрин – это белок, обеспечивающий прикрепление актина к клеточной мембране [5]. Показано, что АСБ играют важную роль в развитии злокачественных опухолей [1, 5] и предлагаются к использованию как маркеры возникновения и течения рака [6–9].

Цель исследования – оценить роль экспрессии мРНК АСБ: аденилат-циклаза ассоциированного протеина 1 (CAP1), кофилина, профилина, фасцина и эзрина в прогнозе метастазирования НМРЛ.

Материал и методы

Материалом для исследования явилась опухолевая и неизменная ткань больных НМРЛ (n=46). Из них мужчин – 33 (72%), женщин – 13 (28 %), средний возраст пациентов составил 57,5 года. Стадия опухолевого процесса T2–3N0–2M0. Анализ экспрессии мРНК АСБ проводился методом ПЦР в реальном времени. Нормализация экспрессии проводилась на условно неизмененную ткань и референсный ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH.

Уровень АСБ оценивался с помощью метода Вестерн-блоттинг с применением первичных антител мыши в разведении 1:1500 и вторичных антимышиных антител в разведении 1:2000. Статистическая обработка результатов проводилась с применением пакета программ IBM SPSS Statistics 20.

Результаты

Вначале пациенты с НМРЛ были разделены на две группы в зависимости от вовлеченности в опухолевый процесс регионарных лимфоузлов (N) (таблица). Наиболее выраженные изменения наблюдались для белка эзрина: экспрессия его мРНК увеличивалась в 4 раза в ткани опухоли пациентов с лимфогенными метастазами (T2–3N1–2M0) по сравнению с пациентами без метастазов (T2–3N0M0). Показано, что уровень мРНК остальных АСБ повышается в 2–3 раза в ткани первичной опухоли больных НМРЛ при поражении регионарных лимфоузлов. Полученные закономерности были подтверждены изучением содержания АСБ методом Вестерн-блоттинг.

Изучена двухлетняя безметастатическая выживаемость 40 пациентов. Показана значимая связь уровня мРНК изучаемых АСБ в опухолевой ткани с 2-летней безметастатической выживаемостью. Разработана модель прогноза риска развития отдаленных метастазов с помощью регрессии Кокса. В группах с низким уровнем мРНК АСБ и с увеличением мРНК одного или двух АСБ по отношению к неизменной ткани наблюдалась 100 % выживаемость. Развитие гематогенных метастазов наблюдалось у трети пациентов с повышением мРНК трех из пяти АСБ. 100 % развитие неблагоприятного исхода наблюдалось у больных НМРЛ с повышением экспрессии мРНК четырех или пяти АСБ. Большее влияние на риск развития отдаленных метастазов имела экспрессия мРНК CAP1, фасцина и эзрина. Чувствительность модели при этом составила 75 %, специфичность – 94,4 %, общая значимость – 84,5 %.

Выводы

Показана связь изменения экспрессии мРНК АСБ с метастазированием НМРЛ. Разработан новый способ прогноза безметастатической выживаемости пациентов с НМРЛ. Результаты свидетельствуют о вовлеченности АСБ в процессы опухолевой прогрессии при НМРЛ и могут быть предложены в качестве новых дополнительных маркеров течения НМРЛ.

Таблица

Экспрессия мРНК аденилат-циклаза ассоциированного протеина 1 (CAP1), кофилина (CFL), профилина (PFL), фасцина (FSCN) и эзрина (EZR) в ткани первичной опухоли в зависимости от N

Показатель	T2–3N0M0 n=9	T2–3N1–2M0 n=31	p
CAP1	1,7 (1,4; 2,0)	4,0 (3,7; 5,9)	0,020
CFL	2,0 (1,0; 2,1)	5,4 (4,3; 6,0)	0,050
PFN	3,56 (0,01; 4,80)	6,50 (5,60; 9,90)	<0,001
FSCN	1,60 (1,00; 2,67)	3,30 (2,18; 5,80)	0,053
EZR	1,02 (0,00; 4,67)	4,00 (4,08; 7,60)	0,035

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова А.Ю. Пластичность миграции опухолевых клеток: приобретение новых свойств или возврат к «хорошо забытым» старым? Биохимия. 2014; 79(9): 1169–1187.
2. Schoppmeyer R., Zhao R., Cheng H., Hamed M., Liu C., Zhou X., Schwarz E.C., Zhou Y., Knörck A., Schwärz G., Ji S., Liu L., Long J., Helms V., Hoth M., Yu X., Qu B. Human profilin 1 is a negative regulator of CTL mediated cell-killing and migration. Eur. J. Immunol. 2017; 47(9): 1562–1572.
3. Papaspyrou K., Brochhausen C., Schmidmann I., Fruth K., Gouveris H., Kirckpatrick J., Mann W., Brieger J. Fascin upregulation in primary head and neck squamous cell carcinoma is associated with lymphatic metastasis. Oncol. Lett. 2014; 7(6): 2041–2046.
4. Cheng Y.J., Zhu Z.X., Zhou J.S., Hu Z.Q., Zhang J.P., Cai Q.P., Wang L.H. Silencing profilin-1 inhibits gastric cancer progression via integrin $\beta 1$ /focal adhesion kinase pathway modulation. World J. Gastroenterol. 2015; 21(8): 2323–2335.
5. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзенов Е.Л. Постгеномные технологии в прогнозе метастазирования плоскоклеточных карцином головы и шеи. Российский биотерапевтический журнал. 2011; 10(3): 31–36.
6. Saito S., Yamamoto H., Mukaisho K., Sato S., Higo T., Hattori T., Yamamoto G., Sugihara H. Mechanisms underlying cancer progression caused by ezrin overexpression in tongue squamous cell carcinoma. PLoS One. 2013; 8(1): e54881.
7. Wang C.Q., Tang C.H., Chang H.T., Li X.N., Zhao Y.M., Su C.M., Hu G.N., Zhang T., Sun X.X., Zeng Y., Du Z., Wang Y., Huang B.F. Fascin-1 as a novel diagnostic marker of triple-negative breast cancer. Cancer Med. 2016; 5(8): 1983–1988.
8. Xie S.S., Tan M., Lin H.Y., Xu L., Shen C.X., Yuan Q., Song X.L., Wang C.H. Overexpression of adenylate cyclase-associated protein 1 may predict brain metastasis in non-small cell lung cancer. Oncol. Rep. 2015; 33(1): 363–371.

КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ РАКА ПИЩЕВОДА

У.Б. Урмонов, Д.Н. Костромицкий

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

Аннотация

Среди заболеваний пищеварительного тракта рак пищевода является одним из наиболее агрессивных и прогностически неблагоприятных заболеваний. **Материал и методы.** В основу работы вошли результаты комбинированного и хирургического лечения 70 больных раком пищевода II–III стадии. В основной группе ($n=35$) больным назначалось 2 курса предоперационной химиотерапии по схеме гемцитабин/цисплатин с последующим хирургическим лечением, в контрольной группе ($n=35$) проводилось только оперативное вмешательство. **Результаты.** При применении предоперационной химиотерапии непосредственная эффективность составила 57,1 %. Лечение характеризовалось удовлетворительной переносимостью и низкой токсичностью. Различий структуры послеоперационных осложнений в основной ($34,3\pm 8,0$ %) и контрольной группах ($40,0\pm 8,3$ %) не отмечено ($p>0,05$). Двухлетняя безрецидивная и общая выживаемость в основной группе с применением предоперационной ХТ составила $71,8\pm 7,9$ % и $81,3\pm 6,9$ %, в группе контроля – $39,4\pm 8,5$ % и $51,5\pm 8,7$ % ($p<0,05$). **Заключение.** Комбинированный подход при лечении плоскоклеточного рака пищевода II–III стадии с применением предоперационной химиотерапии по схеме гемцитабин/цисплатин достоверно уменьшает частоту местных рецидивов и отдаленных метастазов относительно только хирургического лечения, позволяет улучшать результаты 2-летней безрецидивной и общей выживаемости.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак пищевода, комбинированное лечение, предоперационная химиотерапия, непосредственные и отдаленные результаты.

COMBINATION TREATMENT OF ESOPHAGEAL CANCER

U.B. Urmonov, D.N. Kostromitskiy

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

Abstract

Esophageal cancer among diseases of the digestive tract is one of the most aggressive and prognostically unfavorable diseases. **Material and Methods.** The work is based on the results of combined and surgical treatment of 70 patients with stage II–III esophageal cancer. In the main group ($n = 35$), the patients received 2 courses of preoperative chemotherapy with gemcitabine/cisplatin and surgical treatment, in the control group ($n = 35$), only surgery was performed. **Results.** The immediate effectiveness preoperative chemotherapy was 57.1 %. The treatment was characterized by satisfactory tolerance and low toxicity. There were no differences in the structure of postoperative complications in the main (34.3 ± 8.0 %) and control groups (40.0 ± 8.3 %) ($p>0.05$). Two-year relapse-free and overall survival in the main group with the use of preoperative chemotherapy was 71.8 ± 7.9 % and 81.3 ± 6.9 %, in the control group 39.4 ± 8.5 % and 51.5 ± 8.7 % ($p<0.05$). **Conclusion.** The combined approach in the treatment of esophageal squamous cell carcinoma stage II–III with the use of preoperative chemotherapy with gemcitabine/cisplatin significantly reduces the incidence of local frequency and distant metastases with respect to only surgical treatment, and improves the results of the 2-year recurrence-free and overall survival.

Key words: esophageal squamous cell carcinoma, combined treatment, preoperative chemotherapy, immediate and long-term results.

Актуальность

Рак пищевода (РП) остается крайне актуальной проблемой современной онкологии, занимая ведущие позиции по показателям заболеваемости и смертности [1]. В связи с неудовлетворительными результатами только хирургического лечения РП перспективным является применение комбинированного подхода, объединяющего радикальное оперативное вмешательство и лекарственное противоопухолевое лечение [2–5].

Цель исследования – изучить эффективность и переносимость комбинированного лечения РП с использованием предоперационной химиотерапии (ХТ) в сочетании с радикальной операцией.

Материал и методы

В отделении абдоминальной онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ проведено лечение 70 больных плоскоклеточным РП II–III стадии. Основную группу составили 35 больных, у которых было проведено комбинированное лечение, включающее 2 курса предоперационной ХТ по схеме гемцитабин/цисплатин и радикальную операцию. Во второй (контрольной) группе ($n=35$) выполнялась только радикальная операция. По основным прогностическим признакам группы были сопоставимы ($p>0,05$). По локализации опухоли пищевода распределение пациентов по основной и контрольной группам соответственно составило: верхнегрудной отдел – 1 больной (1,4 %), среднегрудной отдел – 23 и 22 больных (64,3 %), нижнегрудной отдел – 11 и 13 больных (34,3 %). Распределение больных по стадиям заболевания выполнялось с использованием классификации Международного противоракового союза по классификации TNM 7-го пересмотра (табл. 1).

До начала химиотерапевтического лечения в основной группе больному обычно назначалось парентеральное питание, состав и объем которого зависел от выраженности дисфагии и степени метаболических расстройств, устанавливаемой по результатам анализов крови. Гастростомия больным не выполнялась. 3 (8,6 %) больным установлен пищеводный зонд фирмы Boston scientific для восстановления проходимости пищевода.

На первом этапе комбинированного лечения у больных основной группы проводилось 2 курса предоперационной ХТ по схеме гемцитабин 1250 мг/м² внутривенно в 1-й и 8-й дни, цисплатин 80 мг/м² внутривенно в 1-й день. Интервал между курсами химиотерапии и хирургическим этапом лечения составлял 3 нед.

У всех больных в сравниваемых группах выполнялась радикальная операция – расширенная субтотальная резекция пищевода с 2-зональной (2F) лимфодиссекцией из комбинированного лапаротомного и правостороннего торакотомного доступа с одномоментной эзофагопластикой. При выполнении реконструктивного этапа операции выбор метода пластики зависел от уровня поражения и резекции пищевода. Наиболее часто использовался широкий желудочный стебель (операция типа Льюиса) – 48 (68,6 %) случаев, значительно реже изоперистальтическая пластика проводилась левой половиной толстой кишки – 22 (31,4 %) наблюдения (табл. 2).

Непосредственный ответ опухоли на предоперационную ХТ оценивался по шкале RECIST 1.1, токсичность химиотерапии – по шкале CTC-NCIC. Лечебный патоморфоз изучался по схеме Е.Ф. Лушников (1993 г.). Оценка эффективности методов лечения дана на основании изучения сроков и частоты появления рецидивов и метастазов. Статистическая обработка проводилась с помощью компьютерной программы Statistica 8.0 (StatSoft).

Результаты и обсуждение

Непосредственная эффективность после проведения предоперационной ХТ по схеме гемцитабин/цисплатин составила 57,1 %, включая полную – 2 (5,7±3,9 %) и частичную – 18 (51,4±8,4 %) регрессию. Стабилизация зафиксирована у 12 (34,3±8,0 %) и прогрессирование у 3 (8,6±4,7 %) больных. Во всех случаях после проведения 1-го курса химиотерапии отмечалось уменьшение степени дисфагии, болевого синдрома, улучшение соматического состояния, что позволило перевести больных на сбалансированное энтеральное питание и полноценно подготовить к оперативному лечению.

Преобладающими видами токсичности химиотерапии являлись тошнота/рвота – в 19 (54,3±8,4 %) и лейкопения – в 14 (40,0±8,2 %), затем тромбоцитопения различной степени – в 13 (37,1±8,2 %) случаях. Осложнения носили кратковременный, нестойкий характер и очень хорошо купировались назначением симптоматической терапии.

Структура послеоперационных осложнений представлена в табл. 3, значимых различий в группах исследования не зафиксировано ($p>0,05$). Недостаточность интраторакального анастомоза и нарушение трофики внутригрудного трансплантата стали наиболее серьезными осложнениями в послеоперационном периоде, которые привели к развитию эмпиемы плевры 3 (4,3±2,4) и медиастинита 2 (2,8±1,9). В таких случаях проводилась реторакотомия для санирования и дренирования плевральной полости на стороне поражения.

При анализе ранней послеоперационной летальности: в основной группе умерло 3 (8,5±4,7 %) больных, в контрольной группе умерло 2 (5,7±3,9 %) больных. Статистических различий между группами не отмечено ($p>0,05$).

Лекарственный патоморфоз IV степени достигнут у 2 (5,7 %) больных, патоморфоз III степени отмечен у 9 (25,7 %) больных. В 13 (37,1 %) случаях отмечен патоморфоз II степени, и патоморфоз I степени – у 11 (31,5 %) пациентов.

Двухлетние результаты прослежены у 32 из 35 больных основной группы и 33 из 35 пациентов контрольной группы. Прогрессирование заболевания в основной группе после

применения предоперационной ХТ отмечено у 9 (28,1 %) больных в течение двух лет. Один из них, местный рецидив, зафиксирован на 15-м мес наблюдения. Длительность безрецидивного периода составила 21,8 мес. В контрольной группе прогрессирование выявлено у 20 (60,6 %) больных в течение двух лет: местные рецидивы – у 5 (15,1 %). Длительность безрецидивного периода – 18,1 мес. В итоге, показатель двухлетней безрецидивной выживаемости (в основной группе) с применением предоперационной ХТ составил 71,8 %, в контрольной группе – 39,4 % ($p=0,01193$), а общая двухлетняя выживаемость в основной группе составила 81,3 %, в группе контроля – 51,5 % ($p = 0,01472$).

Таким образом, комбинированный подход в лечении РП II–III стадии оказывает выраженное повреждающее действие на опухоль, улучшает локорегионарный контроль и снижает риск развития отдаленных метастазов. Применение предоперационной ХТ по схеме гемцитабин/цисплатин позволяет значимо увеличить 2-летнюю безрецидивную и общую выживаемость по сравнению с больными, перенесшими только хирургическое лечение. После проведения предоперационного лечения оперативное вмешательство выполнено у всех больных в запланированном объеме, что обеспечивает обнадеживающие результаты.

Заключение

Лечение больных РП II–III стадии требует применения комбинированного подхода, включающего рациональное сочетание хирургического лечения с химиотерапией. Предоперационная ХТ при отсутствии серьезных негативных побочных реакций демонстрирует высокую непосредственную эффективность, не оказывая при этом существенного влияния на течение интра-, послеоперационного периода и летальность. Комбинированное лечение РП II–III стадии с использованием предоперационной ХТ обеспечивает надежный локорегионарный контроль, снижает количество отдаленных метастазов и позволяет улучшить выживаемость больных.

Таблица 1

Распределение больных в зависимости от стадии опухолевого процесса (TNM), абс. ч. (%)

Стадия заболевания, TNM			Основная группа (n=35)	Контрольная группа (n=35)	Всего
II	II A	T3N0M0	7 (20 %)	7 (20 %)	14 (20 %)
	II B	T1–2N1M0	9 (25,7 %)	8 (22,8 %)	17 (24,3 %)
III	III A	T4aN0M0	1 (2,8 %)	1 (2,8 %)	2 (2,9 %)
		T3N1M0	3 (8,6 %)	5 (14,3 %)	8 (11,4 %)
		T1–2N2M0	2 (5,7 %)	3 (8,6 %)	5 (7,1 %)
	III B	T3N2M0	8 (22,8 %)	5 (14,3 %)	13 (18,6 %)
	III C	T4aN1–2M0	5 (14,3 %)	6 (17,1 %)	11 (15,7 %)
Всего	II–III	T _{люб} N _{люб} M0	35 (100 %)	35 (100 %)	70 (100 %)

Таблица 2

Распределение больных в зависимости от методики эзофагопластики, абс. ч. (%)

Метод эзофагопластики	ХТ + операция (n=35)	Операция (n=35)	Всего (n=70)
Желудочным стеблем	23 (65,7 %)	25 (71,4 %)	48 (68,6 %)
Толстой кишкой	12 (34,3 %)	10 (28,6 %)	22 (31,4 %)

Таблица 3

Частота и характер послеоперационных осложнений абс. ч. (%)

Осложнения	ХТ+операция (n=35)	Операция (n=35)	Всего (n=70)
Количество больных с осложнениями	12 (34,3±8,0)	14 (40,0±8,3)	26 (37,1±5,7)
Несостоятельность анастомоза	3 (8,6±4,7)	4 (11,4±5,4)	7 (10,0±3,6)
Острая перфоративная язва трансплантата	2 (5,7±3,9)	1 (2,8±2,7)	3 (4,3±2,4)
Эмпиема плевры	2 (5,7±3,9)	1 (2,8±2,7)	3 (4,3±2,4)
Медиастинит	1 (2,8±2,7)	1 (2,8±2,7)	2 (2,8±1,9)
Пневмония	4 (11,4±5,4)	5 (14,3±5,9)	9 (12,8±3,9)
О. панкреатит	2 (5,7±3,9)	2 (5,7±3,9)	4 (5,7±2,8)
Нагноение раны	1 (2,8±2,7)	2 (5,7±3,9)	3 (4,3±2,4)

ЛИТЕРАТУРА

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018; 68(6): 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
2. Давыдов М.И., Стилиди И.С., Бохан В.Ю., Сулейманов Э.А., Трякин А.А., Кононец П.В., Толяндин С.А. Промежуточные результаты применения предоперационной химиотерапии и расширенной субтотальной резекции пищевода при раке. *Анналы хирургии.* 2005; 3: 27–32.
3. Baba Y, Watanabe M, Yoshida N, Baba H. Neoadjuvant treatment for esophageal squamous cell carcinoma. *World J. Gastrointest. Oncol.* 2014; 6(5): 121–128.
4. Урмонов У.Б., Добродеев А.Ю., Афанасьев С.Г., Августиневич А.В., Черемисина О.В. Современные аспекты лечения рака пищевода. *Сибирский онкологический журнал.* 2019; 18(4): 78–84. doi: 10.21294/1814-4861-201918-4-78-84.
5. Duan X, Yu Z. Neoadjuvant chemoradiotherapy combined with operation vs. operation alone for resectable esophageal cancer: Meta-analysis on randomized controlled trials. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi.* 2017 Jul 25; 20(7): 809–815.

СРАВНЕНИЕ СВОЙСТВ МОНОЦИТОВ И ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫХ МАКРОФАГОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

А.А. Федоров

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

Аннотация

Опухولةассоциированные макрофаги играют важную роль в патогенезе злокачественного роста, в частности рака легкого. Свойства опухолеассоциированных макрофагов в основном детерминируются тканевым окружением, в том числе биологическими особенностями злокачественных новообразований. Однако существует предположение, что моноциты способны пополнять пул тканевых макрофагов, в том числе при злокачественных новообразованиях, а их статус в периферической крови может определять свойства, которые проявят тканевые макрофаги в опухоли. **Целью работы** является сравнение свойств моноцитов периферической крови и опухолеассоциированных макрофагов у больных раком легкого. В контрольную группу вошли 14 здоровых волонтеров. В группу исследования включены 10 пациентов с диагностированным центральным раком легкого. В ходе исследования было показано, что моноциты периферической крови у больных раком легкого имеют выраженные отличительные особенности по сравнению со здоровыми лицами, что проявилось уменьшением количества CD14⁺CD16⁺ моноцитов, увеличением количества HLA-DR⁺ клеток в периферической крови и экспрессией данных молекул на поверхности клеток. Кроме того, моноциты у больных раком легкого экспрессировали большее количество рецепторов CD119 и CD124. По сравнению с пулом циркулирующих моноцитов в структуре опухолеассоциированных макрофагов преобладают CD68⁺ клетки, а также высоко экспрессируются молекулы CD68 и CD163. По данным корреляционного анализа была выявлена взаимосвязь между опухолеассоциированными макрофагами и промежуточной субпопуляцией моноцитов периферической крови. Таким образом, данная субпопуляция моноцитов требует особого внимания, так как она может выступать в качестве прогностического маркера рака легкого.

Ключевые слова: опухолеассоциированные макрофаги, моноциты, поляризация, фенотип, рак легкого.

COMPARISON OF THE PROPERTIES OF MONOCYTES AND TUMOR-ASSOCIATED MACROPHAGES IN PATIENTS WITH LUNG CANCER

A.A. Fedorov

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

Аннотация

Tumor-associated macrophages play an important role in the pathogenesis of malignant growth and, in particular, lung cancer. The properties of tumor-associated macrophages are mainly determined by the tissue environment, including the biological characteristics of malignant neoplasms. However, there is an assumption that monocytes are able to replenish the pool of tissue macrophages, including in case of malignant neoplasms, and their status in peripheral blood may determine the properties that tissue macrophages in the tumor will exhibit. The aim of this work is to compare the properties of peripheral blood monocytes and tumor-associated macrophages in patients with lung cancer. The control group included 14 healthy volunteers. The study group included 10 patients with diagnosed central lung cancer. The study showed that peripheral blood monocytes in patients with lung cancer have pronounced distinctive features compared to healthy individuals, which was manifested by a decrease in the number of CD14 + CD16 monocytes, an increase in the number of HLA-DR + cells in peripheral blood and the expression of these molecules on the surface cells. In addition, monocytes in patients with lung cancer expressed a greater number of CD119 and CD124 receptors. Compared to the pool of circulating monocytes, CD68 + cells predominate in the structure of tumor-associated macrophages, and CD68 and CD163 molecules are highly expressed. According to the correlation analysis, a relationship was found between tumor-associated macrophages and an intermediate subpopulation of peripheral blood monocytes. Thus, this subpopulation of monocytes requires special attention, since it can act as a prognostic marker of lung cancer.

Key words: tumor-associated macrophages, monocytes, polarization, phenotype, lung cancer.

Актуальность

В настоящее время показана значимость опухолеассоциированных макрофагов (ОАМ) в патогенезе злокачественных новообразований [1]. Их роль в данном процессе определяется поляризацией. ОАМ, поляризованные по M1 типу, подавляют ангиогенез новообразования и повышают чувствительность опухолевых клеток к цитостатическим воздействиям, в то время как M2-ОАМ способствуют росту опухоли [2]. По современным представлениям, тип поляризации макрофагов зависит от опухолевого микроокружения [3]. Но существует предположение, что моноциты способны пополнять пул тканевых макрофагов, в том числе при злокачественных новообразованиях, а статус моноцитов периферической крови может определять свойства, которые проявят тканевые макрофаги в опухоли [4].

Цель исследования – сравнить свойства моноцитов периферической крови и опухолеассоциированных макрофагов у больных раком легкого.

Материал и методы

В контрольную группу вошли практически здоровые волонтеры (n=14). Средний возраст группы составил 33 года (от 23 до 52 лет). В исследовательскую группу вошли 10 пациентов с диагностированным центральным раком легкого (РЛ) на этапе до начала лечения. В качестве материала исследования выступала гепаринизированная кровь и биопсийный опухолевый материал больных раком легкого. Подготовка проб для анализа происходила в несколько этапов. В пробирку объемом 4 мл приливали моноклональные антитела (BD Pharmingen™, USA) для поверхностного окрашивания. Затем пипеткой добавляли 100 мкл цельной венозной гепаринизированной крови и содержимое пробирки перемешивали. После добавления антител пробирку инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 20 мин. Затем проводилось лизирование эритроцитов путем добавления 0,9 мл рабочего лизирующего раствора BD FACS Lysing Solution (BD Biosciences, USA) (концентрированный BD FACS Lysing Solution смешивался с дистиллированной водой в соотношении 1:10). Далее проводилась повторная инкубация в темноте при комнатной температуре в течение 15 мин. По окончании инкубации пробы отмывали, добавляли 450 мкл раствора FACSFlow (BD Biosciences, USA) и проводили оценку фенотипических свойств на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (BD Biosciences, USA). Для получения гомогенатов опухолевой ткани легкого использовали автоматическую систему для дезагрегации тканей Medimachine («Dako», США). Образцы тканей помещали в контейнеры Medicons («Dako», США), добавляли 1 мл фосфатно-солевого буфера и дезагрегировали в течение 60 сек. Суспензию клеток отбирали шприцем и пропускали через фильтры Falcon («Dako», США) с диаметром пор 100 мкм. Далее клеточную суспензию дважды отмывали фосфатно-солевым буфером при 1500 об/мин в течение 5 мин и доводили до конечной концентрации 1×10^6 клеток/мл. Полученные образцы окрашивали и оценивали фенотипические свойства. Статистическая обработка данных осуществлялась в пакете программ «Statistica», версия 6.1. Проверку выборки на нормальность осуществляли с помощью критерия Шапиро – Уилка, так как объем выборки недостаточно велик для использования критерия Колмогорова – Смирнова. Полученные данные представлены в виде

медианы (Me) и интерквартильного размаха (LQu-UQu). Для оценки различий между показателями контрольной группы и показателями группы больных РЛ использовался критерий Манна – Уитни. Для установления корреляционных связей был использован коэффициент корреляции Спирмана. Пороговый уровень значимости был принят равным 0,05.

Результаты

В ходе исследования было выявлено уменьшение количества CD14⁺CD16⁺ моноцитов у больных РЛ по сравнению с соответствующим показателем у здоровых лиц в 1,5 раза. Характерным отличием популяционной структуры пула циркулирующих моноцитов у больных РЛ явилась M1 поляризованность всех популяций – классической, промежуточной и неклассической, которая проявилась как в увеличении количества HLA-DR⁺ клеток в ПК, так и в большем количестве данных молекул на поверхности клеток. Кроме того, моноциты у больных РЛ экспрессировали большее количество рецепторов к IFN γ (CD119) и IL-4 (CD124) – индукторам M1/M2 поляризации клеток моноцитарно-макрофагальной линии ($p=0,01$ и $p=0,03$ соответственно). Показано, что миелоидные CD45⁺ клетки составляли 2 % от общей клеточной массы биоптата опухоли легкого. При этом большую долю миелоидных клеток представляли CD68⁺ макрофаги – 29,5 %. M1-поляризованные макрофаги (HLA-DR⁺) составляли 3 %, а M2-поляризованные клетки (CD163⁺) – лишь 0,75 %. Также незначительная доля приходилась на CD15⁺ миелоидные клетки-супрессоры – 0,7 %. По сравнению с пулом циркулирующих моноцитов в структуре опухолеассоциированных макрофагов отмечены характерные особенности, которые выражаются в большем количестве CD68⁺ клеток, в более высоком уровне экспрессии молекул CD68 и CD163 на клеточной мембране ОАМ (3632 у.е. и 4115 у.е. соответственно). В ходе корреляционного анализа было выявлено, что плотность CD163 на клеточной мембране M2-поляризованных ОАМ положительно коррелировала с CD68⁺ ($r=0,65$) и CD119⁺ ($r=0,68$) моноцитами. Доля CD68⁺ макрофагов среди CD45⁺ клеток опухолевого образца имела прямую зависимость с количеством CD124⁺ моноцитов ($r=0,68$). Промежуточная популяция CD14⁺16⁺ моноцитов положительно коррелировала с уровнем экспрессии HLA-DR ($r=0,82$), CD15 ($r=0,67$) и CD68 ($r=0,77$) на поверхности ОАМ. Уровень экспрессии молекулы HLA-DR на поверхности классической популяции моноцитов (14⁺16⁺ HLA-DR⁺) отрицательно коррелировал как с процентным содержанием CD15⁺ ($r=-0,67$), так и с уровнем экспрессии этой молекулы на клеточной мембране опухолеассоциированных макрофагов ($r=-0,81$). Экспрессия молекулы HLA-DR на поверхности промежуточной популяции моноцитов (14⁺16⁺ HLA-DR⁺) отрицательно коррелировала с плотностью CD45 ($r=-0,78$) на клеточной мембране ТАМ, тогда как содержание CD206⁺ моноцитов с этим показателем коррелировало положительно ($r=0,67$). Также количество CD206⁺ моноцитов имело обратную зависимость от уровня экспрессии молекулы CD68 ($r=-0,72$) на поверхности ОАМ. Плотность на клеточной мембране ОАМ маркера CD68 положительно коррелировала с экспрессией CD119⁺ на поверхности моноцитов ($r=0,68$).

Выводы

1. Моноциты периферической крови у больных РЛ имеют специфические особенности по сравнению с соответствующими показателями у здоровых лиц, выражающиеся в уменьшении количества моноцитов, принадлежащих к классической популяции, увеличении количества HLA-DR⁺ клеток и экспрессии данных молекул на поверхности моноцитов, увеличении экспрессии рецепторов к IFN γ (CD119) и IL-4 (CD124).
2. Клетки миелоидного происхождения (CD45⁺) составляют 2 % от клеточного состава опухолей РЛ. В популяционной структуре миелоидных клеток опухолей РЛ преобладают CD68⁺ опухолеассоциированные макрофаги – 29,5 %, M1-поляризованные HLA-DR⁺ макрофаги представлены 3 %, M2-поляризованные (CD163⁺) макрофаги достигают лишь 0,75 %, миелоидные клетки CD15⁺ супрессоры – 0,7 %.
3. По сравнению с пулом циркулирующих моноцитов в структуре опухолеассоциированных макрофагов отмечено увеличение количества CD68⁺ клеток и уровня экспрессии молекул CD68 и CD163 на клеточной мембране ОАМ.
4. В наибольшей степени с опухолеассоциированными макрофагами опухоли взаимосвязаны моноциты, относящиеся к промежуточной CD14⁺CD16⁺ популяции: их количество коррелирует с уровнем экспрессии HLA-DR, CD15 и CD68 на поверхности ОАМ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ostuni R., Kratochvill F., Murray P.J., Natoli G. Macrophages and cancer: from mechanisms to therapeutic implications. Trends Immunol. 2015 Apr; 36(4): 229–39. doi: 10.1016/j.it.2015.02.004.
2. Almatroodi S.A., McDonald C.F., Darby I.A., Pouniotis D.S. Characterization of M1/M2 Tumour-Associated Macrophages (TAMs) and Th1/Th2 Cytokine Profiles in Patients with NSCLC. Cancer Microenviron. 2016 Apr; 9(1): 1–11. doi: 10.1007/s12307-015-0174-x.
3. Chung F.T., Lee K.Y., Wang C.W., Heh C.C., Chan Y.F., Chen H.W., Kuo C.H., Feng P.H.,

4. Lin T.Y., Wang C.H., Chou C.L., Chen H.C., Lin S.M., Kuo H.P. Tumor-associated macrophages correlate with response to epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in advanced non-small cell lung cancer. *International Journal of Cancer*. 2012; 3: 227–235. doi: 10.1002/ijc.27403.

5. Richards D.M., Hettinger J., Feuerer M. Monocytes and macrophages in cancer: development and functions. *Cancer Microenviron.* 2013; 6(2): 179–191.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ КОСТНЫХ МЕТАСТАЗОВ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОГО ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА

**Х.И. Хахимов, А.В. Богоутдинова, И.И. Анисеня, П.К. Ситников,
А.А. Федоров, С.А. Табакаев**

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

Аннотация

Проведен обзор литературных данных о новых методах комбинированного лечения костных метастазов светлоклеточного почечно-клеточного рака. Выполнен анализ методов лечения и влияние новых подходов лекарственной терапии на продолжительность и качество жизни у пациентов с метастазами в кости при светлоклеточном почечно-клеточном раке, проходивших лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ.

Ключевые слова: метастатический светлоклеточный рак почки (мСРП), таргетная терапия, ингибиторы тирозинкиназ, иммунотерапия чекпойнт-ингибиторам, метастазы в кости, хирургическое лечение.

NEW APPROACHES TO THE COMBINED TREATMENT OF BONE METASTASES RENAL CELL CARCINOMA

**Kh.I. Khakimov, A.V. Bogoutdinova, I.I. Anisenya, A.A. Fedorov, P.K. Sitnikov,
S.A. Tabakaev**

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

Abstract

A review of the literature data on new methods of combined treatment of bone metastases renal cell carcinoma was conducted. The analysis of treatment methods and the impact of new approaches to drug therapy on the duration and quality of life in patients with bone metastases in renal cell cancer treated at the research Institute of Oncology of the Tomsk NIMC was performed.

Key words: metastatic renal cell carcinoma, targeted therapy, tyrosine kinase inhibitors immunotherapy with checkpoint inhibitors, bone metastases, surgical treatment.

Актуальность

В России почечно-клеточный рак (ПКР) занимает 3-е место по заболеваемости среди злокачественных новообразований мочеполовой системы после опухолей предстательной железы и мочевого пузыря, 70–80 % от общего количества заболевших – это пациенты с метастатическим светлоклеточным раком почки (мСРП) [1, 2]. Метастазы в кости при диссеминированных злокачественных опухолях возникают в 30–70 % случаев и занимают 3-е место по частоте встречаемости после метастатического поражения легких и печени. Метастатические опухоли более распространены, чем первичные, и составляют около 96 % всех новообразований костной системы [3]. По данным выполненных аутопсий, костные метастазы СРП развиваются в 33–60 % случаев и стоят на 3-м месте после рака предста-

тельной и молочной железы [4]. Удовлетворительный онкологический прогноз у больных с костными метастазами СРП делает актуальным проведение паллиативного лечения, улучшающего качество жизни пациентов, и расширяет возможности органосохраняющего хирургического лечения. Пяти- и десятилетняя выживаемость радикально оперированных больных с метастазами в кости СРП составляет 39,3 и 18 % соответственно [2, 5].

До недавнего времени больные с промежуточным и неблагоприятным исходом с метастазами в кости СРП считались бесперспективными в связи с тем, что СРП – агрессивная опухоль, резистентная к химиотерапии, а лучевая терапия (ЛТ) малоэффективна и носит сугубо паллиативный характер [5]. Для лечения пациентов мСРП с плохим и промежуточным прогнозом необходим мультидисциплинарный подход, который может включать в себя системную противоопухолевую (таргетную и иммунотерапию чекпойнт-ингибиторами), лучевую терапию (ЛТ) и хирургические методы лечения, позволяющие увеличить выживаемость и улучшить качество жизни пациентов [6, 7].

Таким образом, разработка алгоритмов лечения больных с мСРП является актуальной [6, 8, 9].

Целью исследования является определение категорий пациентов с мСРП и объема хирургического вмешательства на фоне проведения таргетной и иммунотерапии чекпойнт-ингибиторами.

Материал и методы

В исследование было включено 84 больных светлоклеточным почечно-клеточным раком с метастазами в кости с промежуточным и неблагоприятным прогнозом по результатам шкал MSKCC, Motzer и IMDC, Heng (2010) [10], проходивших лечение в период с 2006 по 2009 г. на базе отделения общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ.

Для обозначения осложнений, связанных с метастазами в кости, использовали термин «события, связанные с костной системой, ССКС» и учитывали наличие интенсивного болевого синдрома, гиперкальциемии, компрессии спинного мозга, патологического перелома, потребности в лучевом и хирургическом лечении [7].

Средний возраст пациентов составил $48,9 \pm 1,4$ года. Исходное состояние в группе пациентов, включенных в исследование, при оценке по шкале Карновского составило 46,9 % (от 20 до 90 %), ECOG – от 1 до 3. Болевой синдром отсутствовал у 2 больных (0 баллов по McAfee), у 17 пациентов он был слабой и умеренной степени выраженности (1–2 балла), у 53 – сильной (4 балла), у 12 – очень сильной (4 балла).

Результаты

По данным ретроспективного анализа 19 пациентов с костными метастазами СРП получили системную противоопухолевую таргетную или иммунотерапию чекпойнт-ингибиторами с последующим хирургическим лечением.

У 89,5 % (n=17) больных, получивших комбинированное лечение, с жалобами на боли в костях скелета отмечена полная регрессия болевого синдрома (0 по шкале McAfee) на фоне лечения. Качество жизни улучшилось у 100 % (n=19) больных. Прогрессирование наблюдалось у 10,5 % (n=2) больных: у 5,2 % (n=1) появились метастазы в легкие, у 10,5 % (n=2) – метастазы в печень, у 5,2 % (n=1) – метастазы в легкие и печень. Продолжительность жизни среди исследуемых больных составила от 32 мес до 15 лет.

Заключение

Комбинированное лечение костных метастазов при СРП – применение противоопухолевой таргетной и иммунотерапии чекпойнт-ингибиторами – позволило расширить возможности хирургического лечения и как следствие повысить продолжительность и качество жизни пациентов с промежуточным и неблагоприятным прогнозом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2016. 250 с.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2012 году: заболеваемость и смертность. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2014. 250 с.
3. Жуков Н.В. Метастатическое поражение костей. Практическая онкология. 2009; 3: 125–131.
4. Семков А.С., Махсон А.Н., Петерсон С.Б., Широкопад В.И., Щупак М.Ю. Хирургическое лечение костных метастазов рака почки. Онкоурология. 2010; 4: 10–5.
5. Карякин О.Б., Попов О.Б. Паллиативное и симптоматическое лечение больных раком почки. Практическая онкология. 2005; 3: 186–191.
6. Матвеев В.Б. Лечение метастазов рака почки в кости. Клиническая онкоурология. М.: Вердана, 2003. 118–126.
7. Алиев М.Д., Тепляков В.В., Каллистов В.Е., Валмев А.К., Трапезников Н.Н. Современные подходы к хирургическому лечению метастазов злокачественных опухолей в кости. Практическая онкология. 2012; 1(5): 39–43.

8. Семков А.С., Махсон А.Н., Петерсон С.Б., Широкопад В.И., Щупак М.Ю. Хирургическое лечение костных метастазов рака почки. Онкоурология. 2010; 4: 10–5.

9. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®). Kidney Cancer version 2.2017. October 31, 2016. URL: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/kidney.pdf (cited 01.01.2020).

10. Rini B.I., Escudier B., Tomczak P., Kaprin A., Szczylak C., Hutson T.E., Negrier S. Comparative effectiveness of axitinib versus sorafenib in advanced renal cell carcinoma (AXIS): a randomised phase 3 trial. *Lancet* 2011; 378(9807): 1931–9. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61613-9.

11. Motzer R.J., Hutson T.E., Glen H., Michaelson M.D., Molina A., Eisen T., Melichar B. Lenvatinib, everolimus, and the combination in patients with metastatic renal cell carcinoma: a randomised, phase 2, open-label, multicentre trial. *Lancet Oncol* 2015; 16(15): 1473–82. doi: 10.1016/S14702045(15)00290-9.

ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С АМПЛИФИКАЦИЕЙ ДЛИННОГО ПЛЕЧА 8 ХРОМОСОМЫ

М.М. Цыганов¹, М.К. Ибрагимова¹, А.М. Певзнер^{1,2}

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Большое значение в диагностике и лечении рака молочной железы (РМЖ) в настоящее время имеет оценка различных молекулярно-генетических маркеров, определяемых непосредственно в опухолевой ткани. Понимание генетических механизмов и выявление биологических маркеров опухолевого прогрессирования формируют индивидуальный молекулярный фенотип трансформированных клеток, который характеризует склонность к инвазии, степень злокачественности опухоли, способность к метастазированию, чувствительность к гормональной и химиотерапии и т. д. Уточнение молекулярно-биологических, генетических и патогенетических характеристик РМЖ позволяет ближе подойти к индивидуализации системной терапии и в ряде случаев отказаться от заведомо неэффективного, токсичного и дорогостоящего лечения. В свою очередь, разработка индивидуального подхода к лечению РМЖ способствует улучшению прогноза самого онкологического заболевания и качества жизни у пациентов. Известно, что гиперэкспрессия онкогенов в опухолевых клетках, которые необходимы для их роста и развития, часто достигается за счет амплификации. Амплификация различных онкогенов в опухолевых клетках является важным прогностическим фактором развития рака, а также может изменить подход к лекарственной терапии (химиотерапии, гормонотерапии, таргетной терапии) опухолей различных локализаций, в том числе и рака молочной железы [1]. В настоящее время известно, что по частоте встречаемости при опухолях всех локализаций (177 типов опухолей) амплификация длинного плеча 8 хромосомы (8q), в частности 8q24, является наиболее распространенной аберрацией числа копий (CNA) и встречается более чем в 30 % всех образцов [2]. В этой связи актуальным представляется проведение полнотранскриптомного анализа экспрессии генов в опухоли молочной железы с амплификацией длинного плеча 8 хромосомы в процессе предоперационной химиотерапии.

Ключевые слова: рак молочной железы, 8q, дифференциально-экспрессируемые гены, амплификация.

TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF GENE EXPRESSION IN A BREAST TUMOR WITH AMPLIFICATION OF THE LONG ARM OF CHROMOSOME 8

М.М. Tsyganov¹, М.К. Ibragimova¹, А.М. Pevzner^{1,2}

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia¹
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

Of great importance in the diagnosis and treatment of breast cancer today is the evaluation of various molecular genetic markers, which are determined directly in the tumor tissue. An understanding of the genetic mechanisms and the identification of biological markers of tumor progress form an individual molecular phenotype of transformed cells, which characterizes the tendency to invasion, the degree of tumor malignancy, the ability to metastasize, hormonal sensitivity, the effectiveness of chemotherapy, etc. Clarification of the molecular biological, genetic and pathogenetic characteristics of breast cancer allows us to come closer to the individualization of systemic therapy and, in some cases, abandon the obviously ineffective, toxic and expensive treatment. In turn, the development of an individual approach to the treatment of breast cancer improves the prognosis of the cancer itself and the quality of life in patients. It is known that the overexpression of oncogenes in tumor cells, which are necessary for their growth and development, is often achieved through amplification or selective increase in the number of copies. Amplification of various oncogenes in tumor cells is an important prognostic factor for the development of cancer, and may also change the approach to drug therapy (chemotherapy, hormone therapy, targeted therapy) of tumors of various locations, including breast cancer [1]. It is now known that the frequency of occurrence in tumors of all localizations (177 types of tumors) amplification of the long arm of chromosome 8 (8q), in particular 8q24, is the most common copy number aberration (CNA) and occurs in more than 30 % of all samples [2]. In this regard, it seems relevant to conduct a full transcriptome analysis of gene expression in a breast tumor with amplification of the long arm of chromosome 8 during preoperative chemotherapy.

Key words: breast cancer, 8q, differentially expressed genes, amplification.

Актуальность

Согласно базе www.progenetix.org, по частоте встречаемости при опухолях всех локализаций (177 типов опухолей) амплификация длинного плеча 8 хромосомы, в частности 8q24, оказалась наиболее распространенной абберацией числа копий (CNA) и встречалась более чем в 30 % всех образцов [2]. Наиболее значимым геном в этом локусе по данным COSMIC является протоонкоген c-Мус, который участвует во многих сигнальных путях [3].

Целью работы явилось изучение изменения экспрессии всех 20 тысяч генов в зависимости от наличия амплификации длинного плеча 8 хромосомы (с локусом 8q24) и в процессе предоперационной химиотерапии.

Материал и методы

В исследование включены 60 больных раком молочной железы (РМЖ) T1–4N0–2M0 (IIA–IIIB стадии) люминального В подтипа, с морфологически верифицированным диагнозом, в возрасте 22–68 лет (средний возраст 46,2±0,4 года). Материалом для исследования служили парные образцы биопсийного материала до лечения и операционного материала 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 до лечения и после неoadъювантной химиотерапии (НХТ) в 8q определялось с использованием микроматрицы CytoScan HD Array (Affymetrix, USA). Экспрессию генов оценивали у 32 больных при помощи микроматрицы Clariom S Assays Human (Affymetrix, USA), определялись дифференциально-экспрессируемые гены (ДЭГ) в зависимости от наличия амплификации 8q, изменения в процессе НХТ и эффекта НХТ.

Результаты

Частота амплификации 8q в опухоли больных до лечения составила 62 % (37/60 случаев). Из 37 больных амплификация 8q в резидуальной опухоли после проведения НХТ сохранилась у 24/37 пациентов (65 %), кроме этого, еще у 3 пациентов амплификации 8q в опухоли возникли de novo под действием НХТ. Количество дифференциально-экспрессируемых генов (ДЭГ) в опухоли до лечения у больных с наличием амплификации 8q и без амплификации составило 105 генов (41 Up-regulated, 64 Down-regulated). После проведения НХТ резидуальные опухоли больных с амплификацией 8q и без амплификации различались очень существенно, почти по 2137 ДЭГ (1394 Up-regulated, 780 Down-regulated) (рис. 1а, 1б). В топ-10 сигнальных путей попали MAPK Signaling Pathway и Circadian rhythm related genes для опухолей до лечения и после НХТ, различающихся по наличию в опухоли амплификации 8q.

Построение диаграммы Венна показало, что ДЭГ у пациентов с наличием/отсутствием амплификации 8q до лечения и после НХТ пересекаются всего по 8 генам: chr1 – *NBPF4* (neuroblastoma breakpoint family, member 4), PI4KB (phosphatidylinositol 4-kinase, catalytic, beta); chr4 – UGT2B11 UDP (glucuronosyltransferase 2 family, polypeptide B11), UGT2B28

UDP (glucuronosyltransferase 2 family, polypeptide B28); chr8 – PLAT (plasminogen activator, tissue); chr12 – MYBPC1 (myosin binding protein C, slow type); chr18 – SETBP1 (SET binding protein 1); chr19 – ZNF223 (zinc finger protein 223).

При частичной регрессии количество ДЭГ в резидуальной опухоли после НХТ с наличием/отсутствием амплификации 8q составило 879 (601 Up-reg, 278 Down-reg). На фоне стабилизации количество ДЭГ в резидуальной опухоли больных после НХТ с наличием/отсутствием амплификации 8q составило 1321 (652 Up-reg, 669 Down-reg) (рис. 2а, 2б).

Построение диаграммы Венна показало, что ДЭГ у пациентов с наличием и отсутствием амплификации 8q после НХТ на фоне частичной регрессии и стабилизации пересекаются по 145 генам (данные не представлены).

Диаграмма Венна по пересечению ДЭГ у пациентов с наличием/отсутствием амплификации 8q после НХТ и 47 генов стволовости показала, что общими являются 7 генов: TERT, BMP6, MYC, NANOG, ZSAN10, SMAD4, SMAD2 (рис. 3).

Важно, что в список вошел ген MYC, который показал экспрессию в дифференцированных опухолевых клетках *in situ* и в кровотоке у больных с метастазами. Кроме того, высокая экспрессия этого гена наблюдается у больных с амплификацией 8q, где, собственно, и локализован MYC. Таким образом, подтверждается, что амплификация локуса гена стволовости обеспечивает эктопическую (поскольку после НХТ) экспрессию генов стволовости, причем не одного, а целого кластера данной группы генов [4].

Выводы

Изучен спектр ДЭГ и сигнальных путей, активированных/инактивированных в опухолях молочной железы до лечения/после НХТ, в зависимости от наличия амплификации 8q и ответа на НХТ.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-29-09131 «Феномен «замирания» опухоли в процессе химиотерапии».

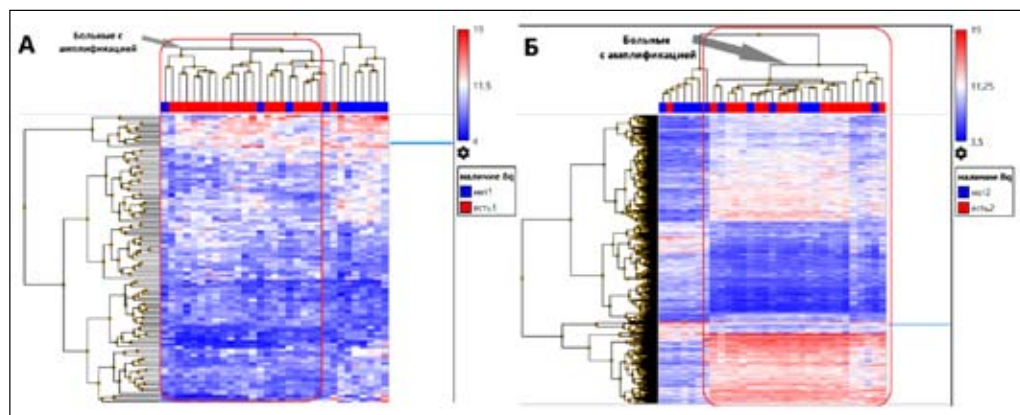


Рис. 1. Тепловая карта ДЭГ в опухоли больных РМЖ: а – до лечения с наличием амплификации 8q (есть1) и без амплификации (нет1); б – после НХТ с наличием амплификации 8q (есть2) и без амплификации (нет2)

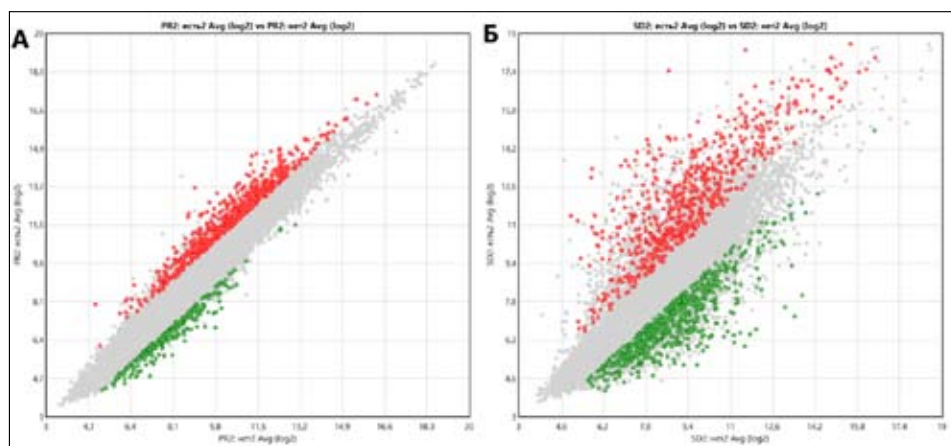


Рис. 2. Количество ДЭГ в резидуальной опухоли после НХТ с наличием/отсутствием амплификации 8q: а – на фоне частичной регрессии; б – на фоне стабилизации

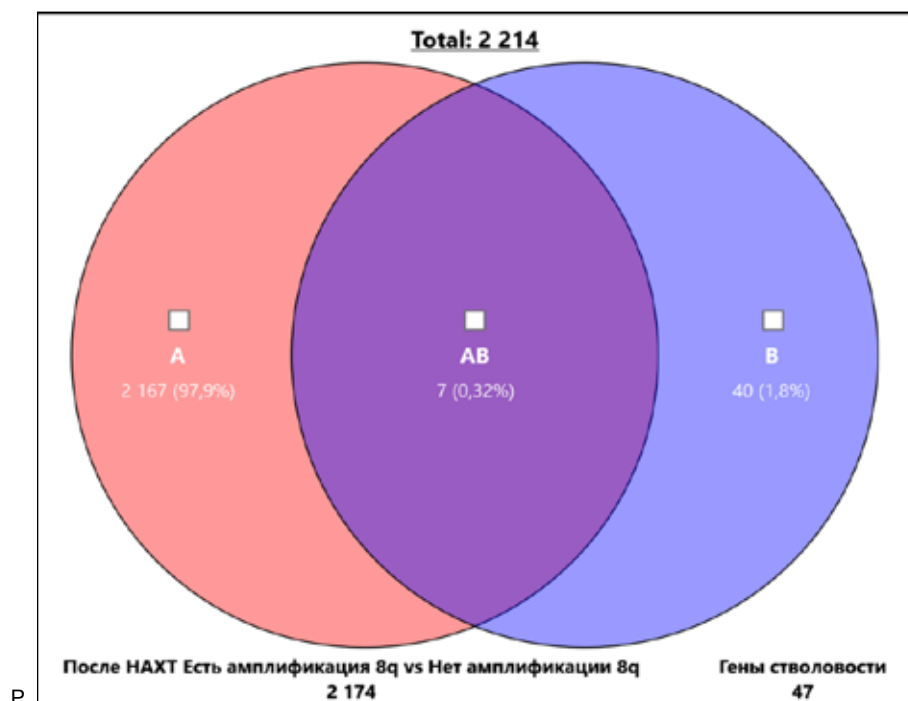


Рис. 3. Диаграмма Венна по пересечению ДЭГ у пациентов с наличием/отсутствием амплификации 8q после НХТ и генов стволовости

ЛИТЕРАТУРА

1. Pareja F., Marchiò C., Reis-Filho J.S. Molecular diagnosis in breast cancer. *Diagnostic Histopathology*. 2018; 24(2): 7182.
2. Cai H., Kumar N., Baudis M. Arraymap: A reference resource for genomic copy number imbalances in human malignancies. *PLoS One*. 2012; 7(5): e36944. doi: 10.1371/journal.pone.0036944.
3. Jönsson G., Staaf J., Vallon-Christersson J., Ringnér M., Holm K., Hegardt C., Gunnarsson H., Fagerholm R., Strand C., Agnarsson B.A., Kilpivaara O., Luts L., Heikkilä P., Aittomäki K., Blomqvist C., Loman N., Malmström P., Olsson H., Johannsson O.T., Arason A., Nevanlinna H., Barkardottir R.B., Borg A. Research article Genomic subtypes of breast cancer identified by array-comparative genomic hybridization display distinct molecular and clinical characteristics. *Breast Cancer Res*. 2010; 12(3): R42. doi: 10.1186/bcr2596.
4. Litviakov N., Ibragimova M., Tsyganov M., Kazantseva P., Deryusheva I., Pevzner A., Doroshenko A., Garbukov E., Tarabanovskaya N., Slonimskaya E. Amplifications of stemness genes and the capacity of breast tumors for metastasis. *Oncotarget*. 2020; 11: 1988–2001. doi: 10.18632/oncotarget.27608.

КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ III СТАДИИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.А. Чемакина¹, М.А. Сальников^{2,3}, А.А. Кельн^{1,2,3}, А.С. Суриков^{2,3}

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень, Россия¹
Государственное автономное учреждение здравоохранения Тюменской области
«Многопрофильный клинический медицинский центр «Медицинский город», г. Тюмень, Россия²
Областной урологический центр МСЧ «Нефтяник», г. Тюмень, Россия³

Аннотация

Введение. В настоящее время выбор тактики ведения пациентов с местнораспространенными формами рака предстательной железы (РПЖ) остается предметом для дискуссий среди онкологов. Большинство экспертов поддерживают идею мультимодального подхода: выполнения радикальной простатэктомии с ранней адъювантной либо поздней спасительной дистанционной лучевой терапией и адъювантной гормональной терапией. **Материал и методы.** Ретроспективный анализ проведен на 50 пациентах с III стадией РПЖ, которым с 2015 по 2019 г. выполнена радикальная простатэктомия (РПЭ). Пациенты разделены на группы: I (n=25) группа после РПЭ и динамического наблюдения, II (n=25) – после РПЭ, лучевой и гормональной терапии. Основные параметры изучения: общая выживаемость (ОВ), безрецидивная выживаемость (БВ) и раковоспецифическая выживаемость (РСВ). **Результаты.** Возраст, уровень

ПСА в обеих группах был одинаковым. Биохимический рецидив установлен у 28 % (n=7) пациентов в I группе и у 16 % (n=4) во II группе. Биохимический рецидив наблюдался в среднем через 15±12,7 мес в I группе и 6 мес – во II. Локальный рецидив в регионарных лимфоузлах выявлен у 4 % (n=1) в I группе. ОВ и РСВ в обеих группах составили 100 %. Показатель БРВ – 72 % (n=18) в I группе и 84 % (n=21) – во II. **Выводы.** Результаты нашего исследования продемонстрировали эффективность и целесообразность проведения лучевого и гормонального лечения в адъювантном режиме у пациентов с III стадией, что подтверждается более высокими показателями безрецидивной выживаемости.

Ключевые слова: рак предстательной железы, радикальная простатэктомия, адъювантная лучевая и гормональная терапия.

COMPREHENSIVE TREATMENT OF STAGE III PROSTATE CANCER

A.A. Chemakina¹, M.A. Salnikov^{2,3}, A.A. Keln^{1,2,3}, A.S. Suricov^{2,3}

Tyumen State Medical University of the Russia Ministry of Health, Tyumen, Russia¹

MCMC «Medical City», Tyumen, Russia²

Regional Urological Center Health-care unit «Nefityanik», Tyumen, Russia³

Abstract

Currently, the choice of tactics for managing patients with locally advanced forms of prostate cancer (PC) remains a subject for discussion among oncologists. Most experts support the idea of a multi-modal approach: performing radical prostatectomy with early adjuvant or late life-saving remote radiotherapy and adjuvant hormone therapy. **Background.** To evaluate the long-term results of combined (radical prostatectomy (RP) with adjuvant radiation and hormone therapy) in comparison with RP only in patients with stage III PC. **Material and methods.** A retrospective analysis was performed on 50 patients with stage III PC. From 2015 to 2019, patients underwent radical prostatectomy (RP). Patients were divided into groups: I (n=25) group after RP and dynamic follow-up, II (n=25) – after RP, radiation and hormone therapy. The main parameters of the study were: overall survival (OS), relapse-free survival (RFS), and cancer-specific survival (CSS). **Results.** Age, PSA level in both groups was the same in both groups. Biochemical recurrence was found in 28 % (n=7) of patients in group I, and 16 % (n=4) in group II. The average time to biochemical recurrence was 15±12.7 months in group I and 6 months in group II. Local relapse in regional lymph nodes was detected in 4 % (n=1) in group I. OS and CSS in both groups was 100 %. RFS was 72 % (n=18) in group I and 84 % (n=21) in group II. **Conclusion.** The results of our study demonstrated the effectiveness of adjuvant radiation and hormone treatment in patients with stage III, which is confirmed by higher rates of RFS.

Key words: prostate cancer, radical prostatectomy, adjuvant radiation and hormone therapy.

Актуальность

В настоящее время выбор тактики ведения пациентов с местнораспространенными формами рака предстательной железы (РПЖ) остается предметом для дискуссий в онкоурологическом сообществе [1, 2]. При этом III стадия считается пограничной, при которой могут быть использованы различные методы лечения: выполнение радикальной простатэктомии (РПЭ), проведение лучевой и гормональной терапии [3, 4, 5]. В то же время большинство экспертов поддерживают идею мультимодального подхода [6, 7]. В данном случае хирургическое вмешательство является лишь первым этапом, в дальнейшем возможно проведение как ранней адъювантной, так и поздней спасительной дистанционной лучевой терапии (ДЛТ), а также назначение гормональных препаратов [8, 9, 10].

Цель исследования – оценить отдаленные результаты комбинированного (радикальная простатэктомия с адъювантной лучевой и гормональной терапией) лечения у пациентов с III стадией в сравнении с радикальной простатэктомией, выполненной в монотерапии.

Материал и методы

Материалом для ретроспективного анализа послужили сведения о 50 пациентах с III стадией (pT3a–bN0M0), которым в период с 2015 по 2019 г. в отделении онкологии АО МСЧ «Нефтяник» выполнена РПЭ. Всем пациентам I группы после РПЭ выполнялось динамическое наблюдение, больные II группы (n=25) после РПЭ получили лучевую и гормональную терапию в течение 3–6 мес. Критериями включения в исследование являлись следующие параметры: степень распространенности злокачественного процесса, соответствующая III

стадии; отсутствие регионарных и отдаленных метастазов по результатам обследования и морфологического заключения, отсутствие положительного хирургического края после перенесенной радикальной простатэктомии.

После операции пациенты состояли на диспансерном наблюдении в МКМЦ «Медицинский город», а также проходили регулярное обследование: исследование ПСА через 3, 6, 12 мес, выполнение ультразвуковых методов обследования и выполнение по показаниям КТ и/или МРТ. Критерием биохимического рецидива явилось двукратное последовательное повышение ПСА более 0,2 нг/мл.

Всем пациентам из группы комбинированного лечения проводили облучение в условиях 3D-конформного планирования с режимом фракционирования 5 раз в неделю. Зона лучевой терапии включала ложе предстательной железы, семенных пузырьков, а также зону регионарных лимфоузлов.

Основными изучаемыми параметрами исследования считались отдаленные результаты лечения: общая выживаемость (ОВ), безрецидивная выживаемость (БВ) и раковоспецифическая выживаемость (РСВ). За начало наблюдения принималась дата оперативного вмешательства, датой завершения исследования считалось 01 января 2020 года. При расчете ОВ в качестве события устанавливался факт смерти от любой причины, соответственно, при учете РСВ – факт смерти от причины, непосредственно связанной с РПЖ. Под БВ подразумевалось процентное количество больных, не имеющих подтвержденных признаков биохимического, локального рецидива и системного прогрессирования.

Результаты

Такие показатели, как возраст, уровень ПСА, а также период наблюдения, были схожи в обеих группах сравнения. Так, средний возраст пациентов составил $64 \pm 4,7$ и $62 \pm 5,9$ года, предоперационные уровни ПСА – $9,6 \pm 7,6$ и $12,8 \pm 12,1$ нг/мл, а медиана продолжительности наблюдения составила $1,9 \pm 1,08$ года в I группе и $2,25 \pm 0,98$ года во II.

Все пациенты из II группы получали лучевую терапию, суммарная очаговая доза (СОД) составила 46–50 Гр у 88 % ($n=22$), 66–74 Гр у 12 % ($n=3$). Также 44 % ($n=11$) пациентов из II группы получали адъювантную гормональную терапию в среднем в течение $6 \pm 1,7$ мес аналогами лютеинизирующего релизинг-гормона (аЛГРГ).

Биохимический рецидив установлен у 28 % ($n=7$) пациентов в I группе и потребовал проведения терапии аЛГРГ у 16 % ($n=4$) во II группе. Сроки наступления биохимического рецидива составили в среднем $15 \pm 12,7$ мес в I группе и 6 мес во II. Локальный рецидив в виде поражения регионарного лимфоузла был зарегистрирован у 4 % ($n=1$) в I группе. ОВ в обеих группах составила 100 %, РСВ была одинаковой в обеих группах – 100 %. Показатель БРВ был 72 % ($n=18$) в первой группе и 84 % ($n=21$) во второй.

Выводы

Проведенное исследование носило ретроспективный характер. Результаты нашего исследования продемонстрировали эффективность и целесообразность проведения лучевого и гормонального лечения в адъювантном режиме у пациентов с III стадией, что подтверждается более высокими показателями безрецидивной выживаемости. Учитывая дискуссионность и неоднозначность вопроса лечения местнораспространенных форм РПЖ, требуется проведение крупных проспективных исследований, направленных на изучение, разработку и оценку мультимодального подхода в тактике ведения больных с III стадией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bandini M., Marchioni M., Preisser F., Zaffuto E., Tian Z., Tilki D., Montorsi F., Shariat S.F., Saad F., Briganti A., Karakiewicz P.I. Survival after radical prostatectomy or radiotherapy for locally advanced (cT3) prostate cancer. *World J Urol.* 2018 Sep; 36(9): 1399–1407. doi: 10.1007/s00345-018-2310-y.
2. Gandaglia G., Briganti A., Clarke N., Karnes R.J., Graefen M., Ost P., Zietman A.L., Roach M.3rd. Adjuvant and Salvage Radiotherapy after Radical Prostatectomy in Prostate Cancer Patients. *Eur Urol.* 2017 Nov; 72(5): 689–709. doi: 10.1016/j.eururo.2017.01.039.
3. Демешко П.Д. Сравнительный анализ отдаленных результатов радикальной простатэктомии и дистанционной лучевой терапии у пациентов, страдающих раком предстательной железы с высоким онкологическим риском. *Онкоурология.* 2015; 2: 61–68.
4. Кельн А.А., Зырянов А.В., Измайлов А.А., Зотов П.Б., Знобищев В.Г., Пономарев А.В. Сравнительный анализ нежелательных явлений при использовании различных методик биопсии предстательной железы. *Онкоурология.* 2019; 1: 66–74.
5. Попков В.М. Диагностика и комбинированное лечение больных с местно-распространенным раком простаты (обзор). *Саратовский научно-медицинский журнал.* 2015; 3: 317–322.
6. Поляков С.Л. Популяционный анализ результатов лечения пациентов, страдающих раком предстательной железы III–IV стадии без отдаленных метастазов. *Онкологический журнал.* 2017; 4: 52–56.
7. Jang T.L., Patel N., Faiena I., Radadia K.D., Moore D.F., Elsamra S.E., Singer E.A., Stein M.N., Eastham J.A., Scardino P.T., Lin Y., Kim I.Y., Lu-Yao G.L. Comparative effectiveness of radical prostatectomy with adjuvant radiotherapy versus radiotherapy plus androgen deprivation therapy for men with advanced prostate cancer. *Cancer.* 2018 Oct 15; 124(20): 4010–4022. doi: 10.1002/cnrc.31726.

8. Зырянов А.В., Кельн А.А., Суриков А.С., Пономарев А.В., Купчин А.В., Лебедев А.В., Попов И.Б. Диагностическая ценность повторной биопсии предстательной железы под fusion-контролем. Онкоурология. 2017; 3: 71–76.

9. Зырянов А.В., Попов И.Б., Пономарев А.В., Кельн А.А., Суриков А.С. Прицельная биопсия предстательной железы под фьюжен-контролем МРТ и УЗ. Академический журнал Западной Сибири. 2016; 12 4(65): 28–30.

Лукьянов И.В. Лечение рака предстательной железы в стадии Т3. Уральский медицинский журнал. 2013; 4: 86–94.

РАЗЛИЧНЫЕ РЕЖИМЫ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С ВНУТРИМОЗГОВЫМИ МЕТАСТАЗАМИ

**Т.А. Шевченко, Н.С. Важинская, С.Ю. Мельник, П.В. Полушкин,
С.Д. Троценко**

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научный центр рентгенодиагностики» МЗ РФ, г. Москва, Россия

Аннотация

Представлены данные о результатах проведения стереотаксической лучевой терапии в режиме гипофракционирования у больных с внутримозговыми метастазами. Показано, что стереотаксическая лучевая терапия в режиме гипофракционирования может самостоятельно применяться с целью достижения локального контроля над очагами.

Ключевые слова: метастазы в головной мозг, внутримозговые метастазы, лучевая терапия, стереотаксическая лучевая терапия в режиме гипофракционирования.

HYPOFRACTIONATED STEREOTACTIC RADIOTHERAPY FOR THE TREATMENT OF BRAIN METASTASES

**T.A. Shevchenko, N.S. Vazhinskaya, S.Y. Melnik, P.V. Polushkiv,
S.D. Trotsenko**

Russian Scientific Center of Roentgenoradiology of Russia, Moscow, Russia

Abstract

Data on the results of Hypofractionated Stereotactic Radiotherapy of patients with intracranial metastases. It is shown that Hypofractionated Stereotactic Radiotherapy can be used independently for local control of brain metastases.

Key words: brain metastases, intracranial metastases, hypofractionated stereotactic radiotherapy (HSRT), radiotherapy.

Актуальность

Внутримозговые метастазы – наиболее распространенная опухоль центральной нервной системы, встречаются в 10 раз чаще, чем все первичные опухоли головного мозга. Метастазы в головной мозг (МГМ) возникают у 20–40 % онкологических пациентов [1]. Частота выявляемости МГМ имеет тенденцию к росту – это связано, прежде всего, с увеличением продолжительности жизни онкологических пациентов, а также с использованием в рутинной практике высокоточных методов диагностики, таких как МРТ головного мозга с контрастным усилением [2]. Рак молочной железы, рак легких, меланома – основные источники метастазирования в головной мозг, при этом в 13 % случаев первичный очаг остается неизвестным [3]. Особенности лечения пациентов с метастатическим поражением головного мозга обусловлены наличием гематоэнцефалического барьера. Системная химиотерапия в данном случае малоэффективна и уходит на второй план, так как большинство химиопрепаратов не проникают в мозговую паренхиму. Варианты лечения включают хирургию, радиохимию, облучение всего головного мозга (ОВГМ) отдельно или в комбинации, а также симптоматическую терапию.

Хирургическое лечение и облучение всего головного мозга (ОВГМ) до сих пор являются основными методами лечения пациентов с интракраниальными метастазами. Хирургическое лечение остается стандартом лечения больших МГМ с клиническими проявлениями масс-эффекта. Однако проведение хирургического лечения не всегда возможно, особенно у пациентов с плохим функциональным статусом (индекс Карновского ≤ 70) или в случае расположения метастазов в неоперабельных зонах мозга. Облучение всего головного мозга остается наиболее часто применяемым методом лечения МГМ. В среднем, общая выживаемость пациентов после проведения ОВГМ в самостоятельном варианте составляет около 4 мес и до 9 мес в случае проведения комбинированного лечения (хирургическая резекция и ОВГМ) [4, 5]. Проведение облучения всего объема головного мозга в самостоятельном варианте связано с недостаточным по величине и ограниченным по времени локальным контролем опухоли без увеличения общей выживаемости, а также негативным влиянием на качество жизни пациентов в результате снижения нейрокогнитивных функций [6]. Таким образом, проведение ОВГМ в самостоятельном варианте должно рассматриваться как недостаточное лечение у пациентов с МГМ и хорошим прогнозом.

В качестве первой линии терапии метастазов головного мозга все чаще рассматривается стереотаксическая лучевая терапия (SRS), причем данная методика в самостоятельном варианте практически не уступает по эффективности хирургическому методу лечения [7]. При размере очагов в головном мозге $>15 \text{ см}^3$ (диаметр $>3 \text{ см}$) и близком их расположении к критическим структурам методом выбора будет являться стереотаксическая лучевая терапия в режиме гипофракционирования [8].

Эффективность лечения зависит от радиобиологических особенностей первичной опухоли, размера очагов, разовой и суммарной дозы облучения [9]. Основные исследования в клинической радиобиологии сегодня посвящены оптимизации дозы и режимов фракционирования для различных опухолей.

Материал и методы

С 2017 по 2019 г. в ФБГУ РНЦРР стереотаксическая лучевая терапия в режиме гипофракционирования проведена 72 пациентам с внутримозговыми метастазами злокачественных эпителиальных опухолей и меланомы, которым было невозможно провести радиохирургию из-за большого объема ($>3 \text{ см}^3$) или близости критических структур. Источниками метастазирования в головной мозг были: рак молочной железы (29 пациентов), рак легких (32 пациента), меланома (8 пациентов), рак желудка (2 пациента). Применяемые режимы фракционирования являются сопоставимыми по биологически эквивалентной дозе (БЭД): 10 фракций $\times 4 \text{ Гр}$, 5 фракций $\times 6 \text{ Гр}$, 3 фракции $\times 8 \text{ Гр}$. Осложнения были оценены в соответствии с критериями токсичности центральной нервной системы Radiation Therapy Oncology Group (RTOG).

Результаты

Медиана наблюдения составила 10 мес ($\pm 2,1$). Улучшение в виде регрессии очагов достигнуто у 54 (75 %) пациентов, стабилизация очагов – у 13 (18 %) пациентов, у 5 (7 %) пациентов возник локальный рецидив. Медиана безрецидивной выживаемости составила 5,6 мес. У 6 (8 %) пациентов по данным МРТ и ПЭТ-КТ был диагностирован радиационный некроз (РН). Ни у одного из пациентов не было зарегистрировано неврологической токсичности выше 2-го класса по RTOG.

Выводы

Таким образом, для пациентов с внутримозговыми метастазами большого размера ($>3 \text{ см}^3$) курс стереотаксической лучевой терапии в режиме гипофракционирования является методом выбора. При этом проведение лечения улучшает качество жизни больных при минимальных токсических реакциях. Результаты лечения сопоставимы с данными хирургического вмешательства у этой категории онкологических больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gavrilovic I.T., Posner J.B. Brain metastases: epidemiology and pathophysiology. *J Neurooncol* 2005 Oct; 75(1): 5–14.
2. Klos K.J.M., O'Neill B.P.M. Brain Metastases. *Neurologist*. 2004. 10(1): 31–46.
3. Kim D.G., Lunsford L.D. Current and Future Management of Brain Metastasis. *Prog Neurol Surg*. Basel, Karger, 2012; 25: 1–12.
4. Baumert B.G., Rutten I., Dehing-Oberije C., Twijnstra A., Dirx M.J., Debougnoux-Huppertz R.M., Lambin P., Kubat B. A pathology-based substrate for target definition in radiosurgery of brain metastases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006 Sep 1; 66(1): 187–94.
5. Tendulkar R.D., Liu S.W., Barnett G.H., Vogelbaum M.A., Toms S.A., Jin T., Suh J.H. RPA classification has prognostic significance for surgically resected single brain metastasis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006 Nov 1; 66(3): 810–7.

6. Aoyama H., Tago M., Kato N., Toyoda T., Kenjo M., Hirota S., Shioura H., Inomata T., Kunieda E., Hayakawa K., Nakagawa K., Kobashi G., Shirato H. Neurocognitive function of patients with brain metastasis who received either whole brain radiotherapy plus stereotactic radiosurgery or radiosurgery alone. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2007 Aug 1; 68(5): 1388–95.

7. Измайлов Т.Р., Смыслов А.Ю., Амелина Н.С. Подготовка и реализация планов облучения пациента, проходившего лечение в ФГБУ «РНЦРР» с использованием метода стереотаксиса. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России.* 2017; 4: 102–118.

8. Minniti G., Scaringi C., Paolini S., Lanzetta G., Romano A., Ciccone F., Osti M., Enrici R.M., Esposito V. Single-Fraction Versus Multifraction (3×9 Gy) Stereotactic Radiosurgery for Large (>2 cm) Brain Metastases: A Comparative Analysis of Local Control and Risk of Radiation-Induced Brain Necrosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2016 Jul 15; 95(4): 1142–8. doi: 10.1016/j.ijrobp.2016.03.013.

9. Varlotto J.M., Flickinger J.C., Niranjan A., Bhatnagar A., Kondziolka D., Lunsford L.D. The impact of whole-brain radiation therapy on the long-term control and morbidity of patients surviving more than one year after gamma knife radiosurgery for brain metastases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 62: 1125–32.

ПСИХИАТРИЯ И НАРКОЛОГИЯ

КЛИНИЧЕСКАЯ ТИПОЛОГИЯ ТРЕВОЖНОГО РАССТРОЙСТВА СЕПАРАЦИИ У ВЗРОСЛЫХ АМБУЛАТОРНЫХ ПАЦИЕНТОВ С НЕПСИХОТИЧЕСКИМИ ПСИХИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ

И.А. Аркуша

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Изучена распространенность тревожного расстройства сепарации (ТРС) среди взрослых амбулаторных пациентов с сопутствующими непсихотическими психическими расстройствами. За период с января по ноябрь 2018 года доля пациентов, которые имели диагноз ТРС, составила 5,4 % от числа пациентов, обратившихся в консультативное отделение за амбулаторной помощью. На основании структуры сепарации и в соответствии с клиническими характеристиками выделено два варианта ТРС: аффективный и когнитивно-поведенческий. Полученные результаты имеют практическую значимость: разделение на типы позволит улучшить диагностику ТРС у взрослых и персонифицировать терапевтические подходы.

Ключевые слова: сепарационная тревога, тревожное расстройство сепарации у взрослых, возрастные особенности, МКБ-11, клиническая типология, сепарация.

CLINICAL TYPOLOGY OF SEPARATION ANXIETY DISORDER IN ADULT OUTPATIENTS WITH NONPSYCHOTIC MENTAL DISORDERS

I.A. Arkusha

Federal State Budgetary Institution «V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

The prevalence of separation anxiety disorder (SAD) among adult outpatients with comorbid nonpsychotic mental disorders was studied. Between January and November 2018, the proportion of patients diagnosed with SAD amounted to 5.4 % of the number of patients who applied to the consultative department for outpatient care. Based on the structure of separation and in accordance with the clinical characteristics, two variants of SAD are distinguished: affective and cognitive-behavioral. The results obtained are of practical importance: the division into types will improve the diagnosis of SAD in adults and personify therapeutic approaches.

Key words: separation anxiety, separation anxiety disorder in adults, age-related features, ICD-11, clinical typology, separation.

Тревожное расстройство сепарации (ТРС) – это психическое расстройство, относящееся к группе тревожных и связанных со страхом расстройств (по МКБ-11), от которого в течение жизни страдают примерно 4,8 % взрослых, а 12-месячная распространенность среди взрослого населения составляет 1,1 % [1]. В 2/3 случаев расстройство начинается в детском возрасте и в 36,1 % сохраняется во взрослом возрасте [2,3]. Фокусом опасений при ТРС являются страх и беспокойство по поводу разлучения со значимыми другими. Актуальность исследования также обусловлена трудностями диагностики ТРС вследствие низкой информированности клиницистов о клинических проявлениях данного расстройства, преверженности врачей психоаналитическим подходам к вопросам сепарации, а также высокой

коморбидностью с другими психическими расстройствами и отсутствием терапевтических стратегий лечения взрослой формы расстройства [3,4].

Цель исследования – изучение распространенности и клинических проявлений ТРС у взрослых с непсихотическими психическими расстройствами в амбулаторной сети.

Материал и методы

В исследование включено 565 пациентов старше 18 лет, обратившихся в консультативное отделение ГБУЗ «НПЦ им. Соловьева» МЗ РФ. Дизайн исследования предусматривал два этапа. На первом этапе с целью оценки распространенности ТРС у пациентов с психическими расстройствами непсихотического уровня (диагностика – клинико-психопатологический метод, краткое международное нейropsychиатрическое интервью, MINI) в период с января по ноябрь 2018 года было опрошено 557 человек с использованием самоопросника сепарационной тревоги взрослых (ASA-27). В результате скрининга отобрано 138 пациентов, имеющих клинически значимые уровни сепарационной тревоги ($ASA-27 \geq 22$ баллов). Данным пациентам проводилась верификация диагноза ТРС с применением клинико-психопатологического метода и специфического клинического интервью – структурированного клинического интервью для симптомов сепарационной тревоги (SCI-SAS). На втором этапе (изучение клинической типологии пациентов с ТРС) остановлено скрининговое обследование пациентов, однако продолжился набор пациентов с ТРС с использованием клинического метода, психометрических инструментов (SCI-SAS, MINI, ASA-27). У пациентов с ТРС в структуре других непсихотических психических расстройств ($n=44$) изучались стили привязанности (Опросник «Опыт близких отношений», ECR). Всем участникам предлагалось подписать информированное согласие на участие в исследовании. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией прав человека (World Medical Association, 1991), а его дизайн был рассмотрен и одобрен этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ ПН им. В.П. Сербского» МЗ РФ, локальным этическим комитетом ГБУЗ «НПЦ им. Соловьева» МЗ РФ.

Средний возраст пациентов ($n=565$) составил $40,1 \pm 13,3$. Среди опрошенных преобладали женщины (82,8 %), 17,2 % составили мужчины. Более половины пациентов (59,1 %) имели высшее образование, среднее – 40,9 %. Поровну разделились пациенты, состоящие и не состоящие в браке (50,1 % и 49,9 % соответственно), трудоустроенные (49,6 %) и не имеющих дополнительных занятий (50,4 %).

Результаты

На первом этапе из 557 человек, опрошенных с использованием ASA-27, 138 (24,8 %) набрали баллы, равные или выше 22, что свидетельствовало о клинически значимых уровнях тревоги у исследуемых пациентов. Данным пациентам проведены клинико-психопатологическое исследование и структурированное клиническое интервью для оценки симптомов сепарационной тревоги (SCI-SAS) и верификации диагноза. Диагноз тревожного расстройства сепарации был установлен 30 взрослым пациентам (5,4 %). Средний возраст начала расстройства $17,6 \pm 13,5$, в 56,7 % – с началом в детском возрасте, 43,3 % – после 18 лет (табл. 1). Пациенты с ТРС представлены преимущественно женщинами (90 %), имеющими высшее образование (73,3 %), трудовую занятость (58,6 %), большая часть опрошенных (60,7 %) состояли в браке. ТРС чаще сопутствовало аффективным (54,6 %) и тревожным (18,2 %) расстройствам, реже шизотипическим (9,1 %) и личностным (4,6 %) патологиям, коморбидность с другими непсихотическими расстройствами, такими как ипохондрическое и соматизированное расстройства, расстройство адаптации, составила 13,5 %.

На следующем этапе на материале 44 пациентов с установленным диагнозом ТРС проводилась типологизация в зависимости от клинических проявлений. В основу типологии положены психоаналитические представления о структуре сепарации, включающей в себя аффективный и когнитивно/поведенческий компоненты [5]. Выделено два клинических варианта ТРС: аффективный и когнитивно-поведенческий. Первый вариант отмечался в большем числе случаев (61,4 %), при нем в клинической картине доминировали эмоциональные нарушения (страх и беспокойство, связанные с ситуациями сепарации) без формирования избегающего поведения или других устойчивых поведенческих паттернов. Сепарационная тревога в 73,1 % случаях характеризовалась высоким уровнем (нередко достигала степени панических приступов), проявлялась в беспокойстве о благополучии, здоровье и безопасности объекта привязанности, сопровождалась инсомническими нарушениями (ночные кошмары о возможной разлуке, трудности при засыпании в отсутствие объекта привязанности), соматизацией (боли, тошнота, рвота), также нередко происходило формирование вторичной фобической симптоматики в виде страха спать вне дома, оставаться без объекта привязанности. В доминирующем числе случаев привязанность к значимым другим характеризовалась тревожно-озабоченным (зависимым) стилем, носила характер эмоциональной

зависимости и формировалась в отношении двух или более лиц (59,7 %). Аффективному варианту ТРС в большей степени сопутствовали аффективные расстройства (55,5 %), тревожные расстройства (22,2 %), в равной степени представлены расстройства адаптации и соматизированное расстройство (по 7,9 %), ипохондрическое расстройство и эмоционально неустойчивое расстройство личности пограничного типа (по 3,7 %).

Когнитивно-поведенческий вариант встречался значительно реже (38,6 %) и характеризовался чрезмерной тревогой, связанной с возможностью остаться беспомощным без одобрения и поддержки объекта привязанности, когнитивными и поведенческими симптомами, связанными с ситуациями разлуки, например, формированием избегающего поведения. Избегающее поведение реализовывалось через повышение контроля над жизнью объекта привязанности, которое часто стереотипизировалось и приобретало странный, нелепый характер – непрерывная перепроверка самочувствия, местонахождения, безопасности путем повторяющихся телефонных звонков фигуре привязанности или его окружению (коллегам, друзьям и пр.), смс-сообщений, продления времени совместного пребывания (инициация длительных бесед, разработка определенного распорядка, располагающего к частым встречам со значимым другим). Пациенты с данным вариантом ТРС были склонны к формированию идей (ревности, ипохондрического содержания) сверхценного и сверхценно-бредового уровня, мышление нередко носило характер магического, страх утраты объекта привязанности мог принимать форму идеобсессий. Привязанность пациентов с когнитивно-поведенческим вариантом ТРС в 75 % случаев также характеризовалась преимущественно тревожно-озабоченным стилем, 25 % имели избегающе-опасающийся стиль; зависимость от значимого лица носила характер функциональной и аттитюдной (установки, ценности, убеждения соответствовали таковым у объекта привязанности). 2/3 пациентов формировали привязанность только к одному лицу (романтический партнер/супруг или мать). В структуре сопутствующих расстройств в 49,7 % встречались депрессивные состояния, в 2 раза реже (11,8 %), чем в первом варианте, наблюдались тревожные расстройства, только данному варианту ТРС сопутствовали шизотипические расстройства (23,5 %), в 5,9 % – истерическое расстройство личности.

Заключение

ТРС имеет высокую распространенность (5,4 %) среди взрослых амбулаторных пациентов с непсихотическими психическими расстройствами, соответствующую другим тревожным расстройствам. Выделенные два варианта ТРС – аффективный и когнитивно-поведенческий – могут служить основой для разработки научно обоснованных терапевтических стратегий.

Таблица 1

Клинико-демографические характеристики пациентов с ТРС

Показатели	% больных
Общее количество больных; абс/%	30/100
Средний возраст; лет	35,2±11,8
Пол (м/ж)	9,1/90,9
Трудовая занятость (работает/не работает)	54,4/45,5
Образование (среднее/высшее)	31,8/68,2
Семейное положение (в браке/в браке не состоит)	52,3/47,7
Средний возраст начала ТРС; лет	17,6±13,5
ТРС с началом в детстве/во взрослом возрасте	56,7/43,3
Диагноз по МКБ-10	
Ипохондрическое расстройство (F45.2)	4,5
Расстройство приспособительных реакций (F43.2)	4,5
Преимущественно навязчивые мысли и размышления (F42.0)	6,8
Смешанное тревожное и депрессивное расстройства (F41.2)	9,1
Генерализованное тревожное расстройство (F41.1)	2,3
Паническое расстройство (F41.0)	9,1
Дистимия (F34.1)	2,3
Рекуррентное депрессивное расстройство (F33.1)	13,6
Депрессивный эпизод (F32)	18,2
Биполярное аффективное расстройство (F31.3)	11,4
Шизотипическое расстройство (F21.8)	9,1
Соматизированное расстройство (F45.0)	4,5
Эмоционально неустойчивое расстройство личности, пограничный тип (F60.31)	2,3
Истерическое расстройство личности (F60.4)	2,3

ЛИТЕРАТУРА

1. Silove D., Alonso J., Bromet E., Gruber M., Sampson N., Scott K., Andrade L., Benjet C., Caldas de Almeida G.M., Girolamo G., Jonge P., Demyttenaere K., Fiestas F., Florescu S., Gureje O., He Y., Karam E., Lepine J.P., Murphy S., Villa-Posada J., Zarkov Z., Kessler R.C. Pediatric-Onset and Adult-Onset Separation Anxiety Disorder Across Countries in the World Mental Health Survey. *Am J Psychiatry*. 2015 Jul; 172(7): 647–56.
2. Silove D.M., Marnane C.L., Wagner R., Manicavasagar V.L., Rees S. The prevalence and correlates of adult separation anxiety disorder in an anxiety clinic. *BMC Psychiatry*. 2010 Mar 10; 10: 21. doi: 10.1186/1471-244X-10-21.
3. Shear K. Prevalence and Correlates of Estimated DSM-IV Child and Adult Separation Anxiety Disorder in the National Comorbidity Survey Replication. *American Journal of Psychiatry*. 2006; 163(6): 1074.
4. Manicavasagar V., Silove D. Why are we still missing adult separation anxiety disorder in clinical practice? *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*. 2016; 50(8): 807–808.
5. Hoffman J.A. Psychological separation of late adolescents from their parents. *Journal of counseling psychology*. 1984; 31(2):170.

СМЕНА ПАРАДИГМ В ПСИХИАТРИИ: К РАЗВИТИЮ УЧЕНИЯ Ю.Л. НУЛЛЕРА ОБ ЭВОЛЮЦИОННОМ ПОДХОДЕ В КЛИНИКЕ КОМБИНИРОВАННЫХ ФОРМ ПСИХОПАТОЛОГИЧЕСКИХ ДИАТЕЗОВ

А.А. Бадалов

Кыргызско-Российский Славянский университет, г. Бишкек, Кыргызская Республика

Аннотация

В статье дается исторический обзор психиатрических работ, посвященных вопросу психопатологического диатеза начиная с середины XIX века и до настоящего времени. Прослеживается становление психопатологического диатеза в качестве концептуальной единицы, его связь с такими понятиями, как «дегенерация», «психопатия», «предиспозиция», «расстройство личности». Постулируется необходимость рассмотрения и дальнейшего междисциплинарного изучения комбинированных форм психопатологического диатеза с позиции эволюционно-психиатрической парадигмы Ю.Л. Нуллера.

Ключевые слова: психопатологический диатез, расстройство личности, эволюционный подход.

«A PARADIGM CHANGE IN PSYCHIATRY»: TO THE DEVELOPMENT OF THE STUDIES OF YU.L. NULLER ON THE EVOLUTIONARY APPROACH IN THE CLINIC OF COMBINED FORMS OF PSYCHOPATHOLOGICAL DIATHESIS

A.A. Badalov

Kyrgyz-Russian Slavic University, Bishkek, Kyrgyz Republic

Abstract

The article reviews the historical review of psychiatric works on the issue of psychopathological diathesis from the mid-19th century to the present. The formation of psychopathological diathesis as a conceptual unit is traced, its connection with such concepts as «degeneration», «psychopathy», «preposition», «personality disorder». The necessity of considering and further interdisciplinary study of combined forms of psychopathological diathesis from the perspective of the evolutionary-psychiatric paradigm of Yu.L. Nuller.

Key words: psychopathological diathesis, personality disorder, evolutionary approach.

Актуальность

В своем последнем, к сожалению, так и не законченном труде «Структура психических расстройств» Ю.Л. Нуллер не только писал о необходимости пересмотра согласно с положением о смене научных революций Т. Куна всей системы классификации психической патологии [1]. Основной его концепцией стала идея ревизии трудов «старых» авторов, признанных

авторитетов психиатрической мысли, с возможностью использования современных методов исследования, в том числе нейровизуализации, а также наработанного патопсихологического и нейропсихологического аппарата. То есть в качестве единственно возможного пути прогрессивного развития рассматривается исключительно междисциплинарный. Кроме того, Ю.Л. Нуллер изначально предлагает общую теоретическую основу, могущую стать базисом, объединяющим на основе межпарадигмального перевода все задействованные дисциплины, а именно теорию эволюции. Согласно основному постулату, предлагаемому им в качестве пролегомена для создания концептуальной методологии, «динамические мутации являются фактором, ускоряющим эволюцию», а психические расстройства рассматриваются в качестве «платы» за эволюционный прогресс, а также выполняют функцию элиминации патологических генов из популяции. Мы, в свою очередь, рассматривая развивающееся в настоящее время учение о психопатологических диатезах, неоднократно писали о комбинированных их формах, приводя доводы в пользу возможности междисциплинарного их исследования нейрофизиологическими методами [2,3].

Целью данного исследования является осуществление краткого обзора становления понятия психопатологического диатеза вплоть до современного его положения в структуре психических расстройств, а также отношения комбинированных его форм к понятию «дегенерация» (согласно Ю.Л. Нуллеру, совсем не устаревшему).

Материал и методы

Изучение литературы и собственных источников информации (клинических наблюдений, патопсихологических и нейрофизиологических исследований) по выбранной теме.

Результаты

Ж-Э. Д. Эскироль, автор первого клинического руководства по психиатрии, выделял т.н. признаки predispositions к мономамиям: темперамент сангвинический или нервно-сангвинический; одаренность блестящим, экзальтированным, живым воображением; характер «глубоко размышляющего духа» и т. д., создав основу учения о предрасположенности к развитию психической патологии [4]. Б.О. Морель выделяет шесть групп психических заболеваний, из которых наиболее важна для нас первая («наследственные психические болезни»), в которую входит врожденный «нервный темперамент», или «невропатическое состояние». Морель же впервые говорит о том, что существенной особенностью, «удивительным феноменом», даже у наиболее дегенерированных является доминирование той или иной артистической или интеллектуальной способности на фоне «общего беспорядка идей и чувств», наличие специальных способностей, особенно в «искусстве воображения». В. Маньян и Ж. Легрэн, являясь последователями Мореля, делили все психические заболевания на 2 группы: конституциональные или диатетические – в основном наследственные, причина которых кроется в самом индивидууме, и «случайные» заболевания. Тем не менее, первая группа разделена на врожденную и приобретенную predisposition. К дегенерациям относится врожденная. Для Маньяна-Легрена психопатия, невропатия, неуравновешенность и дегенерация – синонимы [4]. Режи, описывая конституциональное помешательство, очень подробно останавливался на группах «неуравновешенных» и «оригиналов» (дисгармонии – промежуточные состояния между нормой и патологией), особенно напирая на неравномерность развития интеллектуально-когнитивной и эмоционально-волевой сфер. К. Леви-Валенси называл конституциональными маниаками тех, у кого часто наблюдаются переходы к меланхолии и смешанные состояния. Он же стал заменять термин «дегенерация» термином «конституция». Определение «наследственного невроза» по Г. Шюле – в целом негармонический, противоречивый склад характера, его «непонятность». Кроме того, Шюле выделял «просто предрасположенных» – по сути, диатетиков, что соответствует «просто предрасположенным» и «дегенерантам» Маньяна-Легрена. В популярном учебнике Крафт-Эбинга, в целом построенном по тем же канонам, что и руководство Шюле, тем не менее, не отделяются заболевания инвазивного мозга от дегенераций в целом [4]. «Прирожденная психопатическая конституция» С. Корсакова, описывая которую он также говорил о тропности различных форм ее к отдельным большим психозам, включает в себя аномалии характера, в том числе эмоций (чрезвычайную возбудимость, тупость аффекта и извращения чувств) и интеллекта, к последнему относятся не только глуповатость и слабость, но и дисгармония (блестящие свойства в одной области и несообразительность в другой), склонность к поверхностным обобщениям и резонерству, рассеянность, навязчивость, чрезвычайно развитое воображение и уход в мир фантазий. Э. Крепелин в 8-м издании своего учебника выделяет несколько типов психопатий, впервые проложив тенденцию «перевода» учения о дегенерациях в учение о расстройствах личности. Тем не менее, дополнительной группой в его классификации вы-

деляются так называемые первичные болезненные состояния, основанные на дегенерациях, куда относятся: нервность, навязчивый невроз, импульсивное помешательство и половые извращения. Э.Кречмер выделял четыре основных психопатических типа [4]. К. Бирнбаум впервые заговорил о «тотальности» нарушений при психопатиях и, будучи судебным психиатром, очень активно сводил их все к криминалитету. В последующем именно на крепелиновское подразделение психопатий ориентировались наиболее влиятельные психиатры, определившие доминирующее понимание и развитие концепции психопатических личностей на несколько десятилетий вперед: К. Шнайдер в немецкой и П.Б. Ганнушкин в отечественной психиатрии [5,6]. Немногие психиатры продолжали писать в старой манере – с использованием термина «дегенерация». Т. Циен описывает истерическую, эпилептическую, а также неврастеническую, травматическую и токсическую психопатические конституции; однако отдельным типом является «дегенеративная» психопатическая [7]. Г.Е. Сухарева в описании психопатий и дегенеративных психозов придает большое влияние органическому фактору и выделяет инфантильные формы психопатий [8]. Все неврозы (неврастения, невроз ипохондрический, травматический и пр.) происходят, согласно Г. Груле, на основе врожденной аномальной конституции [9]. Важным в концепции В.А. Гиляровского является его определение дегенерации, или вырождения, как возврата к праформам. Здесь же следует упомянуть учение о прогенерации Н.Н. Баженова – дегенерация как высшая форма, необходимая для эволюционного прогресса [10]. В последующем все более уточняются классификации, связанные с расстройствами личности, а также их отделение от крупных нозологических форм, таких как шизофрения (в том числе латентная), МДП, эпилепсия. Смешанные формы при этом входят в состав последних (шизоаффективное расстройство) [1]. В последнее время, однако, вновь появляется интерес к развитию учения о психопатологическом диатезе как врожденной предрасположенности к развитию психических расстройств, связанный с работами С.Ю. Циркина и А.П. Коцюбинского [11,12]. Данные работы интересны в первую очередь клинко-нозологической спецификацией подобной предрасположенности, что, несомненно, является важным шагом вперед. Однако вновь утрачивается возможность полноценного исследования комбинированных форм психического диатеза, относящихся подобным же образом к группе шизоаффективных (в прошлом, «краевых», «дегенеративных») психозов [2]. При этом мы обосновываем возможность влияния на проявления заболевания таких показателей, как функциональная активность мозга, интеллектуально-когнитивные характеристики, межполушарная асимметрия [3] и т.д.

Выводы

Таким образом, учение о психическом диатезе не только имеет длительную историю развития, красной нитью проходящее через работы практически всех известных авторов-психиатров, но и, выдержав проверку временем, продолжает развиваться, используя все возможности современной науки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Нуллер Ю.Л. Структура психических расстройств. К.: Сфера, 2008. 128 с.
2. Бадалов А.А., Бровкина С.Н. Синдром Икара как смешанная форма психопатологического диатеза. Неврологический вестник. 2016; XLVIII(4): 77–80.
3. Бадалов А.А., Бровкина С.Н., Давидович М.Е., Кадырова А.Ш., Кугаевский И.А., Мамадумарова З.И., Суманов Е.В., Улитина Ю.В. «Принцип химеры»: качественный анализ психофизиологического изоморфизма лиц с расстройством интеграции идентичности. Обзор психиатрии и медицинской психологии им. В.М. Бехтерева. 2018; 2: 3–10.
4. Каннабих Ю.В. История психиатрии. М.: АСТ: Харвест, 2002. 560 с.
5. Шнайдер К. Клиническая психопатология. Киев, 1999. 215 с.
6. Ганнушкин П.Б. Клиника психопатий: их статика, динамика, систематика. Н. Новгород: НГМД, 1998. 128 с.
7. Пятницкий Н.Ю. Понимание психопатических конституций и психического дефекта в концепции Т. Циен. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2016; 116(8): 62–69.
8. Сухарева Г.Е. Клинические лекции по психиатрии детского возраста. Т. II. М., 1959. 406 с.
9. Пятницкий Н.Ю. Аномальные личности в концепции Г. Груле. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2017; 5: 72–76.
10. Пятницкий Н.Ю. Учение о психопатических конституциях в концепции В.А. Гиляровского. Психиатрия. 2016; 1: 103–110.
11. Циркин С.Ю. Аналитическая психопатология. М.: БИНОМ. 2012. 288 с.
12. Коцюбинский А.П., Шейнина Н.С., Пенчул Н.А. Предвестники психического заболевания. Сообщение 1. Психопатологический диатез. Обзор психиатрии и медицинской психологии им. В.М. Бехтерева. 2013; 3: 3–10.

ВНУТРЕННЯЯ СТИГМА И КРИТИЧЕСКИЕ СПОСОБНОСТИ

ПАЦИЕНТОВ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

К.Ф. Васильченко, Н.Н. Литай, И.В. Напалков

Омский государственный медицинский университет, г. Омск, Россия

Аннотация

Самостигматизация, или внутренняя стигма, нередко связана с критическими способностями пациентов и в определенных случаях может служить индикатором их состояния и предопределять уровень комплаенса. **Цель** проводимого исследования заключается в изучении взаимосвязи уровня внутренней стигмы и критических способностей пациентов с шизофренией для последующей разработки дифференцированных программ реабилитации. **Материал и методы.** В исследование включены 115 пациентов с установленным диагнозом параноидной шизофрении согласно МКБ-10. Самостигматизация изучалась с использованием ПО «SSMeasure» и шкалы ISMI. Для выявления статистических взаимосвязей были использованы непараметрические методы анализа. **Результаты и обсуждение.** Общий балл внутренней стигмы, полученный при использовании ПО «SSMeasure», не обнаружил статистически значимых корреляционных взаимосвязей с уровнем критических способностей пациентов. Аутопсихическая форма имела слабую отрицательную корреляцию со средним баллом осознания болезни ($R_0 = -0,311$, $p = 0,021$). **Выводы.** Возможно говорить о некоторой взаимосвязи самостигматизации и критических способностей пациентов. Следует продолжить исследование на большей выборке и учитывать клинические проявления болезни.

Ключевые слова: шизофрения, стигма, самостигматизация, внутренняя стигма, критика, инсайт, критические способности.

INTERNALIZED STIGMA AND CRITICISM IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

K.F.Vasilchenko, N.N.Litau, I.V.Napalkov

Omsk State Medical University, Omsk, Russia

Abstract

Self-stigma (internalized stigma) is often associated with the level of criticism of patients and, in some cases, may play the role of indication of their status and cause the compliance level. The **aim** of the study is to investigate the association of the internalized stigma level and patients criticism to develop a differentiated recovery program. **Material and Methods.** 115 patients with diagnosed schizophrenia, according to ICD-10. Self-stigma was investigated by the «SS Measure» software and ISMI scale. Nonparametrically statistics methods were used to find associations. **Results and discussion.** The general level of self-stigma (diagnosed by the SS Measure) had no associations with the criticism level among patients with schizophrenia. Autopsychic type of self-stigma had a negative weak correlation with the mean point of insight ($R_0 = -0,311$, $p = 0,021$). **Conclusions.** It is possible to say about the probable connection of self-stigma and the lever if patients' criticism. Further investigations are needed to be continued in a larger sample with the consideration of the mental status of patients.

Key words: schizophrenia, stigma, self-stigma, internalized stigma, criticism, insight.

Актуальность

Согласно современным представлениям, стигма – это последствия наличия у человека определенного атрибута, проявляющиеся в предубежденном отношении общества к его обладателю. Когда речь идет о душевных расстройствах, эти предубеждения вырастают больше на ожидании возможных странностей в поведении человека, чем на реальном негативном опыте общения с психически больными [1]. Перечисленные факторы вместе с недостаточной информированностью населения о природе и проявлениях психических расстройств приводят к поддержанию негативных стереотипов, таких как «психические заболевания неизлечимы», и «люди с психическими заболеваниями всегда общественно опасны» [2]. Это влечет за собой дополнительные последствия, среди которых нарушение социальной адаптации и снижение качества жизни [3–5], в то время как исследователи под-

черкуют наличие корреляции между уровнем нейрокогнитивного функционирования и уровнем социальной адаптации больных шизофренией [6,7]. На сегодняшний день можно встретить пациентов, которые в большей мере имеют переживания в связи со стигмой, чем от проявлений своего заболевания [8]. Хроническое психическое расстройство и связанное с ним осознание необходимости лечения психофармакологическими средствами ведут к изменению преморбидного представления о собственной личности, снижению самооценки [9] (Михайлова И.И., 2005). Нередко люди с психическими расстройствами, будучи частью общества, стигматизируют себя согласно стереотипам, которые им были известны до манифестации заболевания [10]. Так, они начинают осознавать себя больными, потенциально опасными или неполноценными, адаптируются в роли инвалида. Для шизофрении характерен высокий уровень самостигматизации, играющий важную роль в формировании уровня качества жизни пациентов [6]. Последние исследования показывают, что процесс формирования внутренней стигмы являет собой совокупность реакций пациента на социальную стигму, имеющую место в обществе, и на личный опыт восприятия проявлений психической болезни [9]. Таким образом, мы можем предположить, что важную роль в формировании внутренней стигмы и ее характера играет осознание пациентом проявлений своего заболевания. Осознание, или «инсайт», понимается как «формирование у пациента адекватных суждений о своей болезни» [11]. Осознание психического расстройства имеет сложную структуру, элементы инсайта обладают различной степенью выраженности [12]. От этого может зависеть комплаенс пациента, а также эффективность реабилитационных мероприятий [13, 14]. Принимая во внимание все вышесказанное, можно отметить, что изучение связей между осознанием и самостигматизацией представляется достаточно актуальным для психиатрической науки.

Цель данного исследования заключается в изучении взаимосвязи уровня внутренней стигмы и критических способностей пациентов с шизофренией для последующей разработки дифференцированных программ реабилитации.

Материал и методы

Исследование проводится на базе Клинической психиатрической больницы им. Н.Н. Солодников. На текущем этапе выборка представлена 115 пациентами с установленным диагнозом параноидной шизофрении согласно критериям МКБ-10: 53 % (n=61) мужчин и 47 % (n=54) женщин. Медиана возраста участников исследования составила 35 [26,0; 40,0] лет. Оценка выраженности переживаний внутренней стигмы проводилась с помощью ПО «SS Measure» и «Шкалы самостигматизации при психических заболеваниях» – ISMI (Internalized Stigma of Mental Illness) [15]. Для оценки уровня осознания заболевания использовалась «Шкала нарушения осознания психического расстройства (ШНОПР)» – SUMD (The Scaletto Assess Unawareness of Mental Disorder) [16]. При изучении статистических взаимосвязей между количественными показателями с распределением, отличающимся от нормального, были использованы методы непараметрического анализа.

Результаты и обсуждение

Проведен корреляционный анализ полученных данных с использованием коэффициента корреляции Спирмена. Стоит обратить внимание, что показатели общего балла внутренней стигмы, полученные при использовании ПО «SS Measure», основанном на отечественном «Опроснике по самостигматизации» не обнаружили статистически значимых корреляционных взаимосвязей. Однако следует отметить, что аутопсихическая форма имела слабую отрицательную корреляцию со средним баллом осознания болезни ($R_o = -0,311$, $p = 0,021$). В данном случае возможно предполагать, что аутопсихическая форма самостигматизации тем более выражена, чем ниже показатель осознания болезни, то есть выше критические способности пациента. Кроме того, аутопсихическая форма обнаружила слабую отрицательную корреляционную связь с показателем осознания эффекта от проводимого лечения ($R_o = -0,359$, $p = 0,008$) и с осознанием необходимости его проведения ($R_o = -0,330$, $p = 0,014$). Нами не были обнаружены статистически значимые корреляции компенсаторной и социореверсивной форм самостигматизации с показателями критических способностей пациентов. Интересно отметить, что корреляционный анализ общего уровня внутренней стигмы, выявленного с помощью шкалы ISMI, имел некоторые корреляционные особенности с определенными разделами шкалы SUMD. Так, нами были обнаружены отрицательные корреляционные связи общего показателя самостигматизации с такими параметрами, как: общее представление о психическом расстройстве ($R_o = -0,375$, $p = 0,005$), осознание необходимости лечения ($R_o = -0,307$, $p = 0,022$), осознание эффекта медикаментозной терапии ($R_o = -0,416$, $p = 0,002$). Анализируя анамнестические сведения пациентов с выраженными критическими особенностями

и имеющих преобладание аутопсихической формы самостигматизации, нужно обратить внимание на их высокую комплаентность. Важно отметить, что у пациентов с шизофренией аутопсихическая форма стигмы чаще является проявлением дефицита, чем аффекта, в отличие от непсихотических психических расстройств [9]. Учитывая это, а также отсутствие взаимосвязи компенсаторной и социореверсивной форм стигмы с показателями осознания болезни, мы можем говорить о подтверждении результатов, полученных в ходе других исследований [17,18]. При изучении пары «осознание социальных последствий заболевания/общий показатель самостигматизации» обнаруженные корреляции также достигли уровня статистической значимости ($R_o = -0,306$, $p = 0,026$). Эти данные позволяют предположить, что самостигматизация в определенной степени сопряжена с осознанием социальных последствий, возникших по причине возникновения болезни.

Выводы

Таким образом, предварительно полученные данные позволяют говорить о некоторой связи между критическими способностями и внутренней стигмой пациентов, а также связи осознания психического расстройства с аутопсихической формой самостигматизации. Кроме того, установлена связь между уровнем осознания психического расстройства и качеством жизни пациентов. Для уточнения необходимо продолжить проведение исследования на выборке большего размера, и, кроме того, важно выявить наиболее значимые симптомы заболевания, влияющие на выраженность критических способностей. Полученные результаты позволяют разработать индивидуальные дифференцированные программы реабилитации, направленные на повышение уровня осознания болезни и снижение выраженности переживаний внутренней стигмы у пациентов с шизофренией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Link B.G., Struening E.L., Rahav M., Phelan J.C., Nuttbrock L. On stigma and its consequences: evidence from a longitudinal study of men with dual diagnoses of mental illness and substance abuse. *J Health Soc Behav.* 1997 Jun; 38(2): 177–90.
2. Ястребов В.С. Охрана психического здоровья населения – приоритетная задача государства и всего общества. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2001; 3: 29–35.
3. Логвинович Г.В., Семке А.В. Первичные и вторичные нарушения адаптации при шизофрении. Томск, 1995. 216 с.
4. Серебряйская Л.Я. Факторы стигматизации психически больных: дис. ... канд. психол. наук. М., 2005. 177 с.
5. Положий Б.С., Руженкова В.В. Стигматизация и самостигматизация больных шизофренией и шизоаффективным расстройством с суицидальным поведением. *Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация.* 2015; 4(29): 49–56.
6. Тараканова Е.А., Оруджев Н.Я. Самостигматизация и качество жизни при шизофрении: корреляционные взаимоотношения. *Дальневосточный медицинский журнал.* 2010; 2: 78–80.
7. Шмуклер А.Б. Психосоциальная терапия и психосоциальная реабилитация психически больных в современных условиях. Сборник материалов научно-практической конференции «Региональный опыт модернизации психиатрических служб». М., 2017; 13–18.
8. Абрамов В.А., Абрамов А.В. Историческая периодизация отношения общества к душевнобольным. История украинской психиатрии: Сборник научных работ Украинского НИИ клинической и экспериментальной неврологии и психиатрии и Харьковской городской клинической психиатрической больницы № 15 (Сабуровой дачи). Харьков, 1994; 1: 13–14.
9. Михайлова И.И. Самостигматизация психически больных: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2005. 21 с.
10. Финзен А. Психоз и стигма: Преодоление стигмы – отношение к предубеждениям и обвинениям. М.: Алетей, 2001. 213 с.
11. Amador X., Kronengold H. The descriptions and meaning of insight in psychosis. *Insight and psychosis.* 1998; 15–32.
12. Иржевская В.П. Методика исследования осознания психической болезни у пациентов с психической патологией различной степени тяжести. *Культура и патология: (материалы рабочей группы «Влияние современных технологий на динамику границ нормы и патологии»): сб. науч. ст. Вып. 4. М., 2007; 9–13.*
13. Крупченко Д.А., Котляр М.Э. Инсайт как посредник между стигмой и депрессией у пациентов, страдающих шизофренией. *Психиатрия, психотерапия и клиническая психология.* 2012; 3(9): 6.
14. Семке А.В., Микилев Ф.Ф. Клинико-социальные характеристики пациентов, страдающих расстройствами шизофренического спектра с ипохондрической симптоматикой. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии.* 2013; 5: 40–43.
15. Ritsher J.B., Otilingam P.G., Grajales M. Internalized stigma of mental illness: psychometric properties of a new measure. *Psychiatry Res.* 2003 Nov 1; 121(1): 31–49. doi: 10.1016/j.psychres.2003.08.008.
16. Amador X.F., Strauss D.H. The Scale to assess Unawareness of Mental Disorder (SUMD). Columbia University and New York State Psychiatric Institute. 1991.
17. Васильченко К.Ф., Дроздовский Ю.В. Социальное функционирование и адаптация пациентов с первым психотическим эпизодом: внутренняя стигма и социально-психологические факторы. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии.* 2018; 3: 10–15.
18. Тумухин Н.В. Самостигматизация больных с аффективными расстройствами. *Журнал психиатрии и медицинской психологии.* 2019; 2(46): 75–83.

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ *BDNF*, *NGF*, *NRG1* С КЛИНИЧЕСКОЙ РЕМИССИЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С ДЕПРЕССИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

Н.М. Вялова

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

Аннотация

Проведено исследование связи полиморфных вариантов генов нейротрофических факторов *BDNF*, *NGF* и *NRG1* с клинической ремиссией у пациентов с депрессивными расстройствами. Генотипирование полиморфных вариантов rs6265 гена *BDNF*, rs6330 гена *NGF* и rs3924999 гена *NRG1* выполнено с методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе StepOnePlus (Applied Biosystems, USA) с использованием TaqMan1 Validated SNP Genotyping Assaykits (Applied Biosystems, USA). Исследование показало, что полиморфный вариант rs3924999 гена *NRG1* ассоциирован с клинической ремиссией, оцененной по шкале HDRS-17 на 28-й день терапии. Носительство генотипа AA rs3924999 гена *NRG1* является фактором, затрудняющим своевременное формирование ремиссии у пациентов с депрессивным расстройством.

Ключевые слова: депрессивные расстройства, мозговой нейротрофический фактор, фактор роста нервов, нейрегулин-1, полиморфизм генов, ремиссия.

THE RELATIONSHIP OF POLYMORPHIC VARIANTS OF THE GENES OF NEUROTROPHIC FACTORS *BDNF*, *NGF*, *NRG1* WITH CLINICAL REMISSION IN PATIENTS WITH DEPRESSIVE DISORDERS

N.M. Vyalova

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

Abstract

The investigation the relationship between *BDNF*, *NGF* and *NRG1* genotypes with remission in patients with MDD was made in a group of 208 patients. DNA polymorphisms were genotyped for rs6265 of *BDNF*, rs6330 of *NGF* and rs3924999 of *NRG1* by the method of RT-PCR. The results were detected on the Step One Plus thermocycler (Applied Biosystems, USA) using TaqMan1 Validated SNP Genotyping Assay kits (Applied Biosystems, USA). The study showed that rs3924999 of the *NRG1* gene was associated with clinical remission, rated on the HDRS-17 scale on day 28 of antidepressant therapy. Carriage of the AA genotype rs3924999 of the *NRG1* gene is a factor that impedes the timely formation of remission in patients with MDD.

Key words: depressive disorders, brain derived neurotrophic factor, nerve growth factor, neuregulin 1, gene polymorphism, remission.

Актуальность

У пациентов с большим депрессивным расстройством наблюдаются изменения биологических биомаркеров, таких как нейротрофические факторы, демонстрирующие, что эти молекулы вовлечены в психопатологию, терапию и мониторинг большого депрессивного расстройства [1].

Результаты ряда метаанализов по исследованию нейротрофических факторов, таких как мозговой нейротрофический фактор (BDNF), фактор роста нервов (NGF), нейрегулин-1 (NRG1), подтверждают значимые корреляции между уровнями нейротрофинов в сыворотке крови и депрессивными состояниями и ассоциацию их концентраций с успешностью антидепрессивной терапии [2]. Практически все антидепрессанты улучшают нейрогенез и

зачастую повышают концентрацию нейротрофических факторов, что поддерживает гипотезу нейрогенеза [3].

В последние годы широко исследуется возможность использования знаний о полиморфизмах генов нейротрофических факторов для прогноза или оценки эффективности ответа на терапию.

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-й неделе применения [4]. Генетические особенности пациентов могут определять от 20 до 95 % всех неблагоприятных фармакологических ответов: неэффективность лекарственных средств или нежелательные лекарственные реакции. Развитие терапевтической резистентности существенно увеличивает длительность госпитализации и стоимость лечения, влияет на качество жизни пациентов [5]. Знание генетического профиля пациента, носительства им определенного генотипа исследуемых генов, ассоциированного с более ранним или поздним ответом на получаемую терапию, может являться основой для разработки методов, позволяющих индивидуализировано 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.

Целью нашего исследования являлось выявление возможных связей полиморфных вариантов генов *BDNF*, *NGF* и *NRG1* с клинической ремиссией у пациентов с депрессивными расстройствами.

Материал и методы

Обследовано 208 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-р мед. наук, профессор Е.Д. Счастный). Тяжесть депрессивных симптомов оценивалась по шкале депрессии Гамильтона (HDRS-17) и шкале Clinical Global Impression– Severity (CGI-S) (до начала и на 14-й и 28-й дни терапии). Наличие ремиссии оценивалось по шкале HDRS-17 (за наличие ремиссии принимался балл 7 и менее после 28 дней терапии) и шкале CGI-S (за наличие ремиссии принимался балл 2 и менее после 28 дней 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 rs6265 гена *BDNF*, rs6330 гена *NGF* и rs3924999 гена *NRG1* проводили методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе Step One Plus™ 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 встречаемости генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов *BDNF*, *NGF* и *NRG1* в группах пациентов с ремиссией и без ремиссии от равновесия Харди-Вайнберга. Связи полиморфных вариантов генов нейротрофических факторов *BDNF* и *NGF* с достижением клинической ремиссии у пациентов с депрессивными расстройствами выявлено не было ($p < 0,05$). Наше исследование показало, что rs3924999 гена *NRG1* ассоциирован с клинической ремиссией, оцененной по шкале HDRS-17 на 2-й день антидепрессивной терапии. У пациентов без ремиссии частота встречаемости генотипа *AA* генотипа была статистически значимо выше (27,3 %), чем у пациентов, достигших клинической ремиссии (11,6 %), OR = 2,86, 95 % CI = 1,26–6,48, $p = 0,029$. Таким образом, можно заключить, что носительство генотипа *AA* полиморфного варианта rs3924999 гена нейрегулина-1 *NRG1* является фактором, препятствующим своевременному

формированию клинической ремиссии у пациентов с депрессивным расстройством, получающих антидепрессивную терапию. Известно, что нейротрофические факторы участвуют в регуляции соотношения процессов гибели нервных клеток и репарации, нейропластичности [6]. Вероятно, патологические изменения системы нейротрофических факторов могут не только привести к дефектам нервной регенерации и, следовательно, к структурным аномалиям в головном мозге, но также могут снизить нейронную пластичность и ослабить эффективность антидепрессивной терапии.

Выводы

По результатам проведенного исследования можно заключить, что носительство гено-типа *AA* полиморфного варианта rs3924999 гена нейрегулина-1 *NRG1* является фактором, препятствующим своевременному формированию клинической ремиссии у пациентов с депрессивным расстройством, получающих антидепрессивную терапию.

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. Wagner S., Kayser S., Engelmann J., Schlicht K.F., Dreimüller N., Tüscher O., Müller-Dahlhaus F., Braus D.F., Tadić A., Neyazi A., Frieling H., Lieb K. Plasma brain-derived neurotrophic factor (pBDNF) and executive dysfunctions in patients with major depressive disorder. *World J Biol Psychiatry*. 2019 Sep; 20(7): 519–530. doi: 10.1080/15622975.2018.1425478.
2. Molendijk M.L., Spinhoven P., Polak M., Bus B.A., Penninx B.W., Elzinga B.M. Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and metaanalyses on 179 associations (n=9484). *Mol. Psychiatry*. 2014; 19(7): 791–800 doi: 10.1038/mp.2013.105.
3. Malberg J.E., Eisch A.J., Nestler E.J., Duman R.S. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J. Neurosci*. 2000; 20: 9104–9110.
4. Ochi T., Vyalova N., Losenkov I., Paderina D., Pozhidaev I., Loonen A., Simutkin G., Bokhan N., Ivanova S., Wilffert B. Limited Associations Between 5-HT Receptor Gene Polymorphisms and Treatment Response in Antidepressant Treatment-Free Patients With Depression. *Front Pharmacol*. 2019; 10: 1462. doi: 10.3389/fphar.2019.01462.
5. Ochi T., Vyalova N.M., Losenkov I.S., Levchuk L.A., Osmanova D.Z., Mikhailitskaya E.V., Loonen A.J.M., Bosker F.J., Simutkin G.G., Bokhan N.A., Wilffert B., Ivanova S.A. Investigating the potential role of BDNF and PRL genotypes on antidepressant response in depression patients: a prospective inception cohort study in treatment-free patients. *Journal of Affective Disorders*. 2019; 259: 432–439 doi: 10.1016/j.jad.2019.08.058.
6. Wang Y.J., Chen K.Y., Kuo L.N., Wang W.C., Hsu Y.W., Wong H.S., Lin C.M., Liao K.H., Zhang Y.F., Chiang Y.H., Chang W.C. The association between BDNF Val66Met polymorphism and emotional symptoms after mild traumatic brain injury. *BMC Med Genet*. 2018 Jan 22; 19(1):13. doi: 10.1186/s12881-017-0518-0.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СВЯЗНОСТЬ И УРОВЕНЬ НЕЙРОФИЛАМЕНТОВ ПРИ КОМОРБИДНОСТИ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ И АФФЕКТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ

С.А. Галкин

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

Аннотация

Проведена оценка функциональной связности (когерентности) и уровня фосфорилированных нейрофиламентов в сыворотке крови у пациентов с алкогольной зависимостью и коморбидными аффективными и аддиктивными расстройствами. В первую группу вошли 30 пациентов, у которых в соответствии с Международной классификацией МКБ-10 был диагностирован синдром зависимости от алкоголя (F10.2). Вторую группу (n=30) составили пациенты с коморбидным течением алкогольной зависимости и аффективных расстройств (F31.3, F32.0-1, F33.0-1, F34.1 по МКБ-10). Контрольную группу составили 30 психически и соматически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту. Для оценки функциональной связности регистрировалась 16-канальная ЭЭГ по международной схеме 10–20 в условиях покоя с закрытыми глазами в течение 2 минут. С помощью иммуноферментного анализа (ИФА) определяли уровень фосфорилированных нейрофиламентов с тяжелой цепью (pNF-H) в сыворотке крови. Обнаружено, что у пациентов с коморбидностью алкогольной зависимости и аффективных расстройств статистически значимо более высокие значения межполушарной когерентности альфа- и тета-ритма, а также статистически значимо более низкие значения внутриполушарной бета- и тета-когерентности

по сравнению с пациентами, страдающими только алкогольной зависимостью. При этом у пациентов с коморбидностью алкогольной зависимости и аффективных расстройств уровень межполушарной когерентности статистически значимо не отличался от группы контроля, тогда как внутримушарная когерентность была статистически значимо ниже, чем в норме. У пациентов с алкогольной зависимостью межполушарная когерентность была статистически значимо ниже по сравнению со здоровой группой контроля. Результаты ИФА показали, что при коморбидном течении алкогольной зависимости и аффективных расстройств статистически значимо более высокие значения уровня pNF-H по сравнению с контрольной группой и пациентами, страдающими только алкогольной зависимостью. Таким образом, были выявлены нейробиологические изменения при коморбидном течении алкогольной зависимости и аффективных расстройств. Полученные результаты расширяют имеющиеся данные о патогенезе алкогольной зависимости и коморбидных аффективных и аддитивных расстройств.

Ключевые слова: алкогольная зависимость, коморбидность, электроэнцефалография, когерентность, нейрофиламенты, патогенез.

FUNCTIONAL CONNECTIVITY AND THE LEVEL OF NEUROFILAMENTS IN COMORBIDITY ALCOHOL DEPENDENCE AND AFFECTIVE DISORDERS

S.A. Galkin

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

Functional connectivity (coherence) and the level of phosphorylated neurofilaments in the blood serum of patients with alcohol dependence and comorbid affective and addictive disorders were evaluated. The first group included 30 patients who were diagnosed with alcohol dependence syndrome (F10.2) in accordance with the international classification of ICD-10. The second group (n=30) consisted of patients with comorbid course of alcohol dependence and affective disorders (F31. 3, F32. 0-1, F33. 0-1, F34. 1 according to ICD-10). The control group consisted of 30 mentally and somatically healthy individuals, comparable in gender and age. To assess functional connectivity, a 16-channel EEG was registered using the international scheme 10–20 under rest conditions with closed eyes for 2 minutes. The level of phosphorylated heavy chain neurofilaments (pNF-H) in blood serum was determined using enzyme immunoassay (ELISA). It was found that in patients with comorbidity of alcohol dependence and affective disorders statistically significantly higher values of interhemispheric coherence of alpha and theta rhythm, as well as statistically significantly lower values of intramuscular beta and theta coherence compared with patients suffering only from alcohol dependence. At the same time, in patients with comorbidity of alcohol dependence and affective disorders, the level of interhemispheric coherence did not significantly differ from the control group, while intrahemispheric coherence was statistically significantly lower than normal. In patients with alcohol dependence, interhemispheric coherence was statistically significantly lower compared to the healthy control group. The results of the ELISA showed that in the comorbid course of alcohol dependence and affective disorders, statistically significantly higher values of the pNF-H level compared with the control group and patients suffering only from alcohol dependence. Thus, neurobiological changes were revealed in the comorbid course of alcohol dependence and affective disorders. The obtained results expand the available data on the pathogenesis of alcohol dependence and comorbid affective and addictive disorders.

Key words: alcohol dependence, comorbidity, electroencephalography, coherence, neurofilaments, pathogenesis.

Актуальность

По данным ряда исследований, частота аффективных расстройств при алкогольной зависимости (АЗ) составляет от 12 до 79 % [1, 2]. Наличие сочетанной (коморбидной) патологии – АЗ и аффективных расстройств – значительно повышает риск суицидального поведения, возникают трудности в диагностике основного заболевания из-за полиморфизма симптоматики, повышается резистентность к традиционным методам терапии, увеличивается вероятность рецидива и т.д. [2, 3]. Наряду со многими психическими расстройствами АЗ и аффективные расстройства являются результатом взаимодействия генетических, социальных и экологических факторов, что сопровождается морфофункциональными изменениями в ЦНС [4, 5]. Запись и анализ электрической активности мозга является одним из основных

инструментов изучения нейробиологических основ нарушений психической деятельности [6, 7]. Когерентность электрических сигналов мозга является количественным показателем синхронности вовлечения различных корковых зон при их функциональном взаимодействии, обеспечивающем интегративную деятельность мозговых структур [6]. Многие исследователи используют этот параметр для оценки функциональной связности при различных психических расстройствах [8, 9]. В настоящее время многие исследователи разделяют мнение о нейродегенеративном механизме развития аффективных расстройств [10, 11]. Одним из маркеров деструкции нейронов (нейродегенерации) являются нейрофиламенты, которые высвобождаются из поврежденных аксонов и могут быть найдены в периферической крови [12]. Таким образом, был применен интегративный подход для изучения нейробиологических основ АЗ и ее коморбидности с аффективными расстройствами.

Цель исследования – изучить особенности мозговой интеграции и степень нейронального повреждения при коморбидности АЗ и аффективных расстройств.

Материал и методы

На базе 4-го отделения (отделение аддитивных состояний) клиники НИИ психического здоровья Томского НИМЦ обследовано 60 пациентов: 30 пациентов (средний возраст – $47,16 \pm 10,45$ лет) с установленным диагнозом алкогольной зависимости (F10.2 по МКБ-10) и 30 пациентов (средний возраст – $43,57 \pm 10,81$ лет) ($p=0,12$) с наличием коморбидности алкогольной зависимости и аффективного расстройства. Исследование проводилось с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Критерии включения: установленный диагноз алкогольной зависимости и/или коморбидности алкогольной зависимости и аффективного расстройства по МКБ-10, возраст 18–60 лет, добровольное согласие пациента на участие в исследовании. Критерии исключения: наличие выраженных органических нарушений головного мозга, умственная отсталость, эпилепсия, беременность, отказ от исследования. Контрольную группу составили 30 психически и соматически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту. Для оценки функциональной связности регистрировалась 16-канальная ЭЭГ по международной схеме 10–20 в условиях покоя с закрытыми глазами в течение 2 минут. С помощью иммуноферментного анализа (ИФА) определяли уровень фосфорилированных нейрофиламентов с тяжелой цепью (pNF-H) в сыворотке крови. Статистическая обработка данных выполнялась с помощью программы Statistica 10. Данные представлены в виде Median [Q1; Q3]. Проверка согласия с нормальным законом распределения проводилась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Полученные данные не подчинялись нормальному закону распределения. Использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни для оценки различий между двумя независимыми выборками. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Анализ массива полученных данных выявил статистически значимые различия между исследуемыми группами. Обнаружено, что у пациентов с коморбидностью АЗ и аффективных расстройств статистически значимо более высокие значения межполушарной когерентности альфа-ритма в P3-P4 ($p=0,0169$) и тета-ритма в O1-O2 ($p=0,033$), а также статистически значимо более низкие значения внутриполушарной бета-когерентности в C3-O1 ($p=0,031$) и C4-O2 ($p=0,034$) и тета-когерентности в C3-O1 ($p=0,006$) по сравнению с пациентами, страдающими только АЗ. При этом у пациентов с коморбидностью АЗ и аффективных расстройств уровень межполушарной когерентности статистически значимо не отличался от группы контроля по всем отведениям ($p > 0,05$), тогда как внутриполушарная когерентность была статистически значимо ниже между центральной и затылочной корой ($p < 0,05$), чем в норме. У пациентов с АЗ межполушарная когерентность была статистически значимо ниже по сравнению со здоровой группой контроля по всем отведениям ($p < 0,05$). Результаты ИФА показали, что при коморбидном течении АЗ и аффективных расстройств статистически значимо более высокие значения уровня pNF-H по сравнению с контрольной группой ($p=0,0029$) и пациентами, страдающими только АЗ ($p=0,031$).

Выводы

Показано, что коморбидное течение АЗ и аффективных расстройств сопровождается морфофункциональными изменениями в головном мозге в виде нарушений интегративной деятельности коры и повышении уровня pNF-H в сыворотке крови. Полученные результаты расширяют имеющиеся данные о патогенезе коморбидных аффективных и аддитивных расстройств и могут быть использованы для оптимизации персонализированной терапии сочетанных расстройств.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Администрации Томской области и РФФИ №19-413-703007, набор пациентов осуществлялся в рамках выполнения гранта РФФИ №18-313-00147.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рыбакова К.В., Рыбакова Т.Г., Незнанов Н.Г., Ерышев О.Ф. Влияние коморбидных хронических депрессивных расстройств на формирование и течение алкогольной зависимости. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. 2013; 6(2): 27–32.
2. Андриященко А.В., Шуляк Ю.А. Алкогольная зависимость и депрессия: подходы к диагностике и лечению. Медицинский совет. 2016; 19: 28–36.
3. Бохан Н.А., Семке В.Я. Коморбидность в наркологии. Томск: Издательство Томского университета, 2009. 498 с.
4. Галкин С.А. Клинико-нейрофизиологические особенности коморбидности алкогольной зависимости и аффективных расстройств. Неврологический вестник. 2019; 51(3): 57–59.
5. Бурджалиева А.Д. Диагностические показатели коморбидности алкоголизма и аффективных расстройств. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. 2016; 116(11–2): 58–60.
6. Мельникова Т.С., Лапин И.А., Саркисян В.В. Обзор использования когерентного анализа ЭЭГ в психиатрии. Социальная и клиническая психиатрия. 2009; 19(1): 90–94.
7. Jollans L., Whelan R. Neuromarkers for Mental Disorders: Harnessing Population Neuroscience. Front Psychiatry. 2018 Jun 6; 9: 242. doi: 10.3389/fpsyt.2018.00242.
8. Bowyer S. Coherence a measure of the brain networks: past and present. Neuropsychiatric Electrophysiology. 2016; 2: 1.
9. Галкин С.А., Симуткин Г.Г., Васильева С.Н., Кисель Н.И., Мандель А.И., Иванова С.А. Особенности спектральных характеристик ЭЭГ при коморбидности алкогольной зависимости и аффективных расстройств. Психическое здоровье. 2019; 7: 24–30.
10. Иванова С.А., Лосенков И.С., Левчук Л.А., Бойко А.С., Вялова Н.М., Симуткин Г.Г., Бохан Н.А. Депрессивные расстройства: гипотезы патогенеза и потенциальные биологические маркеры. Новосибирск: Наука, Новосибирское отделение, 2018. 199 с.
11. Афтанас Л.И. Депрессия и нейродегенерация: новые стратегии диагностики и терапии. Наука из первых рук. 2017; 73(1): 40–49.
12. Воробьева А.А., Фоминых В.В., Онуфриев М.В., Захарова М.Н., Гуляева Н.В. Использование тяжелых цепей фосфорилированных нейрофиламентов в качестве маркера нейродегенерации при демиелизирующих заболеваниях ЦНС. Нейрохимия. 2014; 3: 254–259.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ВИСЦЕРАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ И СУИЦИДАЛЬНЫМ РИСКОМ У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВИДА ПОЛУЧАЕМОЙ АНТИПСИХОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

В.И. Герасимова, А.А. Гончарова

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

Аннотация

Целью настоящего исследования являлось выявление связи между висцеральным ожирением и суицидальным риском у пациентов с шизофренией в зависимости от вида получаемой антипсихотической терапии. **Материал и методы.** Было обследовано 68 пациентов с шизофренией, находившихся на лечении в Томской областной психиатрической больнице. Все обследованные получали терапию конвенциональными или атипичными антипсихотиками в среднем 7 лет в дозах, сравнимых по хлорпромазиновым эквивалентам. Уровень висцерального жира оценивался путем неинвазивной биоимпедансометрии с помощью весов с функцией определения доли жировой ткани «OmronBF508». На основании проведенных измерений среди обследованных были выделены две группы: с висцеральным ожирением и без висцерального ожирения. В группе пациентов с висцеральным ожирением, в свою очередь, были выделены две подгруппы: получающие терапию конвенциональными антипсихотиками и атипичными антипсихотиками. Аналогичные подгруппы выделены в группе пациентов без висцерального ожирения. Группы сравнивались между собой по уровню безнадежности и выраженности клинических симптомов шизофрении. Степень суицидального риска была оценена с использованием шкалы безнадежности Бека (BHS). Оценка клинических симптомов шизофрении проводилась с помощью Шкалы позитивных и негативных синдромов (PANSS) в адаптированной русской версии SCI-PANSS. **Результаты.** В группе пациентов с висцеральным ожирением средний балл по шкале Бека в подгруппе, получавшей терапию конвенциональными антипсихотиками, и в подгруппе, получавшей терапию атипичными антипсихотиками, статистически значимо не отличался. В группе пациентов без висцерального ожирения средний балл по шкале Бека в подгруппе, получавшей атипичные антипсихотики, был статистически значимо выше, чем в подгруппе, получавшей конвенциональные антипсихотики. Помимо этого, в подгруппе, получавшей атипичные антипсихотики, выраженность по-

зитивных симптомов по шкале PANSS была статистически значимо выше, чем в подгруппе, получавшей конвенциональные антипсихотики. **Выводы.** Полученные результаты показывают, что уровень безнадежности и суицидальный риск у больных шизофренией с висцеральным ожирением не зависит от вида антипсихотической терапии. Более высокий уровень безнадежности у больных шизофренией без висцерального ожирения, получавших атипичные антипсихотики, вероятно, связан с изначально большей выраженностью позитивной симптоматики.

Ключевые слова: шизофрения, висцеральное ожирение, метаболический синдром, безнадежность, суицидальный риск.

RELATIONSHIPS BETWEEN VISCERAL OBESITY AND SUICIDE RISK IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA DEPENDING ON THE TYPE OF RECEIVING ANTIPSYCHOTIC THERAPY

V.I. Gerasimova, A.A. Goncharova

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

Abstract

The aim of this study was to find relationships between suicide risk and visceral obesity in patients with schizophrenia depending on the type of receiving antipsychotic therapy. **Materials and Methods.** We examined 68 patients with schizophrenia in the Tomsk Regional Psychiatric Hospital. All patients received antipsychotic therapy (FGAs or SGAs) for an average of 7 years in doses comparable in chlorpromazine equivalents. The visceral fat level was determined through the non-invasive bioimpedance analysis with an «Omron BF508» scale and body composition monitor. The clinical symptoms of schizophrenia were assessed using the PANSS. Suicide risk was assessed using the Beck's Hopelessness Scale. There were identified two groups of examined: with visceral obesity and without visceral obesity. In the group with visceral obesity were distinguished two subgroups: receiving FGAs and receiving SGAs. Similar subgroups were identified in the group without visceral obesity. All subjects underwent the BHS for rating suicide risk. PANSS was used to evaluate the clinical symptoms of schizophrenia. **Summary.** In the group with visceral obesity the average score on the BHS in the subgroup treated with FGAs and in the subgroup receiving SGAs wasn't significantly different. In the group without visceral obesity the average score on the BHS was significantly higher in the subgroup receiving SGAs. In addition, the severity of positive syndromes on the PANSS was significantly higher in the subgroup who received SGAs. **Conclusions.** These results show that hopelessness and suicide risk in patients with schizophrenia with visceral obesity doesn't depend on the type of antipsychotic therapy. A higher level of hopelessness in patients with schizophrenia without visceral obesity who received SGAs is probably associated with initially greater severity of positive symptoms.

Key words: schizophrenia, visceral obesity, metabolic syndrome, hopelessness, suicidal risk.

Актуальность

На текущий момент наиболее частыми причинами смерти у больных шизофренией являются сердечно-сосудистые заболевания и суициды [1, 2]. Современная антипсихотическая терапия, несмотря на свою эффективность и преимущества в отношении экстрапирамидных побочных эффектов, в то же время влечет за собой ряд нежелательных явлений, ухудшающих качество жизни больных, в том числе развитие метаболического синдрома, являющегося значимым фактором риска кардиоваскулярной патологии [3]. Влияние антипсихотической терапии на суицидальный риск остается открытым вопросом: в настоящий момент убедительно доказано положительное влияние клозапина на снижение суицидального риска, в отношении других препаратов данные ограничены [4, 5].

Основным критерием диагностики метаболического синдрома является абдоминальное ожирение, состоящее из подкожного и висцерального компонента, при этом преобладание висцерального компонента соотносится с более неблагоприятным течением метаболического синдрома [6]. Литературные данные о взаимосвязи между отдельными компонентами метаболического синдрома и суицидальным риском несколько противоречивы: так, для ожирения и суицидального риска характерна отрицательная корреляция – низкий индекс массы тела у пациентов с шизофренией ассоциирован с более высоким риском суицида, однако в общей популяции среди взрослых и пожилых повышение веса и частота самоубийств, напротив,

коррелируют положительно [7]. В то же время отсутствуют сведения о том, какую антипсихотическую терапию получали исследуемые и каков ее вклад в степень суицидального риска, что обуславливает актуальность данного исследования.

Цель – выявление связи между суицидальным риском и висцеральным ожирением в зависимости от вида получаемой антипсихотической терапии.

Материал и методы

Обследовано 68 пациентов с шизофренией, находившихся на лечении в Томской областной психиатрической больнице. В выборку включались лица в возрасте от 18 до 60 лет (средний возраст – 33 года [28; 43,5]), психическое состояние которых удовлетворяло диагностическим критериям МКБ-10 для диагноза «шизофрения» (F20). Средний возраст манифестации заболевания составлял 22,5 года [19,5; 30,0], длительность заболевания в среднем – 8 лет [4; 14]. Все обследованные получали терапию конвенциональными или атипичными антипсихотиками в среднем 7 лет в дозах, сравнимых по хлорпромазиновым эквивалентам (в среднем, 406 мг [212,5; 600]). Уровень висцерального жира оценивался путем неинвазивной биоимпедансометрии с помощью весов с функцией определения доли жировой ткани «OmronBF508». Среди обследованных пациентов с шизофренией были выделены две группы: с висцеральным ожирением ($n=15$) и без висцерального ожирения ($n=53$). В группе пациентов с висцеральным ожирением, в свою очередь, были выделены две подгруппы: получающие терапию типичными антипсихотиками ($n=7$) и атипичными антипсихотиками ($n=8$). Аналогичные подгруппы выделены в группе пациентов без висцерального ожирения ($n=26$, $n=27$ соответственно). Группы сравнивались между собой по уровню безнадежности и выраженности клинических симптомов шизофрении. Степень суицидального риска была оценена с использованием шкалы безнадежности Бека (BHS), специфичность и достоверность которой для выявления суицидального риска была доказана рядом исследований. Оценка клинических симптомов шизофрении проводилась с помощью Шкалы позитивных и негативных синдромов (PANSS) в адаптированной русской версии SCI-PANSS. Все полученные данные были формализованы с помощью таблиц и обработаны статистически с помощью пакета стандартных программ STATISTICA (v.12.0). Был применен критерий Манна-Уитни для сравнения независимых выборок. За критический уровень значимости p при проверке гипотез был выбран 0,05.

Результаты

В группе пациентов с висцеральным ожирением средний балл по шкале Бека в подгруппе, получавшей терапию типичными антипсихотиками, составил 5 [3; 12], в подгруппе, получавшей терапию атипичными антипсихотиками, – 6 [2,5; 7,5]. При сравнении обеих подгрупп статистически значимых различий выявлено не было ($p>0,05$).

В группе пациентов без висцерального ожирения средний балл по шкале Бека в подгруппе, получавшей терапию типичными антипсихотиками, составил 5 [3; 7], в подгруппе, получавшей терапию атипичными антипсихотиками, – 7 [4; 9]. При сравнении обеих подгрупп были выявлены статистически значимые различия ($p<0,05$). Так, в подгруппе, получавшей атипичные антипсихотики, средний балл по шкале безнадежности Бека был выше, чем в подгруппе, получавшей типичные антипсихотики. Помимо этого, в подгруппе пациентов, получавших атипичные антипсихотики, выраженность позитивных симптомов по шкале PANSS была статистически значимо выше (25 [24;28]), чем у обследованных, получавших конвенциональные антипсихотики (21,5 [20;24]).

Выводы

Полученные результаты показывают, что уровень безнадежности и суицидальный риск у больных шизофренией с висцеральным ожирением не зависит от вида антипсихотической терапии. Более высокий уровень безнадежности у больных шизофренией без висцерального ожирения, получавших атипичные антипсихотики, вероятно, связан с изначально большей выраженностью позитивной симптоматики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Henderson D.C., Vincenzi B., Andrea N.V., Ulloa M., Copeland P.M. Pathophysiological mechanisms of increased cardiometabolic risk in people with schizophrenia and other severe mental illnesses. *Lancet Psychiatry*. 2015 May; 2(5): 452–464. doi: 10.1016/S2215-0366(15)00115-7.
2. Canal-Rivero M., López-Morínigo J.D., Setién-Suero E., Ruiz-Veguilla M., Ayuso-Mateos J.L., Ayesa-Arriola R., Crespo-Facorro B. Predicting suicidal behaviour after first episode of non-affective psychosis: The role of neurocognitive functioning. *Eur Psychiatry*. 2018 Sep; 53: 52–57. doi: 10.1016/j.eurpsy.2018.06.001.
3. Rojo L.E., Gaspar P.A., Silva H., Risco L., Arena P., Cubillos-Robles K., Jara B. Metabolic syndrome and obesity among users of second generation antipsychotics: A global challenge for modern psychopharmacology. *Pharmacol Res*. 2015 Nov; 101: 74–85. doi: 10.1016/j.phrs.2015.07.022.

4. Pompili M., Orsolini L., Lamis D.A., Goldsmith D.R., Nardella A., Falcone G., Corigliano V., Luciano M., Fiorillo A. Suicide Prevention in Schizophrenia: Do Long-Acting Injectable Antipsychotics (LAIs) have a Role? *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2017; 16(4): 454–462.

5. Pompili M., Baldessarini R.J., Forte A., Erbuto D., Serafini G., Fiorillo A., Amore M., Girardi P. Do Atypical Antipsychotics Have Antisuicidal Effects? A Hypothesis-Generating Overview. *Int J Mol Sci*. 2016 Oct 11; 17(10): 1700. doi: 10.3390/ijms17101700.

6. Корнетова Е.Г., Дубровская В.В., Корнетов А.Н., Лобачева О.А., Иванова С.А., Семке А.В. Морфофенотипический предиктор развития висцерального ожирения у больных шизофренией, получающих антипсихотическую терапию. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17(4): 54–64.

7. Limosin F., Loze J.Y., Philippe A., Casadebaig F., Rouillon F. Ten-year prospective follow-up study of the mortality by suicide in schizophrenic patients. *Schizophr. Res*. 2007; 94(1–3): 23–28.

ПОКАЗАТЕЛИ УРОВНЯ СВОБОДНОГО ГЛУТАМАТА У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ, ПОЛУЧАЮЩИХ АТИПИЧНЫЕ АНТИПСИХОТИКИ, С НАЛИЧИЕМ И ОТСУТСТВИЕМ АКАТИЗИИ

А.А. Гончарова, Е.М. Дмитриева

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

Аннотация

Появление новых антипсихотических препаратов для лечения шизофрении вопреки ожиданиям не решило вопрос развития двигательных нежелательных явлений. Ряд клинико-динамических и клинико-терапевтических предполагаемых факторов риска развития акатизии остаются спорными. Роль глутаматергической системы в развитии акатизии у больных остается не до конца изученной. Было обследовано 54 пациента с шизофренией, все пациенты получали базисную антипсихотическую терапию в рекомендованных терапевтических дозах: рисперидон – 25 (46,3 %), кветиапин – 14 (25,9 %), оланзапин – 15 (27,8 %). Через 2 недели после поступления в стационар все пациенты прошли обследование с использованием шкалы оценки акатизии Барнса (BARS), уровень свободного глутамата в сыворотке крови был определен с использованием набора «Glutamat Assay Kit» фирмы BioVision Research Products, Mountain, USA. Не удалось установить различия в показателях свободного глутамата в сыворотке крови у пациентов с акатизией и без акатизии в зависимости от получаемого антипсихотического препарата: рисперидон ($p=0,193$), кветиапин ($p=0,436$) и оланзапин ($p=0,403$). Это может демонстрировать более сложный механизм развития акатизии, с возможным вовлечением изменения соотношения глутамат/глутамин, что не было изучено в данном исследовании.

Ключевые слова: шизофрения, акатизия, глутамат, антипсихотики, рисперидон, кветиапин, оланзапин.

LEVELS OF FREE GLUTAMATE IN SCHIZOPHRENIA PATIENTS RECEIVING ATYPICAL ANTIPSYCHOTICS WITH AND WITHOUT AKATHISIA

A.A. Goncharova, E.M. Dmitrieva

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

Abstract

The appearance of new antipsychotic drugs for the treatment of schizophrenia contrary to expectations, this did not solve the problem of the development of motor side effects. A few clinical-dynamic and clinical-therapeutic presumptive risk factors for the development of akathisia remain controversial. The participation of the glutamatergic system in the development of akathisia remains not fully studied. 54 patients with schizophrenia were examined, all patients received antipsychotic drug therapy: risperidone – 25 (46.3 %), quetiapine – 14 (25.9 %), olanzapine – 15 (27.8 %) in recommended clinical doses. 2 weeks after admission to the hospital, all patients were examined with the use of Barnes Akathisia Rating Scale (BARS) and serum free glutamate levels were determined using the Glutamat Assay Kit from BioVision Research Products,

Mountain, USA. However, it was not able to establish differences in serum free glutamate in patients with akathisia and without akathisia, depending on the received antipsychotic: risperidone ($p=0.193$), quetiapine ($p=0.436$) and olanzapine ($p=0.403$). This may demonstrate a more complex mechanism for the development of akathisia, with the possible involvement of changes in the glutamate / glutamine ratio, which was not studied in this study.

Key words: schizophrenia, akathisia, glutamate, antipsychotics, risperidone, quetiapine, olanzapine.

Актуальность

Шизофрения занимает основное место по распространенности, прогрессивности и тяжести социальных последствий среди психозов, по настоящее время основным способом ее лечения является длительная терапия препаратами из группы антипсихотиков [1]. Акатизия является одним из двигательных нежелательных явлений антипсихотической терапии у пациентов с шизофренией. Появление атипичных антипсихотических препаратов не привело к снижению частоты возникновения лекарственно-индуцированных двигательных нарушений, в том числе акатизии [2, 3]. В настоящее время основной упор делается на поиск и сравнение различных способов лечения и купирования уже развившейся акатизии [4]. Также предполагаемые ранее факторы риска развития акатизии (длительность приема антипсихотиков, пол, возраст, дефицит железа, тяжесть психопатологического состояния) в настоящее время не выделены как предикторы ее развития [2]. Однако патофизиологические механизмы, лежащие в основе возникновения акатизии, остаются окончательно не выясненными. Так, в классическом представлении развитие акатизии рассматривается как дисбаланс нейротрансмиттерных систем, а именно дофаминергической, серотонинергической и норадренергической [5,6], роль других систем (а именно участие глутаматергической системы) в развитии акатизии у пациентов с шизофренией, получающих антипсихотические препараты, остается не до конца изученной. Несмотря на то что свободный глутамат сыворотки крови не может проходить через гематоэнцефалический барьер и напрямую не отражает активность глутаматергической системы в головном мозге, он может быть использован в качестве маркера в отношении динамики шизофренического процесса [7], что демонстрирует его вовлеченность в патофизиологические механизмы развития шизофрении. Наряду с этим, сообщается о значимой корреляции между концентрацией глутамата в спинномозговой жидкости и уровнем свободного глутамата в сыворотке крови, также литературные данные демонстрируют, что концентрация свободных аминокислот, в том числе глутамата и глутамина, во внеклеточной жидкости головного мозга поддерживается примерно на 10 % от концентрации в плазме крови [8].

Цель исследования – оценить связь концентрации свободного глутамата в сыворотке крови с акатизией у пациентов с шизофренией, получающих атипичные антипсихотики.

Материал и методы

В исследование были включены лица, находящиеся на стационарном лечении в клиниках Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук. Критериями включения в исследование служили: возраст пациентов от 18 до 60 лет, верифицированный диагноз шизофрении по критериям для исследований МКБ-10 [9], получаемые в качестве базисной терапии атипичные антипсихотические препараты, способность дать письменное информированное согласие. Критериями невключения являлись наличие нарушений органических, неврологических и тяжелых соматических расстройств, приводящих к органной недостаточности, отказ от участия в исследовании. Таким образом, в исследование было включено 54 пациента в возрасте – 35 [29;44] лет, возраст манифестации – 24 [19;30] года и давность заболевания – 12 [4;16] лет. Все пациенты получали базисную антипсихотическую терапию препаратами из группы атипичных антипсихотиков в терапевтических дозировках, одобренных Минздравом России: рисперидон – 25 (46,3 %), кветиапин – 14 (25,9 %), оланзапин – 15 (27,8 %). Через две недели после поступления в стационар пациенты были обследованы с использованием шкалы оценки акатизии Барнса (BARS) [10], на основании чего все пациенты были разделены на две группы: пациенты с акатизией и без акатизии. Также было выполнено измерение уровня свободного глутамата в плазме крови с использованием набора «Glutamat Assay Kit» фирмы BioVision Research Products, Mountain, USA. Для статистической обработки был использован Mann-Whitney U-test. Данные представлены в формате Me[Q1;Q3]. Статистический анализ выполнен с использованием программного обеспечения Statistica

for Windows (V. 12.0). Пороговое значение достигнутого уровня значимости p было принято равным 0,05. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-90010.

Результаты

Частота встречаемости акатизии у пациентов с шизофренией, получающих рисперидон, составила 28,0 % (7 человек), кветиапин – 28,6 % (4 человека), оланзапин – 50,0 % (5 человек). Показатели уровня свободного глутамата в сыворотке крови не имели различий у пациентов с акатизией и без акатизии ($p=0,107$). Также не удалось установить статистически значимых различий в зависимости от получаемой терапии, однако обращает на себя внимание, что уровень свободного глутамата выше у пациентов с акатизией (табл. 1).

Выводы

Изменение уровня глутамата в сыворотке крови у пациентов с шизофренией может свидетельствовать об изменении его уровня в центральной нервной системе [11]. Также было отмечено увеличение свободного глутамата в сыворотке крови при переходе с типичного антипсихотического препарата на атипичный антипсихотик в ходе лечения шизофрении, что может свидетельствовать об увеличении глутаматергической активности в центральной нервной системе [7]. Однако нам не удалось установить различия в показателях свободного глутамата в сыворотке крови у пациентов с акатизией и без акатизии в зависимости от получаемого антипсихотика. Это может косвенно демонстрировать более сложный механизм ее развития, с возможным вовлечением изменения соотношения глутамат/глутамин, что требует дальнейшего изучения, чтобы в более полной мере определить и понять роль участия глутаматергической системы в развитии акатизии у пациентов с шизофренией.

Таблица 1

Показатели уровня свободного глутамата (мкмоль/л) в исследуемых группах

Показатели	Пациенты с акатизией	Пациенты без акатизии	p
Рisperидон	62,6 [42,08;76,8]	47,6 [42,7;55,6]	0,193
Кветиапин	55,9 [45,04;69,8]	49,05[37,6;62,7]	0,436
Оланзапин	62 [40,7;67,3]	42,5 [41,04;48,4]	0,403

ЛИТЕРАТУРА

1. Семке А.В., Федоренко О.Ю., Лобачева О.А., Рахматова Л.Д., Корнетова Е.Г., Смирнова Л.П., Миклиев Ф.Ф., Щигорева Ю.Г. Клинические, эпидемиологические и биологические предпосылки адаптации больных шизофренией как основа персонализированного подхода к антипсихотической терапии. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2015; 88(3): 19–25.
2. Yoshimura B., Sato K., Sakamoto S., Tsukahara M., Yoshimura Y., So R. Incidence and predictors of acute akathisia in severely ill patients with first-episode schizophrenia treated with aripiprazole or risperidone: secondary analysis of an observational study. Psychopharmacology (Berl). 2019; 236(2): 723–730.
3. Hirjak D., Kubera K.M., Bienentreu S., Thomann P.A., Wolf R.C. Antipsychotic-induced motor symptoms in schizophrenic psychoses-Part 1: Dystonia, akathisia und parkinsonism // Nervenarzt. 2019; 90 (1):1–11.
4. Pringsheim T., Gardner D., Addington D., Martino D., Morgante F., Ricciardi L., Poole N., Remington G., Edwards M., Carson A., Barnes T.R.E. The Assessment and Treatment of Antipsychotic-Induced Akathisia. Can. J. Psychiatry. 2018; 63(11): 719–729.
5. Lohr J.B., Eidt C.A., Abdul Razzaq Al Faraj A., Soliman M.A. The clinical challenges of akathisia. CNS Spectr. 2015; 20(1): 1–16.
6. Stahl S.M. Antipsychotic agents. Stahl's Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications. 4th Ed. New York: Cambridge University Press, 2013.211–212.
7. Maeshima H., Ohnuma T., Sakai Y., Shibata N., Baba H., Ihara H., Higashi M., Ohkubo T., Nozawa E., Abe S., Ichikawa A., Nakano Y., Utsumi Y., Suzuki T., Arai H. Increased plasma glutamate by antipsychotic medication and its relationship to glutaminase 1 and 2 genotypes in schizophrenia – Juntendo University Schizophrenia Projects (JUSP). Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2007; 31(7): 1410–1418.
8. Hashimoto K. The Glutamatergic System as Potential Clinical Biomarkers for Blood and Cerebrospinal Fluid Monitoring. Biochemical Approaches for Glutamatergic Neurotransmission. New York: Humana Press. 2018: 507–521.
9. World Health Organization. The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders – Diagnostic Criteria for Research. Geneva: WHO, 1993.
10. Barnes T.R. A rating scale for drug-induced akathisia. Br. J. Psychiatry. 1989; 154(5): 672–676.
11. Hassan T.H., Abdelrahman H.M., Abdel Fattah N.R., El-Masry N.M., Hashim H.M., El-Gerby K.M., Abdel Fattah N.R. Blood and brain glutamate levels in children withautistic disorder. Res. Autism. Spectr. Disord. 2013; 7(4): 541–548.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ КОМПЛАЕНТНЫХ И НЕКОМПЛАЕНТНЫХ ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ

Е.Г. Дмитриева

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

Аннотация

Адаптация пациентов с шизофренией зависит от качества и длительности ремиссий, а те, в свою очередь, зависят от приверженности пациента предписанной терапии. При этом данные разных исследований о качестве жизни комплаентных и некомплаентных пациентов неоднозначны, что создает необходимость дальнейшего изучения. Целью исследования было провести сравнительный анализ качества жизни у комплаентных и некомплаентных пациентов с шизофренией. Было обследовано 120 пациентов с шизофренией согласно критериям МКБ-10, проведена оценка комплаенса согласно MARS, проведена оценка качества жизни согласно пунктам «Опросника оценки социального функционирования качества жизни психически больных». Согласно полученным результатам, комплаентные пациенты по объективным показателям имеют более высокий уровень качества жизни, но субъективно отличаются более высоким уровнем притязаний и низкой удовлетворенностью во всех жизненных сферах, за исключением сферы отношений. Некомплаентные пациенты по объективным показателям отличаются низким уровнем качества жизни, но субъективно имеют ниже уровень притязаний и ощущают большую удовлетворенность во всех жизненных сферах, за исключением сферы отношений.

Ключевые слова: шизофрения, комплаенс, качество жизни, адаптация.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE QUALITY OF LIFE OF COMPLIANT AND NON-COMPLIANT PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

E.G. Dmitrieva

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

Abstract

The adaptation of patients with schizophrenia depends on the quality and duration of remissions depended on the patient's adherence to the prescribed therapy. Moreover, the data of various studies on the quality of life of compliant and non-compliant patients are various, which creates the need for further study. The aim of the study was to compare the quality of life in compliant and non-compliant patients with schizophrenia. 120 patients with schizophrenia were examined according to ICD-10 criteria, compliance assessed according to MARS, quality of life assessed according to the points of the "Questionnaire for assessing the social functioning of the quality of life of patients with mental disorders". According to the results obtained, compliant patients, according to objective indicators, have a higher level of quality of life, but subjectively they have a higher level of claims and low satisfaction in all areas of life, except for the sphere of relations. Objectively, non-compliant patients are characterized by a low level of quality of life, but subjectively have a lower level of aspirations and feel great satisfaction in all areas of life, except for the sphere of relations.

Key words: schizophrenia, compliance, quality of life, adaptation.

Актуальность

Согласно программе ВОЗ по ликвидации пробелов в области психического здоровья (mhGAP) основным направлением в помощи лицам с шизофренией было содействие их адаптации и улучшению качества жизни [1]. Существует множество факторов, оказывающих влияние на качество жизни и адаптацию этих больных. Одним из значимых факторов является ремиссия высокого качества, возможная лишь при соблюдении предписанного лечения (комплаенс) [2, 3]. Данные исследований о влиянии комплаенса пациентов с ши-

зофренией противоречивы. Согласно одним исследованиям комплаентные пациенты имеют более высокое качество жизни [4], согласно другим – качество жизни является во многом субъективной характеристикой и не зависит от комплаентности пациентов [5, 6]. Изучение данного вопроса также осложняет отсутствие универсальных способов оценки как качества жизни, так комплаентности. В связи с этим необходимо дальнейшее изучение качества жизни пациентов с шизофренией, соблюдающих и не соблюдающих предписанную терапию.

Цель исследования – провести сравнительный анализ характеристик качества жизни и особенностей социального функционирования у комплаентных и некомплаентных пациентов с шизофренией.

Материал и методы

В исследование были включены лица, находящиеся на стационарном лечении в клиниках Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук. Критерии включения: верифицированный диагноз шизофрении по МКБ-10 [7] (F20.0, F20.1, F20.2, F20.6), давность катанестического периода заболевания не менее 1 года, возраст от 18 лет и старше; способность больного читать и писать на уровне, достаточном для выполнения оценочных процедур, связанных с проведением исследования, а также способность дать письменное информированное согласие. Критериями исключения являлись: наличие коморбидных психических расстройств, тяжелое соматическое заболевание, требующее госпитализации в профильный стационар, нежелание больного участвовать в исследовании. Согласно критериям отбора в исследование были включены 120 больных. Средний возраст пациентов при обследовании составил $34,8 \pm 10,3$ лет, диапазон возрастов находился в промежутке от 22 до 62 лет. На момент обследования в исследуемой группе пациентов средняя длительность заболевания составила $16 \pm 9,4$ лет. Преобладали больные с параноидной формой: 51 человек (42,5 %); с простой формой шизофрении было 32 человека (26,7 %), с кататонической 11 человек (9,17 %), с гебефренической 11 человек (9,17 %), с недифференцированной формой 15 человек (12,5 %). Наличие и отсутствие медикаментозного комплаенса у больных определялось с помощью Шкалы оценки соблюдения режима терапии MARS [8]. Оценка качества жизни обследуемых проводилась согласно пунктам «Опросника оценки социального функционирования качества жизни психически больных» [9]. Значимость разности показателей двух групп проводилась с помощью Т-критерия Стьюдента, достоверность различий между процентными долями двух выборок оценивалась с помощью критерия Фишера. Статистический анализ выполнен с использованием программного обеспечения Statistica for Windows (V. 12.0). Пороговое значение достигнутого уровня значимости p было принято равным 0,05.

Результаты

Согласно MARS среди всех обследуемых выявлено 69 некомплаентных пациентов (57,5 % от общего числа) и 51 комплаентный пациент (42,5 % от общего числа). При сравнении этих двух групп согласно пунктам «Опросника оценки социального функционирования качества жизни психически больных» были выявлены статистически значимые отличия субъективной оценки в большинстве кластеров опросника. Согласно кластеру «Здоровье» по объективному состоянию соматического здоровья обе группы были сопоставимы, статистически значимых различий не выявлено. По удовлетворенности соматическим здоровьем обе группы имели статистически значимые различия ($p < 0,05$): в группе комплаентных пациентов опрашиваемые преимущественно были не удовлетворены им (58,8 %), в группе некомплаентных пациентов такой ответ дали 27,5 % опрошенных; преимущественно удовлетворены соматическим здоровьем были 33,3 % некомплаентных больных против 7,8 % из группы комплаентных больных. В группе комплаентных не было ни одного пациента, давшего ответ «удовлетворен полностью», в группе же некомплаентных не было ни одного больного, давшего ответ «не удовлетворен». В группе комплаентных со статистической значимостью ($p < 0,05$) было больше больных, которые были «скорее не удовлетворены» психическим состоянием, – 41,2 %; в группе некомплаентных больных их было 13 %. В группе некомплаентных статистически значимо ($p < 0,05$) больше больных были «скорее удовлетворены» своим психическим состоянием, таких больных было 68,1 %; в группе комплаентных больных такой ответ дали 23,5 % опрошенных. По кластеру «Образование и трудовая деятельность» при оценке удовлетворенности полученным образованием в группе комплаентных больных преимущественно давали ответ «скорее не удовлетворен», таких больных было 41,2 %; в группе некомплаентных больных их было 7,2 %. Так же в группе некомплаентных больных

преимущественно удовлетворены полученным образованием 52,4 % больных; а в группе комплаентных – 23,5 % больных. Различия имели статистическую значимость ($p < 0,05$). При сравнении удовлетворенности наличием группы инвалидности выявлено, что в подгруппе некомплаентных статистически значимо ($p < 0,05$) было больше больных, не удовлетворенных ее наличием, их было 31,9 %; в подгруппе комплаентных таких больных было лишь 18,8 %. При сравнении двух групп по объективным показателям физической работоспособности выявлено, что в группе комплаентных больных со статистической значимостью ($p < 0,05$) было больше лиц с полностью восстановленной физической работоспособностью (23,5 %); в группе некомплаентных больных их было 5,8 %. Удовлетворенных полностью своей физической работоспособностью со статистической значимостью ($p < 0,05$) было больше в группе некомплаентных больных – 49,3 %, в группе комплаентных их было лишь 17,6 %. И, напротив, недовольных физической работоспособностью статистически значимо ($p < 0,05$) больше было в группе комплаентных больных – 17,6 %, в группе некомплаентных больных их было 2,9 %. Статистически значимых различий при оценке интеллектуальной продуктивности между группами найдено не было. При этом неудовлетворенных своей интеллектуальной продуктивностью среди некомплаентных больных не было, а в группе комплаентных таких больных было 17,6 %. По кластеру «Материально-бытовая сфера» в обеих группах преобладали больные с удовлетворительным материальным положением: 64,7 % в группе комплаентных больных и 59,4 % в группе некомплаентных больных. В обеих группах отсутствовали больные с очень хорошим материальным положением. По удовлетворенности же своим материальным положением группы имели статистически значимые различия ($p < 0,05$). В группе комплаентных больных не удовлетворены своим материальным положением были 31,4 % опрошенных, и их было больше, чем в подгруппе некомплаентных больных. И, напротив, в последней группе было больше больных, преимущественно удовлетворенных своим материальным положением, – 44,9 %, чем в группе комплаентных больных – 21,6 %. По кластеру «Семья и социальные контакты» объективные характеристики и показатели удовлетворенности имели отличные тенденции от других кластеров опросника. Удовлетворенность сложившимся семейным образом жизни была выше в группе комплаентных больных, в ней преобладали больные, преимущественно удовлетворенные своим семейным положением, их было 54,9 %, что статистически значимо ($p < 0,05$) было больше, чем в группе некомплаентных больных – 23,2 %. В группе некомплаентных больных преобладали больные, неудовлетворенные и преимущественно неудовлетворенные своим семейным положением: 20,3 % и 40,6 % соответственно; и тех и других статистически значимо ($p < 0,05$) было больше, чем в группе комплаентных. Отношения с родственниками в группе комплаентных больных носили преимущественно нейтральный характер, с таким типом отношений было 39,2 % больных, и их статистически значимо было больше, чем в группе некомплаентных больных – 5,8 %. В группе некомплаентных больных преобладали конфликтный и неустойчивый типы отношений: 34,4 % и 36,2 % соответственно, при этом по конфликтному типу отношений эта группа статистически значимо преобладала по сравнению с группой комплаентных (7,8 %). Удовлетворенность характером отношений с родственниками была выше в группе комплаентных больных, удовлетворенных и преимущественно удовлетворенных отношениями с окружающими было 47,1 % и 23,5 % соответственно ($p < 0,05$). Удовлетворенность отношениями с родственниками статистически значимо была ниже в группе некомплаентных больных: преимущественно неудовлетворенных и неудовлетворенных в этой группе было 34,9 % и 39,1 % соответственно ($p < 0,05$).

Выводы

Комплаенс пациентов, страдающих шизофренией, влияет на социальное функционирование и объективные характеристики их качества жизни. COMPLAENT пациенты по объективным показателям имеют более высокий уровень социального функционирования и качества жизни, но субъективно отличаются более высоким уровнем притязаний и низкой удовлетворенностью во всех жизненных сферах, за исключением сферы отношений. НЕКОМPLAENT пациенты по объективным показателям отличаются низким уровнем социального функционирования и качества жизни, но субъективно имеют ниже уровень притязаний и ощущают большую удовлетворенность во всех жизненных сферах, за исключением сферы отношений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Orley J., Kuyken W. The WHOQOL Group The Development of the World Health Organization Quality of Life Assessment Instrument (the WHOQOL). Quality of Life Assessment: International Perspectives. Springer, Berlin, Heidelberg, 2003.
2. Гурович И.Я., Семенова Н.Д. Психосоциальные подходы в практике лечения и реабилитации шизофрении: современные тенденции. Социальная и клиническая психиатрия. 2007; 17(4): 78–85.

3. Семке А.В., Федоренко О.Ю., Лобачева О.А., Рахмазова Л.Д., Корнетова Е.Г., Смирнова Л.П., Микилев Ф.Ф., Щигорева Ю.Г. Клинические, эпидемиологические и биологические предпосылки адаптации больных шизофренией как основа персонализированного подхода к антипсихотической терапии. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2015; 3(88): 19–25.
4. Гордеева Е.А., Волков Н.П., Оруджев Н.Я., Черная Н.А., Фролов М.Ю. Фармакоэкономические аспекты лечения параноидной шизофрении при использовании комбинированной терапии типичными и атипичными нейролептиками. Неврологический вестник. Журнал им. В.М. Бехтерева. 2018; 50(2): 107–108.
5. Acosta F, Hernández J, Pereira J, Herrera J, Rodríguez C.J. Medication adherence in schizophrenia. World Journal of Psychiatry. 2012; 2: 74–82.
6. Burns J.K. Why searching for psychosis in diverse settings is important for global research and mental health systems development. Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology. 2015; 50(6): 895–897.
7. World Health Organization: The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders – Diagnostic Criteria for Research. Geneva: WHO, 1993. 224 p.
8. Thompson K., Kulkarni J., Sergejew A.A. Reliability and validity of a new medication adherence rating scale (MARS) for the psychoses. Schizophrenia Research. 2000; 42:241–247.
9. Гурович И.Я., Шмуклер А.Б. Социальное функционирование и качество жизни психически больных. Социальная и клиническая психиатрия. 1998; 2: 35–40.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛЯ БОЛЬНЫХ РАЗНЫМИ ФОРМАМИ ШИЗОФРЕНИИ

Е.М. Дмитриева

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

Аннотация

В последнее время повысился интерес к протеомным исследованиям больных психическими расстройствами. Актуальным остается вопрос о создании протеомного профиля, характерного для конкретной нозологии, для оценки патогенетических путей, участвующих в развитии заболевания, а также для прогностической оценки ответа на терапию в контексте персонализированного подхода. Основная цель работы заключалась в сравнительном анализе протеома больных простой и параноидной шизофренией. В работе проанализирован белковый спектр сыворотки крови 18 человек: 12 человек имели диагноз параноидная шизофрения, 6 – простая шизофрения. Идентификацию белков сыворотки крови проводили с использованием квадрупольного масс-спектрометра Orbitrap Q-exactive HF (Thermo Fisher Scientific, USA). Идентификацию белков проводили с использованием программного обеспечения Mascot Ver. 2.1 (www.matrixscience.com, «Matrix Science» США). Анализ межбелковых взаимодействий и идентификация задействованных патологических путей проводилась с использованием баз данных известных и предсказанных белок-белковых взаимодействий STRING (<https://string-db.org/>) и Reactome (<https://reactome.org/>). В результате масс-спектрометрического анализа выявлены белки, которые участвуют в таких биологических процессах, как апоптоз, репарация и повреждение ДНК, а также в процессах синтеза белка с последующей структурной организацией. Для больных параноидной шизофренией обнаружены внутриклеточные белки, инициирующие процессы апоптоза, его регуляцию, а также транспорт апоптотических телец, для больных простой формой шизофрении выявлены белки, основные функции которых обеспечивают процессы фагоцитоза апоптотических телец. В группах присутствуют белки, отвечающие за репарацию ДНК, однако в группе параноидной шизофрении также есть белки, участвующие в повреждении ДНК. Наличие всех выявленных белков в протеоме больных подтверждает участие окислительного стресса в патогенезе шизофрении. Таким образом, в результате работы выявлены существенные различия в протеомах сыворотки крови больных двумя наиболее часто встречающимися формами шизофрении, которые будут в дальнейшем использованы в персонализированном подходе к терапии этих больных.

Ключевые слова: шизофрения, биомаркеры, протеомика, сыворотка крови.

COMPARATIVE FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE PROTEOMIC PROFILE OF PATIENTS WITH DIFFERENT FORMS OF SCHIZOPHRENIA

E.M. Dmitrieva

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

Abstract

In more recent time the interest in proteomics researches of patients with psychiatric diagnoses was increased. The issue of creating a proteomic profile characteristic of a particular nosology remains relevant for assessing the pathogenetic pathways involved in the development of the disease, as well as for the prognostic assessment of the response to therapy in the context of a personalized approach. The main goal of the research was the comparative proteome analysis of patients with simple-type and paranoid schizophrenia. There was analyzed the serum proteome of 18 donors: 12 paranoid schizophrenia patients and 6 simple-type schizophrenia patients. The identification of serum proteins was carried out with mass spectrometer Orbitrap Q-exacutive HF (Thermo Fisher Scientific, USA). The search of proteins was performed via search engine Mascot Ver. 2.1 («Matrix Science» USA). As a result of mass spectrometric analysis revealed proteins involved in biological processes such as apoptosis, DNA repair, and DNA damage. Also was found the participants of the protein synthesis and structural organization processes. In the serum of patients with paranoid schizophrenia was found proteins of apoptosis stimulation and regulation, and proteins of apoptotic bodies. For simple-type schizophrenia patients was found proteins were identified whose main functions are provided by the processes of phagocytosis of apoptotic bodies. Both groups have DNA repair proteins however the serum of paranoid schizophrenia patients contains DNA damage proteins. All identified proteins demonstrate the part of oxidative stress in the pathogenesis of schizophrenia. Thereby, as the result of research was found out considerable differences in serum proteomes of the most common forms of schizophrenia. These data will be used in patient-specific therapy.

Key words: schizophrenia, biomarkers, proteomics, serum.

Актуальность

В последнее время стало ясно, что важным звеном нарушения молекулярных процессов при психических расстройствах могут быть изменения в белковом спектре. В связи с этим повысился интерес к протеомным исследованиям больных психическими расстройствами [1]. За всю историю изучения шизофрении было выявлено множество различных генетических и экологических факторов риска развития шизофрении, включая злоупотребление наркотиками и алкоголем т.д. [2]. Несмотря на их неоднородность, одним из механизмов, который участвует во всех этих процессах, может быть окислительный стресс. Многочисленные исследования указывают на дисбаланс в восстановительно-окислительной системе и развитие генерализованного окислительного стресса в организме больных шизофренией [3, 4].

Цель исследования – провести сравнительный анализ протеомного профиля больных простой и параноидной шизофренией.

Материал и методы

В работе проанализирован белковый спектр сыворотки крови 18 человек: из них 12 человек имели диагноз параноидная шизофрения, 6 – простая шизофрения. Критериями невключения в обследование для всех групп являлось наличие соматических заболеваний в острой фазе, хронических заболеваний, прием лекарственных средств, отказ от участия в исследовании, отсутствие информированного согласия. Работа проведена с соблюдением протокола, утвержденного комитетом по биомедицинской этике НИИ психического здоровья ТНИМЦ и в соответствии с Хельсинской декларацией.

У обследуемых лиц брали кровь из локтевой вены утром натощак с использованием пробирок типа Vacuette (Becton Dickinson Vacutainer, Nederland). Белки разделяли с помощью электрофореза по методу Laemmli с последующим трипсинолизом в геле. Анализ сыворотки крови проводили с использованием квадрупольного масс-спектрометра Orbitrap Q-exacutive HF (Thermo Fisher Scientific, USA). 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). Анализ межбелковых взаимодействий и идентификация патологических путей проводилась с использованием баз данных известных и предсказанных белок-белковых взаимодействий STRING (<https://string-db.org/>) и Reactome (<https://reactome.org/>).

Результаты

В результате работы было выявлено, что основное количество белков включены в такие биологические процессы, как апоптоз, репарация и повреждение ДНК, а также в процессы синтеза белка с последующей структурной организацией. Несмотря на сходство патофизиологических процессов, белковый профиль каждой формы шизофрении существенно отличался. В данном исследовании при анализе профиля белков было установлено, что для больных параноидной шизофренией характерно присутствие внутриклеточных белков, отвечающих за инициацию процессов апоптоза, его регуляцию, а также последующий транс-

порт апоптотических телец. Для больных простой формой шизофрении выявлены белки, основными функциями которых являются активизация или непосредственное участие в процессах фагоцитоза апоптотических телец (табл. 1). Результаты последних исследований свидетельствуют о том, что апоптоз часто активируется у больных шизофренией, при этом широко обсуждаются не только его особенности и биологическая роль, но и возможные генетические, иммунные и биохимические механизмы. Интересны данные о том, что уровни апоптоза в сыворотке у больных дефицитарной шизофренией были значительно выше, чем у других больных и здоровых лиц [5]. В частности, худший прогноз заболевания может быть связан с высоким уровнем апоптоза.

Помимо апоптоза, окислительный стресс на организменном уровне связан с процессами репарации и повреждения ДНК. В целом вызванное окислительным стрессом повреждение ДНК может способствовать развитию заболевания: выявляются нарушения функции клеток, повреждение нейронов и даже нейродегенерация, а также увеличивается клеточная гибель путем апоптоза. По полученным результатам для параноидной шизофрении характерны белки, отвечающие за повреждение ДНК, а для простой – за репарацию ДНК (табл. 2).

Однако нарушение может возникнуть не только в результате повреждения ДНК, но и при последующей трансляции и формировании пространственной структуры белка. В зависимости от характера нарушения эти белки могут иметь сниженную или aberrантную функцию. Кроме того, ненормальное сворачивание этих aberrантных белков может привести к агрегации белков и цитотоксичности, что также может приводить к гибели клеток. По результатам работы выявлено большое количество белков, участвующих в этих процессах, для группы больных параноидной шизофренией в сравнении с простой формой (табл. 3, 4).

Таким образом, в результате работы выявлены существенные различия в протеомах сыворотки крови больных двумя наиболее часто встречающимися формами шизофрении, которые будут в дальнейшем использованы в персонифицированном подходе к терапии этих больных [6].

Масс-спектрометрический анализ проводился на базе ЦКП «Протеом Человека» Института биомедицинской химии (ИБМХ) г. Москва. Работа поддержана грантом РФФИ № 18-15-00053.

Таблица 1

Белки, участвующие в процессе апоптоза

Параноидная шизофрения	Простая шизофрения
AN1-type zinc finger protein 6	B-cell receptor-associated protein 29
Apoptosisregulator BAX	B-cell receptor-associated protein 31
Baculoviral IAP repeat-containing protein 6	Engulfment and cell motility protein 1
Etoposide-induced protein 2.4 homolog	Cancer-associated surface antigen RCAS1
MAP kinase-activating death domain protein	
Programmedcelldeath protein 7	
RabGTPase-binding effector protein 1	
Serine protease HTRA2, mitochondrial	

Таблица 2

Белки, отвечающие за выполнение функций репарации и повреждения ДНК

Параноидная шизофрения	Простая шизофрения
Fumarate hydratase, mitochondrial	BRCA1-associated RING domain protein 1
UV excision repair protein RAD23 homolog B	DNA helicase MCM9
Girdin	Methyl-CpG-binding domain protein 4

Таблица 3

Белки, участвующие в процессах трансляции

Параноидная шизофрения	Простая шизофрения
Eukaryotic translation initiation (factor 2 subunit 1, factor 3 subunit B, factor 3 subunit C-like protein, factor 3 subunit D)	Eukaryotic translation initiation factor 3 (subunit A, subunit C, subunit C-like protein, subunit E)
ElongationfactorTu, mitochondrial	Phenylalanine-tRNA ligase, mitochondrial
Translation factor GUF1, mitochondrial	
Translation initiation factor eIF-2B subunit β	

Таблица 4

Белки, регулирующие посттрансляционную сборку белков.

Параноидная шизофрения	Простая шизофрения
Calreticulin	DnaJ homolog subfamily A member 2
Heat shock protein HSP 90-alpha	T-complex protein 11-like protein 2
Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim13	
Prefoldin subunit 6	
Stress-induced-phosphoprotein 1	

ЛИТЕРАТУРА

1. Смирнова Л.П., Логинова Л.В., Дмитриева Е.М., Серёгин А.А., Семке А.В., Симуткин Г.Г., Иванова С.А. Первые результаты сравнения протеомов сыворотки крови больных шизофренией и биполярным аффективным расстройством. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2016; 2(91): 42–47.
2. Lanté F, Meunier J, Guiramaud J, Maurice T, Cavalier M, deJesus Ferreira M.-C., Aimar R, Cohen-Solal C, Vignes M, Barbanel G. Neurodevelopmental damage after prenatal infection: role of oxidative stress in the fetal brain. Free Radic Biol Med. 2007; 42: 1231–1245.
3. 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 tardive dyskinesia. Современные проблемы науки и образования. 2013; 5: 341.
4. Дубровская В.В., Корнетова Е.Г., Семке А.В., Иванова С.А., Аржанник М.Б., Головаха Н.Э. Клиническая динамика и социальная адаптация у пациентов с шизофренией с сопутствующим метаболическим синдромом. Современная терапия психических расстройств. 2019; 2: 17–21.
5. Beyazyüz M., Kufeciler T., Bulut L., Ünsal C., Albayrak Y., Akyol E.S., Baykal S., Kuloglu M., Hashimoto K. Increased serum levels of apoptosis in deficit syndrome schizophrenia patients: a preliminary study. Neuropsychiatr Dis Treat. 2016; 12: 1261–1268.
6. Семке А.В., Федоренко О.Ю., Лобачева О.А., Рахматова Л.Д., Корнетова Е.Г., Смирнова Л.П., Микилев Ф.Ф., Щигорева Ю.Г. Клинические, эпидемиологические и биологические предпосылки адаптации больных шизофренией как основа персонализированного подхода к антипсихотической терапии. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2015; 3(88): 19–25.

АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ И СОПУТСТВУЮЩИМ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

В.В. Дубровская

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

Аннотация

Большинство пациентов с шизофренией имеют сниженную профессиональную и социальную продуктивность. Но в клинической практике нередко можно наблюдать несоответствие объективных показателей социальной адаптации субъективному восприятию качества жизни. Изучение приспособительного поведения и аспектов адаптации у больных с шизофренией и сопутствующим метаболическим синдромом является актуальным и позволит впоследствии разработать индивидуальные реабилитационные программы для данной группы пациентов. Целью исследования было изучить типы компенсаторно-приспособительных защит у пациентов с шизофренией и сопутствующим метаболическим синдромом. Было обследовано 150 пациентов с шизофренией. В исследование включались пациенты от 18 до 65 лет с длительностью заболевания 15 [7; 22] лет, 63 (42 %) пациента имели сопутствующий метаболический синдром, 87 (58 %) не имели его. Оценка социальной адаптации пациентов проводилась с помощью методики Г. В. Логвинович. В группе пациентов с сопутствующим МС, как и в группе без МС, преобладающим являлся тип компенсаторно-приспособительной защиты «укрытие под опекой»: 60,32 % (38 человек) и 55,17 % (48 человек) соответственно. Наименее часто встречающимся в обеих группах являлся тип защиты «социальная оппозиция»: в группе с МС 4,76 % (3 человека) и в группе без МС 9,19 % (8 человек), в связи с малочисленностью группы не сравнивались между собой. Тип защиты «гуттаперчивая капсула» в группе с МС был у 20,63 % (13 человек), в группе без МС у 16,09 % (14 человек). Тип защиты «экологическая ниша» в группе с МС был представлен у 14,29 % (9 человек), в группе без МС у 19,54 % (17 человек). Таким образом, установлено, что наличие сопутствующего МС у пациентов с шизофренией не оказывает значимого влияния на адаптацию пациентов.

Ключевые слова: шизофрения, метаболический синдром, адаптация.

ADAPTATION OF PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA AND CONCOMITANT METABOLIC SYNDROME

V.V. Dubrovskaya

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

Abstract

Most patients with schizophrenia have reduced professional and social productivity. Objective indicators of social adaptation to the subjective perception of the quality of life. The study of adaptive behavior and adaptation in patients with schizophrenia and associated metabolic syndrome is relevant and allows the development of individual rehabilitation programs for these groups of patients. 150 patients with schizophrenia were examined. The study included patients from 18 to 65 years old, with a disease duration of 15 [7; 22] years, 63 (42 %) patients had concomitant metabolic syndrome, 87 (58 %) did not have it. Assessment of the social adaptation of patients V. Logvinovich. In the group of patients with concomitant MS status, the type of compensatory-adaptive protection «under guardianship» prevails: 60.32% (38 people) and 55.17 % (48 people), respectively. In the group with MS 4.76 % (3 people) and in the group without MS 9.19% (8 people), groups with small numbers are not compared with each other. The type of protection «gutta percha capsule» in the group with MS was in 20.63 % (13 people), in the group without MS in 16.09 % (14 people). The type of protection «ecological niche» in the group with MS was presented in 14.29 % (9 people), in the group without MS in 19.54 % (17 people). Thus, it was found that the presence of concomitant MS in patients with schizophrenia does not significantly affect the adaptation of patients.

Key words: schizophrenia, metabolic syndrome, adaptation.

Актуальность

Шизофрения – заболевание, характеризующееся хроническим течением и снижением социального и профессионального функционирования. Большинство пациентов с данным расстройством имеют сниженную профессиональную продуктивность: не заняты на постоянной работе и часто имеют инвалидность по психическому состоянию, испытывая материальные сложности [1]. В случаях неблагоприятного течения заболевания с частыми регоспитализациями пациенты редко вступают в брак, чаще разводятся и гораздо меньше времени проводят с друзьями [2]. Но в клинической практике нередко можно наблюдать несоответствие объективных показателей социальной адаптации субъективному восприятию качества жизни [3]. Побочные эффекты медикаментозной терапии шизофрении, в том числе метаболические, нередко приводят к ухудшению субъективных показателей социальной адаптации и качества жизни. Одной из причин этого является то, что побочные эффекты нередко тягостно переносятся пациентами [4].

Метаболический синдром среди психически здоровых людей значительно ухудшает субъективное восприятие качества жизни [5]. У больных шизофренией метаболические нарушения являются, в том числе, побочным эффектом нейролептической терапии, и при редукции психопатологической симптоматики субъективное восприятие улучшения самочувствия несколько нивелирует их негативное влияние. Так, известно, что выбор нейролептика первого или второго поколения не влияет на субъективные различия в качестве жизни, но редукция симптомов при обострении шизофрении, тем не менее, ведет к улучшению данного показателя [6]. Изучение приспособительного поведения и аспектов адаптации у больных с шизофренией и сопутствующим метаболическим синдромом является актуальным и позволит впоследствии разработать индивидуальные реабилитационные программы для данной группы пациентов [7].

Цель исследования – изучить типы компенсаторно-приспособительных защит у пациентов с шизофренией и сопутствующим метаболическим синдромом.

Материал и методы

Обследовано 150 пациентов с шизофренией, получающих стационарное лечение на базе клиник НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. В исследование включались пациенты от 18 до 65 лет с длительностью заболевания 15 [7; 22] лет, состояние которых на момент осмотра отвечало критериям рубрики F20 МКБ-10. 63 (42 %) пациента имели сопутствующий метаболический синдром (МС), 87 (58 %) не имели его. Оценка

социальной адаптации пациентов проводилась с помощью методики Г.В. Логвинович [8]. При проведении исследования были соблюдены принципы информированного согласия Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica for Windows (V. 10.0). Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ 18-15-00011 «Шизофрения, сочетанная с метаболическим синдромом: клинко-конституциональные факторы и молекулярные маркеры».

Результаты

В группе пациентов с сопутствующим МС, как и в группе без МС, преобладающим являлся тип компенсаторно-приспособительной защиты «укрытие под опекой»: 60,32 % (38 человек) и 55,17 % (48 человек) соответственно. Наименее часто встречающимся в обеих группах являлся тип защиты «социальная оппозиция»: в группе с МС 4,76 % (3 человека) и в группе без МС 9,19 % (8 человек), в связи с малочисленностью группы не сравнивались между собой. Пятая часть пациентов в обеих группах имели благоприятные типы компенсаторно-приспособительных защит. Тип защиты «гуттаперчевая капсула» в группе с МС был у 20,63 % (13 человек), в группе без МС у 16,09 % (14 человек). Тип защиты «экологическая ниша» в группе с МС был представлен у 14,29 % (9 человек), в группе без МС у 19,54 % (17 человек). Статистически значимых различий между обеими группами выявлено не было во всех 3 сравниваемых случаях (уровень значимости $p > 0,05$). Сравнение двух групп по типам компенсаторно-приспособительных защит продемонстрировано на рис. 1.

Выводы

Таким образом, установлено, что наличие сопутствующего МС у пациентов с шизофренией не оказывает значимого влияния на объективную адаптацию пациентов. Учитывая нередко наблюдаемое несоответствие объективных показателей социальной адаптации субъективному восприятию качества жизни, необходимо дальнейшее изучение данных аспектов социальной адаптации пациентов.

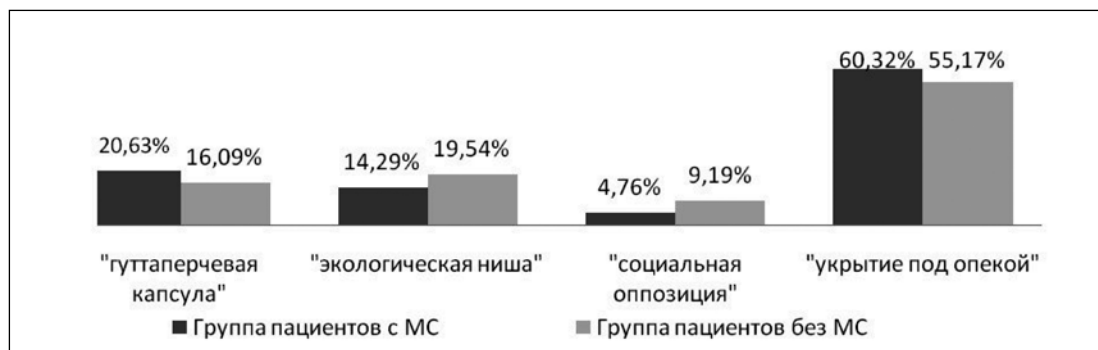


Рис.1. Типы индивидуальных компенсаторно-приспособительных защит

ЛИТЕРАТУРА

1. Прибытков А.А. Нарушение социального функционирования больных шизофренией. Социальная и клиническая психиатрия. 2012; 4(22): 27–29.
2. Пашиковский В.Э., Софронов А.Г., Федоровский И.Д. Сравнительный анализ показателей социальной адаптации больных параноидной шизофренией с разной частотой госпитализаций. Социальная и клиническая психиатрия. 2017; 3(27): 19–25.
3. Дмитриева Е.Г. Комплаенс и адаптация пациентов, страдающих шизофренией (клинический и реабилитационный аспекты): дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2018. 186 с.
4. Корнетова Е.Г., Дмитриева Е.Г., Тигунцев В.В., Гончарова А.А., Полежаев П.К., Иванова С.А., Семке А.В. Гиперпролактинемия у больных шизофренией, получающих галоперидол и рisperидон: клинко-социальный аспект. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2019; 103(2): 90–97.
5. Saboya P.P., Bodanese L.C., Zimmermann P.R., Gustavo A.D., Assumpção C.M., Londero F. Metabolic syndrome and quality of life: a systematic review. Rev Lat Am Enfermagem. 2016 Nov 28; 24: e2848. doi: 10.1590/1518-8345.1573.2848.
6. Tandon R., Nasrallah H.A., Keshavan M.S. Schizophrenia, Just The Facts 5. Treatment and prevention. Past, present and future. Schizophr Res. 2010 Sep; 122(1-3):1–23. doi: 10.1016/j.schres.2010.05.025.
7. Семке А.В., Федоренко О.Ю., Лобачева О.А., Рахматова Л.Д., Корнетова Е.Г., Смирнова Л.П., Микилев Ф.Ф., Щигорева Ю.Г. Клинические, эпидемиологические и биологические предпосылки адаптации больных шизофренией как основа персонализированного подхода к антипсихотической терапии. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2015; 3(88): 19–25.
8. Логвинович Г.В., Семке А.В. Первичные и вторичные нарушения адаптации при шизофрении. Томск, 1995. 216 с.

КОНЦЕНТРАЦИЯ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ И ХЕМОКИНА RANTES В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С КОМОРБИДНЫМ ТЕЧЕНИЕМ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ И АФФЕКТИВНОГО РАССТРОЙСТВА

Е.В. Епимахова, А.С. Бойко, Л.А. Левчук

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

Аннотация

В статье представлены результаты исследования концентраций миелопероксидазы (МРО) и хемокина, экспрессируемого и секретируемого Т-клетками при активации (RANTES) в сыворотке крови пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и аффективного расстройства в сравнении с концентрацией аналогичных показателей в сыворотке крови пациентов с синдромом зависимости от алкоголя, в сыворотке крови пациентов с депрессивными расстройствами и в сыворотке крови психически и соматически здоровых людей. Для пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и депрессивных расстройств выявлено статистически значимое изменение в содержании сывороточного МРО и RANTES по сравнению с контрольной группой, а также достоверное увеличение МРО по сравнению с группой пациентов с депрессивными расстройствами и по сравнению с группой пациентов с синдромом зависимости от алкоголя.

Ключевые слова: миелопероксидаза, хемокин RANTES, пациенты с коморбидным течением алкогольной зависимости и депрессивных расстройств.

CONCENTRATION OF MYELOPEROXIDASE AND CHEMOKINE RANTES IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH COMORBIDITY OF ALCOHOL DEPENDENCE AND AFFECTIVE DISORDER

E.V. Epimakhova, A.S. Boiko, L.A. Levchuk

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Abstract

In this study we investigated myeloperoxidase (MPO) and chemokine RANTES concentrations in the serum blood of patients with comorbidity alcohol dependence and affective disorder in comparison with the concentration of similar parameters of patients with alcoholism, of patients with depressive disorders and of healthy people. We revealed a significant change in the content of serum MPO and RANTES for patients with comorbidity alcohol dependence and depressive disorders compared with the control group, of patients with depressive disorders and of patients with alcohol dependence.

Key words: *myeloperoxidase, chemokine RANTES, patients with comorbidity alcohol dependence and affective disorder.*

Введение

Алкоголизм и аффективные расстройства являются одними из наиболее часто встречающихся расстройств и нередко являются коморбидными заболеваниями, каждое из которых повышает риск развития другого, и оказывают взаимное неблагоприятное влияние. Согласно анализу литературных данных, клинические проявления при коморбидности аддиктивных и аффективных расстройств отличаются полиморфизмом, большей степенью выраженности и обусловлены сложными биологическими механизмами [1]. Все больше исследований подтверждают роль иммунологических изменений в развитии и прогрессировании как аддиктивных и депрессивных расстройств [2,3], так и при сочетанной форме алкоголизма и депрессии [4].

В этом направлении поиск новых молекулярных периферических биомаркеров может быть полезным и перспективным для улучшения диагностики и прогноза терапии пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и аффективного расстройства.

Все большее внимание в качестве нового воспалительного биомаркера привлекает миелопероксидаза (МРО). МРО – это фермент, вырабатываемый активированными лейкоцитами во время врожденного иммунного ответа, который катализирует образование активных форм окислителей. Исследования последних лет показывают вовлеченность МРО в развитие депрессивного расстройства [5], показана взаимосвязь между уровнями МРО в сыворотке и когнитивными показателями у пациентов с депрессивными расстройствами [6].

Другим перспективным биомаркером может являться хемокин RANTES (экспрессируемый и предположительно секретируемый нормальными Т-клетками при активации). Он является мощным потенциально значимым активатором для острых и хронических воспалительных процессов. В работе А.М. Manzardo с соавторами [7] показано увеличение данного показателя при алкоголизме по сравнению с контрольными значениями. Также отдельные исследования свидетельствуют о связи воспалительных хемокинов и депрессивных расстройств [8].

Целью данного исследования было определение концентрации МРО и RANTES в сыворотке крови пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и аффективного расстройства, в сыворотке крови пациентов с синдромом зависимости от алкоголя, в сыворотке крови пациентов с депрессивными расстройствами и в сыворотке крови психически и соматически здоровых людей.

Материал и методы

Исследование с участием людей проведено с соблюдением принципов информированного согласия Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации и одобрено Локальным этическим комитетом при НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. В исследование включены 56 пациентов с синдромом зависимости от алкоголя и депрессивными расстройствами, проходивших лечение в отделениях аддиктивных и аффективных состояний клиники НИИ психического здоровья Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук. Из них 22 пациента с синдромом зависимости от алкоголя (F10.2, МКБ-10), 15 пациентов с депрессивными расстройствами (F32, F33, МКБ-10) и 19 пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и аффективного расстройства: депрессивного эпизода, биполярного аффективного расстройства, рекуррентного депрессивного расстройства или дистимии. В группу контроля вошел 21 психически и соматически здоровый человек, не имеющий хронических заболеваний и не стоящий на диспансерном учете, без признаков перенесенных острых инфекционных заболеваний на момент обследования.

Материалом для исследования явилась сыворотка крови. У всех обследуемых лиц брали кровь из локтевой вены в период с 8.00 до 9.00 натошак в пробирки фирмы BD Vacutainer с активатором свертывания крови для получения сыворотки. Концентрацию миелопероксидазы и хемокина, экспрессируемого и секретируемого Т-клетками при активации (RANTES), в сыворотке крови больных и психически здоровых людей определяли на мультиплексном анализаторе MAGPIX (Luminex, USA) с применением xMAP® Technology. На этом этапе была использована панель HNDG3MAG-36K производства MILLIPLEX® MAP (Merck, Darmstadt, Germany). Детектируемая информация обрабатывалась специальным программным обеспечением Luminex xPONENT® с последующим экспортом данных в программу для подсчета MILLIPLEX® Analyst 5.1. Конечные результаты концентрации МРО и RANTES в сыворотке крови представляются в нг/мл. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ StatSoft STATISTICA 8.0. Проверку на нормальность распределения значений переменных проводили по критерию Колмогорова-Смирнова. Данные выражали в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. Статистическую значимость различий между группами определяли по критериям Манна-Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Содержание МРО в сыворотке крови пациентов с текущим депрессивным эпизодом на момент поступления в стационар незначительно выше аналогичного показателя у здоровых лиц. Также для пациентов с алкогольной зависимостью было выявлено недостоверное увеличение концентрации миелопероксидазы по сравнению с контрольными значениями. Для пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и депрессивных расстройств выявлено статистически значимое изменение в содержании сывороточного МРО по сравнению с контрольной группой ($p = 0,001$), а также достоверное увеличение по сравнению с

группой пациентов с депрессивными расстройствами ($p=0,003$) и с группой пациентов с синдромом зависимости от алкоголя ($p=0,04$) (табл. 1).

Концентрации RANTES в сыворотке крови пациентов с депрессивными расстройствами значимо не отличались от концентраций аналогичных показателей в группе контроля. У пациентов, страдающих алкоголизмом, уровень RANTES в сыворотке крови достоверно выше контрольных значений ($p=0,003$). Также были получены статистически значимые различия между содержанием RANTES у пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и депрессивных расстройств по сравнению с контрольной группой ($p=0,001$) (табл. 1).

Выводы

Для пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и депрессивных расстройств выявлены статистически значимые изменения содержания сывороточного МРО и RANTES по сравнению с контрольной группой, а также достоверное увеличение МРО по сравнению с группой пациентов с депрессивными расстройствами и по сравнению с группой пациентов с синдромом зависимости от алкоголя.

Таблица 1

Концентрация МРО и RANTES в сыворотке крови пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и аффективного расстройства, с синдромом зависимости от алкоголя, с депрессивными расстройствами и психически и соматически здоровых людей; Ме (25 %Q-75 %Q)

Показатель / Группа	МРО (нг/мл)	RANTES(нг/мл)
Пациенты с коморбидным течением алкогольной зависимости и аффективного расстройства (n=19)	1889,3 (932,4–6773,1)* #	5,2 (3,0–6,3)*
Пациенты с депрессивными расстройствами (n=15)	631,9 (161,9–1443,1)	6,8 (4,3–8,7)
Пациенты с синдромом зависимости от алкоголя (n=22)	574,9 (199,3–3574,3)	5,4 (4,4–7,1)*
Психически и соматически здоровые люди (контрольная группа) (n=21)	464,9 (135,9–1130,2)	7,0 (6,4–10,8)

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с контрольной группой; # – $p<0,05$ по сравнению с группой пациентов с депрессивными расстройствами и с группой пациентов с синдромом зависимости от алкоголя.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бохан Н.А., Мандель А.И., Иванова С.А., Прокопьева В.Д., Артемьев И.А., Невидимова Т.И., Мастерова Е.И., Воеводин И.В., Аболонин А.Ф., Шушпанова Т.В. Старые и новые проблемы наркологии в контексте междисциплинарных исследований. Вопросы наркологии. 2017;1: 26–62.
2. Liu Y., Ho R. C., Mak A. Interleukin (IL)-6, tumour necrosis factor alpha (TNF- α) and soluble interleukin-2 receptors (sIL-2R) are elevated in patients with major depressive disorder: a meta-analysis and meta-regression. J Affect Disord. 2012;139(3): 230–239.
3. Невидимова Т.И., Ветлугина Т.П., Батухтина Е.И., Савочкина Д.Н., Найденова Н.Н., Никитина В.Б., Лобачева О.А., Меняйцева Т.А., Иванова С.А., Бохан Н.А. Особенности продукции цитокинов при болезнях зависимости. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015; 1–1: 49–51.
4. Neupane S.P. Neuroimmune Interface in the Comorbidity between Alcohol Use Disorder and Major Depression. Front Immunol. 2016; 7: 655.
5. Vaccarino V., Brennan M.L., Miller A.H., Bremner J.D., Ritchie J.C., Lindau F., Veledar E., Su S., Murrah N.V., Jones L., Jawed F., Dai J., Goldberg J., Hazen S.L. Association of major depressive disorder with serum myeloperoxidase and other markers of inflammation: a twin study. Biol Psychiatry. 2008; 64(6): 476–83.
6. Talarowska M., Szemraj J., Gaiecki P. Myeloperoxidase gene expression and cognitive functions in depression. Adv Med Sci. 2015; 60(1): 1–5.
7. Manzardo A.M., Poje A.B., Penick E.C., Butler M.G. Multiplex Immunoassay of Plasma Cytokine Levels in Men with Alcoholism and the Relationship to Psychiatric Assessments. Int J Mol Sci. 2016; 17(4): 472.
8. Grassi-Oliveira R., Brieztke E., Teixeira A., Pezzi J.C., Zanini M., Lopes R., Bauer M.E. Peripheral chemokine levels in women with recurrent major depression with suicidal ideation. Rev. Bras. Psiquiatr. 2012; 34(1): 71–75.

КАТАЛИТИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА КАК МАРКЕРЫ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

Е.А. Ермаков

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Институт химической биологии и фундаментальной медицины»
Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет», г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Накапливается все больше убедительных доказательств, что в патогенез шизофрении активно вовлечены воспалительные реакции и различные иммунные изменения. Важным признаком изменений в иммунной системе является появление среди общего пула иммуноглобулинов каталитических антител (абзимов). В данном исследовании показано, что IgG из сыворотки крови больных шизофренией обладают нуклеазной активностью и способны гидролизовать ДНК и РНК. Полученные данные создают базу для разработки критериев стратификации больных шизофренией на основе иммунологических биомаркеров.

Ключевые слова: шизофрения, антитела, абзимы, ДНК, РНК, микроРНК, иммунологические нарушения, нейровоспаление.

CATALYTIC ANTIBODIES AS MARKERS OF NEUROINFLAMMATION IN SCHIZOPHRENIA

E.A. Ermakov

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Abstract

More and more convincing evidence is accumulating that inflammatory reactions and various immune disturbances are actively involved in the pathogenesis of schizophrenia. An important sign of abnormalities in the immune system is the detection of catalytic antibodies (abzymes) among the total pool of immunoglobulins. This study showed that IgG from the blood serum of patients with schizophrenia possess nuclease activity and are able to hydrolyze DNA and RNA. The data obtained form the basis for developing criteria for the segregation of patients with schizophrenia based on immunological biomarkers.

Key words: schizophrenia, antibodies, abzymes, DNA, RNA, microRNA, immunological disturbances, neuroinflammation.

Актуальность

Молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждением (DAMPs), такие как ДНК, РНК или гистоновые белки, взаимодействуя с образ-распознающими рецепторами, приводят к активации иммунного ответа. DAMPs высвобождаются из поврежденных или умирающих клеток при апоптозе, нетозе, пироптозе и других вариантах клеточной гибели [1]. Хотя DAMPs способствуют защите организма, в некоторых случаях они могут приводить к патологическим воспалительным реакциям [2]. В развитии шизофрении участвуют различные патофизиологические механизмы [3, 4], однако появляется все больше убедительных доказательств, что в патогенез шизофрении активно вовлечены воспалительные реакции и различные иммунологические нарушения [5]. У больных шизофренией обнаружена ассоциация с генами иммунной системы, показано преобладание провоспалительных цитокинов в сыворотке и спинномозговой жидкости, кроме того, выявлена активация микроглии мозга, что является доказательством нейровоспаления [5]. Активированная иммунная система влияет на нейрональную передачу путем ингибирования фермента метаболизма триптофана – индоламин-2,3-диоксигеназы, что приводит к образованию нейроактивных метаболитов, таких как кинуреновая кислота, которая является антагонистом NMDA рецепторов [6]. Помимо этого, при шизофрении обнаружены антитела к различным аутоантигенам, в том числе ДНК [7]. Одним из признаков иммунных нарушений является появление каталитических антител (абзимов) среди общего пула иммуноглобулинов [8]. Такие антитела обладают способностью не только связывать, но и каталитически модифицировать антиген. Каталитические антитела, связывающие и гидролизующие ДНК и РНК, обнаружены при системной красной волчанке, рассеянном склерозе и других аутоиммунных заболеваниях [8]. Каталитические антитела могут играть значительную роль в патогенезе заболевания, а также являться важным диагностическим признаком иммунных нарушений.

С учетом имеющихся доказательств изменений в иммунной системе при шизофрении в данной работе исследована активность поликлональных каталитических IgG больных шизофренией в реакции гидролиза нуклеиновых кислот.

Материал и методы

В исследование были отобраны 30 больных шизофренией (параноидная и простая форма) и 20 здоровых доноров. Средний возраст в группе пациентов составил $39,3 \pm 9,1$ года, длительность заболевания – $9,8 \pm 6,2$ года. На предварительном этапе исследования анализировалась концентрация IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, общего IgG, IgA, IgM в сыворотке крови методом ELISA. В дальнейшем эта сыворотка использовалась для получения электрофоретически и иммунологически гомогенных препаратов IgG с помощью аффинной хроматографии на Protein G Sepharose. Для анализа каталитической активности полученных IgG применяли разработанные в нашей лаборатории методики [8]. В качестве субстратов использовали ДНК (плазмиды pBluescript), модельные РНК-субстраты (сСМР, polyC, polyA), суммарную РНК из различных клеток, а также FITC-меченые нейроспецифические микроРНК. Продукты гидролиза анализировали с помощью электрофореза в агарозном либо полиакриламидном геле в денатурирующих условиях. Для регистрации результатов использовали лазерный сканер Typhoon FLA 9500. Статистический анализ результатов проводили в программе Statistica 10.

Результаты

На предварительном этапе исследования у пациентов с шизофренией обнаружено снижение уровня подклассов IgG₁ и IgG₂ в сыворотке крови по сравнению со здоровыми донорами. Кроме того, показано изменение соотношения подклассов IgG с уменьшением процентного содержания IgG₁ и IgG₂ и увеличением IgG₃ и IgG₄. Дальнейший анализ выделенных поликлональных IgG показал, что препараты IgG больных шизофренией обладают выраженной нуклеазной активностью, в то время как IgG здоровых доноров проявляли слабую или не детектируемую активность. С использованием жестких общепринятых критериев доказано, что активность принадлежит непосредственно антителам, а не является следствием примеси канонических ферментов. Выявлено, что ДНК-гидролизующей активностью обладали 80 % препаратов IgG больных шизофренией, в то время как РНК-гидролизующую активность проявляли 100 % препаратов. Также показано, что IgG больных эффективно гидролизуют суммарную РНК из различных клеток. Однако уровень нуклеазной активности IgG был значительно ниже активности классических нуклеаз. Кроме того, обнаружена способность каталитических антител больных шизофренией гидролизовать нейроспецифические микроРНК (miR-137, miR-9, miR-219). Анализ образующихся фрагментов показал, что IgG действуют одновременно как экзонуклеазы, так и эндонуклеазы. Некоторые препараты IgG проявляли сиквенс-специфичность, но в целом каталитические антитела более специфичны к вторичной структуре молекулы микроРНК. По результатам молекулярного моделирования сайтов гидролиза на 3D структурах молекул микроРНК установлено, что основные участки расщепления расположены в петлях микроРНК или двуцепочечных областях молекулы. Показана корреляция уровня микроРНК-гидролизующей активности с концентрацией IgG₁, IgG₃ и общего IgG, что может указывать на то, что именно эти подклассы IgG проявляют каталитическую активность. Важно отметить, что уровень гидролиза микроРНК антителами больных шизофренией также коррелировал с клиническими параметрами заболевания. Обнаружена корреляция уровня микроРНК-гидролизующей активности с длительностью заболевания, а также с баллами по подшкале общих симптомов и суммарным значением по шкале PANSS.

Выводы

Таким образом, у больных шизофренией обнаружены новые доказательства изменений в гуморальной иммунной системе, которые заключаются в появлении каталитических антител с нуклеазной активностью. Каталитические антитела при шизофрении, с одной стороны, могут играть защитную роль, поскольку гидролиз и удаление DAMPs (ДНК и РНК) из кровотока снижает активацию TLR, уменьшая иммунный ответ. Появление каталитических антител может быть компенсаторной реакцией организма на появление DAMPs в крови. С другой стороны, каталитические антитела могут влиять на экспрессию микроРНК в крови, тем самым участвуя в патогенезе заболевания. Полученные данные создают базу для разработки критериев стратификации больных шизофренией на основе иммунологических биомаркеров. Идентификация подгрупп больных с выраженными иммунологическими нарушениями позволит рекомендовать им дополнительное назначение противовоспалительной терапии.

Работа поддержана базовым проектом ПФНИГАН 2013-2020 № АААА-А17-117020210023-1, проектом РФФИ № 20-015-00156 (работы по получению и частичной характеристике IgG больных шизофренией), а также стипендией Президента РФ № СП-2258.2019.4 (работа по разработке критериев стратификации).

ЛИТЕРАТУРА

1. Magna M., Pisetsky D.S. The alarmin properties of DNA and DNA-associated nuclear proteins. Clinical therapeutics. 2016; 38(5): 1029–1041. doi: 10.1016/j.clinthera.2016.02.029.
2. Roh J.S., Sohn D.H. Damage-associated molecular patterns in inflammatory diseases. Immune network. 2018; 18(4): e27. doi: 10.4110/in.2018.18.e27.
3. Иванова С.А., Смирнова Л.П., Семке А.В., Кротенко Н.М., Рудиков Е.В., Иванова А.С., Корнетова Е.Г. Способ прогнозирования риска развития поздней дискинезии при нейролептической терапии больных шизофренией. Патент на изобретение RU 2447832 C1, 20.04.2012. Заявка № 2010151648/14 от 15.12.2010.
4. Семке А.В., Федоренко О.Ю., Лобачева О.А., Рахмазова Л.Д., Корнетова Е.Г., Смирнова Л.П., Микилев Ф.Ф., Щигорева Ю.Г. Клинические, эпидемиологические и биологические предпосылки адаптации больных шизофренией как основа персонализированного подхода к антипсихотической терапии. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2015;3(88): 19–25.
5. Müller N. Inflammation in schizophrenia: pathogenetic aspects and therapeutic considerations. Schizophrenia bulletin. 2018; 44(5): 973–982. doi: 10.1093/schbul/sby024.
6. Erhardt S., Schwieler L., Imbeault S., Engberg G. The kynurenine pathway in schizophrenia and bipolar disorder. Neuropharmacology. 2017; 112: 297–306. doi:10.1016/j.neuropharm.2016.05.020.
7. 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. СС Корсакова. 2016; 116(4): 47–51. doi: 10.17116/jnevro20161164147-51.
8. Nevinsky G.A., Buneva V.N. Human catalytic RNA-and DNA-hydrolyzing antibodies. Journal of immunological methods. 2002; 269(1–2): 235–249. doi: 10.1016/S0022-1759(02)00234-X.

АССОЦИАЦИЯ БЕССОННИЦЫ И ТРЕВОГИ У ЛИЦ, СТРАДАЮЩИХ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТЬЮ

И.С. Ефремов¹, А.Р. Асадуллин^{1,2,3}, Э.А. Ахметова^{1,2,3}

ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, Россия¹

Республиканский наркологический диспансер № 1 МЗ РБ, г. Уфа, Россия²

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева» Минздрава России, г. Уфа, Россия³

Аннотация

В работе приводятся данные исследования ассоциации бессонницы и выраженности тревожности. Были использованы метод клинического интервьюирования, психодиагностический метод и метод обработки статистических данных. В качестве методик были использованы шкала тревоги Гамильтона (1959), индекс тяжести инсомнии (ISI, Morin C. et al., 2011). Для статистического анализа применялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Испытуемыми стали 169 пациентов (36 женского пола, 133 мужского пола), с диагнозом F10.2 «Синдром зависимости от алкоголя». В результате проведения пилотного исследования было выявлено, что у лиц с хронической алкогольной зависимостью тяжесть инсомнии ассоциирована с выраженностью тревожных проявлений ($R=0,52$, $p=0,0000$).

Ключевые слова: бессонница, инсомния, алкоголизм, алкогольная зависимость, тревога, тревожность, алкоголь.

ASSOCIATION OF INSOMNIA AND ANXIETY OF PEOPLE WITH ALCOHOL DEPENDENCE

I.S. Efremov¹, A.R. Asadullin^{1,2,3}, E.A. Akhmetova^{1,2,3}

Bashkir State Medical University, Ufa, Russia¹

Republican Narcological Dispensary № 1, Ufa, Russia²

St. Petersburg V.M. Bekhterev Psychoneurological Research Institute, Ufa, Russia³

Abstract

The study presents the results for research on the association between insomnia and the severity of anxiety. Methods: clinical interviewing, psychological testing, and the processing of statistical data. The Hamilton anxiety scale (1959) and the insomnia severity index were used (2011). The method of data analysis was Spearman's rank correlation coefficient. There were 169 patients (36 were female, 133 were male) with alcohol dependence who were studied. Results. In people with chronic alcohol dependence, the severity of insomnia is associated with the severity of anxiety symptoms ($R=0.52$, $p=0.0000$).

Key words: insomnia, alcoholism, alcohol dependence, anxiety, alcohol.

Актуальность

Распространенность синдрома зависимости от алкоголя среди мужского населения, по данным Всемирной организации здравоохранения, составляет около 15 % [1]. Этиловый спирт оказывает на организм разностороннее влияние, моделируя различные процессы нейромедиаторных обменов [2]. Одним из феноменов, который описывают как прочно связанный с алкоголизацией, является изменение структуры и качества сна [3, 4]. По данным авторов, нарушения процессов сна встречаются более чем у 50 % пациентов, страдающих алкогольной зависимостью [5, 6]. С бессонницей и другими расстройствами сна ассоциирован ряд клинических и психических особенностей пациентов [7, 8]. Одним из значимых изменений в состоянии пациента можно выделить нарушения в эмоциональной сфере, в частности более высокие показатели тревожности. При этом взаимосвязь между указанными феноменами носит сложный характер и требует более тщательного изучения [9].

Цель исследования – исследовать ассоциацию инсомнии и тревожного состояния у лиц, страдающих алкогольной зависимостью.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 169 испытуемых – пациентов, проходивших стационарное лечение в Республиканском наркологическом диспансере №1 города Уфы в феврале 2019 – январе 2020 года. Среди пациентов 21 % (36/169) были женского пола, 79 % (133/169) мужского пола. Возраст испытуемых варьировался от 23 до 55 лет, средний возраст составил $41,4 \pm 7,94$, медиана = 41. Все испытуемые, попавшие в итоговую выборку, соответствовали критериям включения: наличие верифицированного диагноза F10.2 «Синдром зависимости от алкоголя»; период наблюдения в наркологической службе более года; подписанное добровольное информированное согласие; возраст не младше 18 и не старше 55 лет. Критериями невключения стали: наличие на момент обследования абстинентного синдрома; пациент отвечает критериям диагностики зависимости от другого психоактивного вещества, кроме алкоголя и никотина; невозможность проведения клинического интервьюирования по другим причинам; наличие коморбидной психической патологии: шизофрения, шизотипические состояния, бредовые расстройства (F20-F29), аффективные расстройства (F30-F39), деменция (F00-F03), умственная отсталость (F70-F79); тяжелая соматическая патология сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной систем, желудочно-кишечного тракта и мочевыделительной системы. Критериями исключения из исследования стали: отказ от участия в исследовании, выявление в процессе клинического интервьюирования критериев невключения.

Для достижения поставленной цели были использованы следующие методы: метод клинического интервьюирования, психодиагностический метод и метод обработки статистических данных.

В процессе проведения клинического интервью выявлялись критерии включения, невключения и исключения, собирались анамнестические данные. Для оценки выраженности тревоги у испытуемых была использована Шкала тревоги Гамильтона (1959) [10], методика позволяет определить выраженность тревожных проявлений, а также оценить психические и соматические компоненты тревожности. Для изучения наличия и выраженности инсомнии применялся Индекс тяжести инсомнии (ISI, Morin C. Et al., 2011) [11], который позволяет оценить наличие и тяжесть бессонницы. Сбор данных проводился с использованием стандартизированных бланков, в спокойной обстановке, непосредственно после проведенного интервью.

Для внесения данных в таблицу использовалась программа Microsoft Excel. Данные вносились двукратно с последующим сличением таблиц. В качестве программ для статистической обработки использовался статистический пакет STATISTICA 10. Для определения нормальности распределения был применен критерий Шапиро-Уилка.

Результаты

Для поиска ассоциаций между выраженностью бессонницы и уровнем тревожности был использован коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Выбор непараметрического метода обусловлен отличным от нормального распределения данных по ряду переменных.

При проведении анализа было выявлено наличие прямой статистически значимой корреляционной связи ($R=0,52$, $p=0,0000$) между выраженностью бессонницы и тревожными проявлениями.

Выводы

В результате проведения пилотного исследования было выявлено, что у лиц с хронической алкогольной зависимостью тяжесть инсомнии ассоциирована с выраженностью тревожных проявлений.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. Global status report on alcohol and health 2018 [Internet]. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274603/9789241565639-eng.pdf?ua=1> (cited 01.01.2020).
2. Van Laere K., Ceccarini J. How acute and chronic alcohol consumption modulate multiple neurotransmitter systems: a review of clinical PET neuroimaging. *Journal of Alcoholism and Drug Dependence*. 2018; 6(2): 307. doi: 10.4172/2329-6488.1000307.
3. Chaudhary N.S., Kampman K.M., Kranzler H.R., Grandner M.A., Debbarna S., Chakravorty S. Insomnia in alcohol dependent subjects is associated with greater psychosocial problem severity. *Addict Behav*. 2015 Nov; 50:165–72. doi: 10.1016/j.addbeh.2015.06.021.
4. Angarita G.A., Emadi N., Hodges S., Morgan P.T. Sleep abnormalities associated with alcohol, cannabis, cocaine, and opiate use: a comprehensive review. *Addict Sci Clin Pract*. 2016 Apr 26; 11(1):9. doi: 10.1186/s13722-016-0056-7.
5. Magnée E.H., de Weert-van Oene G.H., Wijdeveld T.A., Coenen A.M., de Jong C.A. Sleep disturbances are associated with reduced health-related quality of life in patients with substance use disorders. *Am J Addict*. 2015 Sep; 24(6): 515–22. doi: 10.1111/ajad.12243.
6. Perney P., Leher P. Insomnia in alcohol-dependent patients: prevalence, risk factors and acamprosate effect: an individual patient data meta-analysis. *Alcohol and Alcoholism*. 2018; 53: 611–618.
7. Kolla B.P., Bostwick J.M. Insomnia: The Neglected Component of Alcohol Recovery. *J Addict Res Ther*. 2011; 2: 2.
8. Nadorff M.R., Salem T., Winer E.S., Lamis D.A., Nazem S., Berman M.E. Explaining alcohol use and suicide risk: a moderated mediation model involving insomnia symptoms and gender. *J Clin Sleep Med*. 2014; 10(12):1317–1323.
9. Foster J.H., Peters T.J., Kind P. Quality of life, sleep, mood and alcohol consumption: a complex interaction. *Addiction Biology*. 2002; 7(1): 55–65.
10. Hamilton M.A.X. The assessment of anxiety states by rating. *British journal of medical psychology*. 1959; 32(1): 50–55.
11. Morin C.M., Belleville G., Bélanger L., Ivers H. The Insomnia Severity Index: psychometric indicators to detect insomnia cases and evaluate treatment response. *Sleep*. 2011 May 1; 34(5): 601–8. doi: 10.1093/sleep/34.5.601.

ДИНАМИКА КЛИНИКО-ПСИХОПАТОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК В ПСИХОТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С НЕВРОТИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ В ПРОЦЕССЕ АНАЛИТИКО-КАТАРТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Е.Г. Ильченко

Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Психиатрическая больница №1 им. П.П. Кащенко». Дневной стационар № 1, г. Санкт Петербург, Россия

Аннотация

В работе представлено описание теоретических основ аналитико-катартической терапии (АКТА), структура проведения индивидуального курса психотерапии. Изучены и представлены причины, вызвавшие декомпенсацию состояния и являющиеся пусковым фактором в развитии клинических проявлений заболевания. На основе анализа клинико-психопатологических характеристик клинического обследования пациентов с использованием специально разработанного полуструктурированного интервью (Анамнестической карты), Шкалы тревоги Гамильтона (HARS) и шкалы общего клинического впечатления CGI (CGI-S – оценка тяжести заболевания, CGI-I – оценка динамики улучшения) представлена основная характеристика выборки и динамика показателей в процессе лечения психотерапевтическим методом АКТА. Общее снижение суммарного балла HARS составило 73,8 %, что свидетельствует о высокой успешности проведенной терапии в отношении редукации тревоги. Средний показатель оценки тяжести заболевания по шкале CGI-S был равен $4,9 \pm 0,5$, что характеризовало состояние от умеренно тяжелого до средней степени тяжести. После психотерапии средний бал по шкале CGI-S равен $2,4 \pm 0,71$, что соответствует не более чем легкой выраженности заболевания. По шкале CGI-I средний бал $2,79 \pm 1,14$, что соответствует улучшению состояния от минимального до значительного. Таким образом, изменение показателей шкалы CGI свидетельствует об успешности проведенной терапии. В результате исследования определены клинические показатели, на основе изменения которых в динамике может оцениваться успешность проведенного лечения. Индивидуальная аналитико-катартическая терапия позволяет отчетливо редуцировать тревогу и улучшить общее состояние пациентов с тревожными невротическими расстройствами.

Ключевые слова: психотерапия, аналитико-катартическая терапия, АКТА, невротические расстройства.

DYNAMICS OF CLINICAL AND PSYCHOPATHOLOGICAL CHARACTERISTICS IN THE PSYCHOTHERAPEUTIC TREATMENT OF PATIENTS WITH NEUROTIC DISORDERS IN THE PROCESS OF ANALYTICAL AND CATHARTIC THERAPY

E.G. Ilchenko

Saint-Petersburg State Budgetary Health Care Institution «Psychiatric hospital № 1. P.P. Kashchenko»
Day hospital No. 1, Saint Petersburg, Russia

Abstract

The paper presents a description of the theoretical foundations of analytical-cathartic therapy (ACTA), the structure of the individual course of psychotherapy. The reasons that caused the decompensation of the condition and are a trigger factor in the development of clinical manifestations of the disease are studied and presented. Based on the analysis of clinical-psychopathological characteristics of the clinical examination of patients, using a specially designed semi-structured interview (Anamnesis card), Scale Hamilton anxiety (HARS) and scale of overall clinical impression (CGI CGI-S rating of disease severity, CGI-I – assessment of improvement), presents the main characteristics of the sample and trends in the treatment of psychotherapeutic method ACTA. The overall decrease in the total HARS score was 73.8 %, which indicates a high success rate of the therapy in relation to anxiety reduction. The average rating of the disease severity on the CGI-S scale was 4.9 ± 0.5 , which characterized the condition from moderate to moderate severity. After psychotherapy, the average score on the CGI-S scale is 2.4 ± 0.71 , which corresponds to no more than mild severity of the disease. On the CGI-I scale, the average score is 2.79 ± 1.14 , which corresponds to an improvement in the state from minimal to significant. Thus, the change in the CGI scale indicates the success of the therapy. As a result of the study, clinical indicators were determined, on the basis of changes in the dynamics of which the success of the treatment can be evaluated. Individual analytical-cathartic therapy allows you to clearly reduce anxiety and improve the overall condition of patients with anxiety neurotic disorders.

Key words: psychotherapy, analytical-cathartic therapy, ACTA, neurotic disorders

Актуальность

Аналитико-катартическая терапия (АКТА), теоретической основой которой является психология отношений В. Н. Мясищева, а также концепции М.М. Бахтина и Л.С. Выготского, предназначена для лечения эмоциональных нарушений. Основной техникой метода является «Диалог с воображаемым значимым Другим». Целью метода является достижение катарсиса как непреложного условия для запуска трансформации личности. С позиций диалогического подхода АКТА – это «полифонический» метод психотерапии, в задачу которого входит персонификация «внутренних голосов» с последующим «проигрыванием диалогов с их воображаемыми носителями» [1,2]. Диалоги в аналитико-катартической терапии движутся по так называемому герменевтическому кругу, когда пациент переходит от одной значимой фигуры к другой, тем самым устанавливая связи между фигурами из прошлого и настоящего, выстраивая их в единую психогенетическую цепь. Этот процесс приводит к интеграции личности и росту самосознания [3,4].

Цель исследования – оценить динамику клинко-патологических характеристик пациентов с невротическими расстройствами, в клинической картине которых преобладал тревожный синдром, в процессе индивидуальной АКТА. Курс индивидуальной АКТА в проведенном исследовании составлял 12 встреч по 60 минут 3 раза в неделю. Психофармакотерапия в период психотерапевтического лечения у пациентов не проводилась [5].

Материал и методы

В исследуемую группу (N=90) входили больные с невротическими расстройствами, в клинической картине которых преобладал тревожный синдром (раздел F4 по МКБ-10 – табл. 1): F41 (паническое расстройство и генерализованное тревожное расстройство) – 38 человек (42,2 %), F40 (фобические тревожные расстройства) – 17 человек (18,9 %), F48 (неврастения) – 16 человек (17,8 %), F45 (соматоформные расстройства) – 11 человек (12,2 %) и F42 (обсессивно-компульсивные расстройства) – 8 человек (8,9 %).

У 27 обследуемых пациентов (30,0 %) определялись соматоцентрированный и у 63 человек (70 %) психоцентрированный типы внутренней картины болезни [3,5].

Для понимания этиологического аспекта невротических расстройств имеет значение изучение причин, вызвавших декомпенсацию состояния и являющихся пусковым фактором в

развитии клинических проявлений заболевания. Для подавляющего большинства пациентов – 73 человека (81,11 %) – таким фактором явилась психотравмирующая ситуация. Среди часто встречающихся ситуаций преобладали те, которые затрагивали наиболее значимые отношения пациента с самыми близкими людьми и проблемы в профессиональной сфере. Наиболее распространены конфликты с супругом, партнером и детьми (32,2 %); напряженный характер работы и неудовлетворенность работой (18,64 %); увеличение нагрузки (13,56 %), конфликты с родственниками, а также смерть и тяжелые заболевания близких (8,47 %). Анализ клинко-психопатологических характеристик включал клиническое обследование с использованием специально разработанного полуструктурированного интервью (Анамнестической карты), Шкалы тревоги Гамильтона (HARS) и шкалы общего клинического впечатления CGI (CGI-S – оценка тяжести заболевания, CGI-I – оценка динамики улучшения) [2,4].

АКТА позволяет определить эмоционально значимый «внешний раздражитель», имеющий непосредственную связь с возникновением тревожных невротических расстройств, и в дальнейшем осознать и переработать внутренний конфликт пациента. Для определения мишеней психотерапии у пациентов анализировались типы внутреннего конфликта по В.Н. Мясищеву. Истерический тип (56 человек – 62,2 %) характеризовался специфическими диссоциативными, конверсионными расстройствами, эмоционально-аффективными нарушениями, своеобразными фобическими и астеническими проявлениями; обсессивный тип (14 пациентов – 15,6 %) был представлен в виде обсессивно-фобического и обсессивно-компульсивного вариантов; неврастенический тип (20 человек – 22,2 %) характеризовался преобладанием общевневрологических, астеновегетативных расстройств. В табл. 2 представлено распределение ведущих синдромов у пациентов с тревожными ведущими синдромами в группах больных согласно критериям МКБ 10.

Среди ведущих симптомов, имеющих наибольшую выраженность в структуре клинического состояния, в исследуемой группе самыми частыми были: тревожный – 68,9 %, фобический – 47,8 %, вегетативные приступы (колебания АД, потливость, сердцебиение) – 45,6 %, астенический – 38,9 %, диссомнический (нарушения сна) – 32,2 %, более редкими были обсессивный (навязчивости) – 23,3 %, депрессивный – 22,2 %, болевой – 21,1 %, нарушение аппетита – 21,1 % и ипохондрический – 16,7 %.

Степень выраженности расстройств по критериям CGI-S и на основе объективного осмотра в общей выборке в среднем варьировала от умеренной до сильной с довольно частым проявлением симптоматики. Наибольшая (сильная) выраженность симптоматики отмечалась у пациентов с обсессивным типом невротических расстройств ($p < 0,01$ по сравнению с другими типами), в то время как между истерическим и неврастеническим типом достоверных отличий в степени выраженности не обнаружено ($p > 0,01$) (степень интенсивности симптомов в среднем умеренная и выраженная). На основании длительности течения заболевания, особенностей клинической картины и взаимосвязи с психотравмирующей ситуацией выделялись стадии острого и затяжного невротического расстройства. Острое невротическое расстройство определялось при длительности заболевания до 1 года – 33 человека (36,7 %), затяжное невротическое расстройство отмечалось у пациентов с длительностью заболевания от 1 до 5 лет – 57 человек (63,3 %) и характеризовалось расширением спектра невротических симптомов, неспецифичностью их проявления, ипохондризацией [3,6].

Результаты

Изучение динамики клинических характеристик больных с невротическими расстройствами в процессе индивидуальной АКТА проводилось до, после и в отдаленном периоде лечения. До начала психотерапии абсолютный балл по шкале HARS по группам больных следующий: F40 – $31,22 \pm 5,1$; F41 – $37,13 \pm 3,91$; F42 – $24,30 \pm 2,33$; F45 – $32,43 \pm 5,38$; F48 – $28,60 \pm 2,21$; средний балл в общей выборке у пациентов составил $30,7 \pm 4,7$ (тяжелое тревожное расстройство), после курса психотерапии – F40 – $5,87 \pm 4,71$; F41 – $7,36 \pm 4,01$; F42 – $12,45 \pm 2,25$; F45 – $10,40 \pm 3,7$; F48 – $4,25 \pm 3,41$; средний балл в общей выборке у пациентов составил $8,1 \pm 3,3$ (симптоматическая тревога). Процентное снижение суммарного балла F40 – 81,19 %; F41 – 80,18 %; F42 – 48,76 %; F45 – 67,93 %; F48 – 85,14 %; общее снижение суммарного балла HARS составило 73,8 %, что свидетельствует о высокой успешности проведенной терапии в отношении редукции тревоги. По шкале CGI-I в группе сразу после психотерапии балл составил F40 – $1,36 \pm 0,62$; F41 – $1,52 \pm 0,8$; F42 – $3,02 \pm 1,03$; F45 – $1,83 \pm 0,32$; F48 – $2,02 \pm 0,64$; средний балл $1,95 \pm 0,74$, т.е. отмечалось значительное улучшение состояния, в катамнезе через полгода показатель составил F40 – $1,56 \pm 1,1$; F41 – $2,26 \pm 0,85$; F42 – $4,42 \pm 1,33$; F45 – $3,33 \pm 0,74$; F48 – $2,36 \pm 1,01$; средний балл – $2,79 \pm 1,14$ (улучшение состояния от минимального до значительного). Оценка тяжести заболевания по шкале CGI-S до психотерапии

соответствовала F40 – $4,68 \pm 0,61$; F41 – $4,69 \pm 0,42$; F42 – $5,75 \pm 0,82$; F45 – $5,00 \pm 0,72$; F48 – $4,57 \pm 0,32$; средний балл – $4,9 \pm 0,5$ (состояние от умеренно тяжелого до средней степени тяжести), после психотерапии показатель составил F40 – $1,83 \pm 0,92$; F41 – $2,03 \pm 0,43$; F42 – $3,37 \pm 0,81$; F45 – $2,00 \pm 0,41$; F48 – $2,86 \pm 0,81$; средний показатель – $2,4 \pm 0,71$ (не более чем легкая выраженность заболевания) ($p < 0,01$). Изменение показателей шкалы CGI также свидетельствует об успешности проведенной терапии.

Выводы

В результате исследования определены клинические показатели, на основе изменения которых в динамике может оцениваться успешность проведенного лечения. Индивидуальная аналитико-катартическая терапия позволяет отчетливо редуцировать тревогу и улучшить общее состояние пациентов с невротическими расстройствами.

Таблица 1

Распределение больных исследуемой группы по диагностическим рубрикам МКБ-10

Диагностическая рубрика	n	%
F40 – Фобические тревожные расстройства	17	18,89
F41 – Паническое расстройство (эпизодическая пароксизмальная тревожность)	38	42,22
F42 – Обсессивно-компульсивные расстройства	8	8,89
F45 – Соматоформные расстройства	11	12,22
F48 – Неврастения	16	17,78

Таблица 2

Варианты тревожного синдрома в группе больных по критериям МКБ-10

Группы больных	Варианты тревожного синдрома						Всего	
	синдром периодиче- ской тревоги		синдром постоянной тревоги		обсессивно-компульсивный синдром (обсессивно-фобический)			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
F40	6	12,24	10	38,46	1	6,67	17	18,89
F41	24	48,98	9	34,61	5	33,33	38	42,22
F42	1	2,04	0	0,00	7	46,67	8	8,89
F45	7	14,28	2	7,69	2	13,33	11	12,22
F48	11	22,44	5	19,23	0	0,00	16	17,78
Итого	49	100	26	100	15	100	90	100

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров А.А. Анализ аналитико-катартической терапии с позиций диалогического подхода. Вестник психотерапии. 2019; 69(74): 13–29.
2. Ильченко Е.Г. Формирование представлений о невротических расстройствах (неврозах). Вестник психотерапии. 2018; 65(70): 31–48.
3. Ильченко Е.Г., Караваева Т.А., Курпатов В.И. Предикторы эффективности аналитико-катартической терапии тревожных невротических расстройств. Медицинский алфавит. 2018; 3(27): 51–54.
4. Караваева Т.А., Колотильщикова Е.А., Мизинов Е.Б. Изменение психологических характеристик у больных с невротическими расстройствами в последние три десятилетия. Обзор психиатрии и медицинской психологии им. ВМ Бехтерева. 2010; 3: 62–65.
5. Alexandrov A.A. Analytical-Cathartic Therapy of Emotional Disturbances. International Journal of Dynamic Psychiatry. 2018; 51: 156–169.
6. Hermans H.J.M., Kemten, H.J.G. The dialogical Self: Meaning as move-ment. San Diego: Academic Press, 1993.

ВЛИЯНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ НА КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ПАРАНОИДНОЙ ШИЗОФРЕНИИ

А.С. Кадачegov, И.В. Максимова

КГБУЗ «Красноярский краевой психоневрологический диспансер №1», г. Красноярск, Россия
 ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет
 им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ, г. Красноярск, Россия

Аннотация

Средняя продолжительность жизни пациентов с шизофренией на 20 % короче, чем в популяции. Среди соматических причин смертности в 60 % случаев регистрируются сердечно-сосудистые заболевания и рак. Шизофрения заметно снижает качество жизни и возможность адаптации пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, осложняет ее течение и исход, повышает риск летальности. В данной работе анализируются клинические данные о влиянии заболеваний сердечно-сосудистой системы на клинику параноидной шизофрении, формирование при этом «органического фона», который необходимо учитывать при оказании лечебно-реабилитационной помощи данной группе пациентов.

Ключевые слова: параноидная шизофрения, гипертоническая болезнь, атеросклероз.

INFLUENCE OF CARDIOVASCULAR DISEASES ON CLINICAL MANIFESTATIONS PARANOID SCHIZOPHRENIA

A.S. Kadachegov, I.V. Maksimova

Krasnoyarsk regional psychoneurological dispensary No. 1, Krasnoyarsk, Russia

Krasnoyarsk state medical University named after V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia

Abstract

The average life expectancy of patients with schizophrenia is 20% shorter in the population. Among the somatic causes of death, cardiovascular diseases and cancer are registered in 60% of cases. Schizophrenia significantly reduces the quality of life and the ability to adapt patients with diseases of the cardiovascular system, complicates its course and outcome, increases the risk of mortality. This paper analyzes the clinical data on the impact of cardiovascular diseases on the clinic of paranoid schizophrenia, the formation of an «organic background», which must be taken into account when providing treatment and rehabilitation assistance to this group of patients.

Key words: paranoid schizophrenia, hypertension, atherosclerosis.

Болезни сердечно-сосудистой системы являются одной из наиболее распространенных форм соматической патологии, наблюдающихся у пациентов с шизофренией [1]. Самыми частыми формами сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с шизофренией являются артериальная гипертония и атеросклероз [1–3].

Артериальной гипертонией страдают примерно 15 % населения и более 19 % больных шизофренией [4, 5]. Доля пациентов, страдающих шизофренией, с явлениями некомплаентности по приему антипсихотиков предполагает некомплаентность и в плане приема препаратов для лечения соматических заболеваний, что затрудняет терапию данной категории больных. В результате этого большинство больных шизофренией с коморбидными заболеваниями сердечно-сосудистой системы или совсем не получают лечения этой соматической патологии, или получают его нерегулярно. А наличие соматического заболевания вносит изменения в клиническую картину шизофрении [6, 7].

Целью исследования явилось изучение особенностей клинических проявлений параноидной шизофрении у пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Материал и методы

В исследование включались пациенты, проходившие лечение в Красноярском краевом психоневрологическом диспансере №1 с диагнозом: «Параноидная шизофрения» и сопутствующими заболеваниями сердечно-сосудистой системы. Клиническим методом были обследованы 96 пациентов (22 мужчины – 22,92 %; 74 женщины – 77,08 %), средний возраст $44,51 \pm 8,05$ лет у мужчин, $42,81 \pm 8,43$ лет у женщин. В 36 случаях (37,5 %) гипертоническая болезнь была единственным сопутствующим соматическим заболеванием, в 42 (43,75 %) отмечались другие соматические заболевания. Атеросклероз изолированно был выявлен только у четырех пациентов (4,2 %), у 12 пациентов (12,5 %) одновременно с ним была диагностирована гипертоническая болезнь, у двух (2,1 %) – болезнь почек. Также были проанализированы архивные истории болезни данных пациентов.

Результаты

При обследовании пациентов с сопутствующими заболеваниями сердечно-сосудистой системы, кроме консультации терапевта и окулиста, проводилась ЭКГ. При артериальной

гипертонии на ЭКГ отмечались признаки гипертрофии левого желудочка, при обследовании глазного дна также имели место характерные изменения сосудов. Вне стационара гипотензивную терапию пациенты, как правило, не получали, участкового терапевта не посещали. Даже при высоких цифрах артериального давления (180–240 мм рт. ст.) характерные жалобы на головную боль, боли в области сердца, мелькание мушек перед глазами у пациентов практически отсутствовали. В отдельных случаях головную боль пациенты описывали как «сжатие головы», «сдавление обручем». Подобные состояния не сопровождались какой-либо бредовой интерпретацией переживаний, не вызывали нарушений эмоционального фона и поведения в виде злобы, агрессии. Наоборот, у 44 человек (56,4 %) отмечались нарушения настроения в виде беспечности и эйфоричности. Пациенты становились более общительными, хотя эта общительность была поверхностна, бестактна, а иногда даже цинична.

Более половины пациентов с сопутствующей гипертонической болезнью (52 человека – 66,7 %) вообще отрицали у себя наличие сопутствующего соматического заболевания. После проведения курса гипотензивной терапии в условиях стационара они отмечали улучшение состояния в виде отсутствия головной боли. В периоды нормализации артериального давления у 32 пациентов (41,0 %), кроме основного психопатологического синдрома, отмечались клинические проявления сосудистого поражения головного мозга в виде астении, сентиментальности, слабодушия, повышенной раздражительности, обидчивости. Для 14 человек (17,9 %) характерными были конфликтность, взрывчатость, расторможенность и эгоцентризм.

Диагноз атеросклероз был выставлен 18 пациентам (18,75 %), находившимся на стационарном лечении по поводу параноидной шизофрении. У этих больных с течением времени вербальные галлюцинации стали менее разборчивыми, психотическая симптоматика стала менее выраженной, наблюдавшиеся ранее явления психического автоматизма отсутствовали. При этом тематика бредовых идей трансформировалась, характерными стали идеи ущерба, так называемый бред малого размаха. Наблюдалась бредовая интерпретация симптомов атеросклероза: больные считали, что головокружение, головные боли, боли в сердце возникают в результате физического воздействия. С присоединением и прогрессированием атеросклероза у пациентов нарастали возбудимость, раздражительность, склонность к аффективным вспышкам. Пониженное настроение сопровождалось слабостью, плаксивостью, быстрой истощаемостью.

В течение заболевания все больные получали лечение психотропными препаратами, назначались как типичные, так и атипичные антипсихотики. В разные периоды болезни препараты менялись. Следует отметить, что ни один пациент не получал монотерапию, назначалось как минимум два антипсихотика.

Только 18 больных (18,8 %) переносили назначенное лечение без выраженных побочных эффектов. У остальных 78 пациентов (81,2 %) отмечались проявления нейролепсии, требующие коррекции терапии.

Лечение артериальной гипертензии включало применение таких препаратов, как эналаприл, лизиноприл, амлодипин, при неэффективности монотерапии применялась комбинированная гипотензивная терапия.

При улучшении состояния и редуцировании психотической симптоматики больные выписывались в домашнюю обстановку с рекомендациями приема тех же препаратов, которые они получали в стационаре, и наблюдения у участкового терапевта.

Выводы

1) сочетание параноидной шизофрении и заболеваний сердечно-сосудистой системы встречаются довольно часто и могут привести к взаимному отягощению клинических проявлений данных заболеваний;

2) заболевания сердечно-сосудистой системы у пациентов с параноидной шизофренией способствуют развитию специфического «органического фона»;

3) указанные клинические проявления необходимо учитывать в лечебно-реабилитационных мероприятиях у пациентов, страдающих параноидной шизофренией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волков В.П. Соматическая патология и причины смерти при шизофрении. Журнал неврологии и психиатрии. 2009; 5: 9–14.
2. Jindal R., MacKenzie E.M., Baker G.B., Yeragani V.K. Cardiac risk and schizophrenia. J Psychiatry Neurosci. 2005 Nov; 30(6): 393–5.
3. Березовская М.А., Семке А.В. Влияние коморбидной патологии на клиническую картину и церебральную гемодинамику больных параноидной шизофренией. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2013; 2:49–53.
4. Ревенко О.А., Марункевич Я.Ю. Особенности сопутствующей соматической патологии у больных параноидной шизофренией. Архив психиатрии. 2014; 4(79): 75–79.
5. Davidson S., Judd F., Jolley D., Hocking B., Thompson S., Hyland B. Cardiovascular risk factors for people with mental illness. Aust NZ J Psychiatry. 2001 Apr; 35(2):196–202. doi: 10.1046/j.1440-1614.2001.00877.x.
6. Березовская М.А., Петрова М.М. Роль артериальной гипертензии в клинике и течении параноидной шизофрении. Сибирское медицинское обозрение. 2010; 5(65): 7–10.
7. Lieberman J.A., Stroup T.S., Mc Evoy J.P., Swartz M.S., Rosenheck R.A., Perkins D.O., Keefe R.S., Davis S.M., Davis C.E., Lebowitz B.D., Severe J., Hsiao J.K.; Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness (CATIE) Investigators. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. N Engl J Med. 2005 Sep 22; 353(12): 1209–23. doi: 10.1056/NEJMoa051688.

АТЕРОСКЛЕРОЗ КАК ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ

Ю.Н. Коваль¹, В.Т. Манчук², О.В. Смирнова²

ФГБОУ ВО Сибирская пожарно-спасательная академия ГПС МЧС России, г. Железногорск, Россия
 Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия

Аннотация

В статье представлены результаты анкетирования, проведенного у пожарных-спасателей МЧС. Работа проделана в целях определения уровня профессионального стресса. Доказано, что профессиональная деятельность пожарных-спасателей МЧС связана с экстремальными условиями – это может быть как волнение от ожидания пожара, так и непосредственное тушение пожара. Хроническое и острое психологическое напряжение могут стать причиной развития тяжелых осложнений. Полученные результаты помогут раннему выявлению патологических изменений в сердечно-сосудистой системе. Определение основных факторов риска развития атеросклероза, диагностика и прогнозирование развития заболевания позволят своевременно проводить терапевтическую коррекцию у работников.

Ключевые слова: атеросклероз, пожарные-спасатели МЧС, стресс, экстремальные условия, пожар.

ATHEROSCLEROSIS AS AN OCCUPATIONAL DISEASE

Yu.N. Koval¹, V.T. Manchuk², O.V. Smirnova²

FSBEI HE Siberian Fire and Rescue Academy of the State Fire Service
 of the Ministry of Emergencies of Russia Zheleznogorsk, Russia
 Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russia

Abstract

The article presents the results of a survey of firefighters-rescuers of the Ministry of Emergencies. The work was done to determine the level of professional stress among employees. It is proved that the professional activity of the rescue firefighters of the Ministry of Emergencies is associated with extreme conditions – it can be like excitement from the expectation of a fire or the fire itself itself. Chronic and acute psychological stress can cause severe complications. The results will help early detection of pathological changes in the cardiovascular system. Identification of the main risk factors for the development of atherosclerosis, diagnosis and prediction of the development of the disease will allow timely therapeutic correction in workers.

Key words: atherosclerosis, rescue firefighters of the Ministry of Emergencies, stress, extreme conditions, fire.

Пожарный-спасатель МЧС – гражданин, подготовленный и аттестованный на проведение аварийно-спасательных работ. Известно, что профессия пожарных-спасателей МЧС связана с работой в экстремальных условиях. Основные качества, которыми должен обладать пожарный-спасатель МЧС, это ответственность и самоотверженность. Помимо личностных качеств, лесной пожарный должен быть ловким и выносливым, а также сильным. Один

только комплект снаряжения может весить до 40 килограммов. А когда огонь успевает охватить большие территории лесных массивов, то процесс тушения может затянуться на многие часы и даже дни.

Профессия пожарного-спасателя МЧС по степени опасности и вредности относится к профессиям повышенного риска. У сотрудников отмечается высокий уровень заболеваний, связанных с профессиональной деятельностью. В нормативных документах содержится информация о том, что одним из оснований к медицинскому противопоказанию является диагноз атеросклероз [1].

Актуальность

Атеросклероз опасен тем, что долгое время не проявляет клинических симптомов, особенно на ранних стадиях. Чаще всего больные сталкиваются с симптомами тяжелых осложнений непосредственно при разрыве атеросклеротической бляшки. Данная проблема определяет необходимость диагностирования и прогнозирования атеросклероза с целью предупреждения развития заболевания. Актуальным является не только раннее выявление патологических изменений в артериях, но и анализ модифицируемых факторов риска у практически здоровых работников [2].

Существует различные факторы риска развития атеросклероза, в том числе высокий уровень стресса. Так как профессиональная деятельность связана с экстремальными условиями, то специфическим фактором профессиональной деятельности являются стресс-агенты. Это может быть как волнение от ожидания пожара, так и непосредственно само тушение пожара.

Цель – оценить факторы риска, предрасполагающие к развитию атеросклероза пожарных-спасателей МЧС.

Материал и методы

Обследование сотрудников структуры МЧС и здоровых добровольцев включало анкетирование, биохимический анализ крови, а также данные ультразвукового исследования сердца и сонных артерий. По данным обследования, в контрольной группе не было лиц с признаками атеросклероза.

Уровень профессионального стресса оценивали по индексу напряженности труда в баллах. Нормативные показатели соответствовали 0–2 баллам, умеренное повышение напряженности труда – 3–5 баллам, значительное повышение – 6–8 баллам [3]. Данные обработали статистически с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0.

Результаты

В рамках исследования было проведено профессиографическое исследование с анкетированием с целью выявить преобладающий фактор риска, способствующий развитию заболевания. Распределение по должностям были таково: рядовых – 70, старших пожарных – 20, начальников караула – 11 человек.

В анкете были отражены вопросы, касающиеся субъективной оценки тяжести и напряженности труда, самочувствия во время дежурства и после проведения пожарных и аварийно-спасательных работ. Данные условия соответствуют тяжелому и очень тяжелому труду. И определяют у сотрудников высокие требования к профессиональным качествам и способностям [4].

Согласно произведенному анкетированию были выявлены особенности, связанные с профессиональной деятельностью:

- 1) повышенная напряженность труда;
- 2) высокая мера ответственности;
- 3) несбалансированность эмоциональных нагрузок;
- 4) нагрузки статического характера;
- 5) физическая активность в условиях высокой температуры и влажности в комплексе с высоким темпом работы;
- 6) несбалансированное питание;
- 7) нарушение режима сон / бодрствование;
- 8) работа в условиях с пониженной концентрацией кислорода.

Суммарная оценка напряженности труда она составляла от допустимых двух до восьми баллов (значительное повышение напряженности). В соответствии с этим распределением из 101 обследованного у 12 человек (12,12 %) регистрировался нормальный уровень профессионального стресса, у 30 человек (30,3 %) – умеренное повышение напряженности труда, у 59 (59,59 %) – значительное повышение. Данные условия соответствуют тяжелому и очень тяжелому труду и определяют высокие требования к профессиональным качествам

и способностям сотрудников [4]. Значимых различий, связанных с возрастом и стажем, не выявлено.

Вне зависимости от распределения по должностям у обследованных наблюдалась негативная реакция на развивающийся стресс, проявляющаяся в реакциях психологического напряжения. Наличие зависимости между группами подтверждается невысокими, но статистически достоверными коэффициентами корреляции: по параметру повышенного уровня холестерина $r=0,280(p=0,009)$, повышения холестерол липопротеинов низкой плотности $r=0,240(p=0,008)$.

Оценка функционального состояния сердечно-сосудистой системы показала увеличение при росте напряженности труда систолического и диастолического артериального давления у лиц с повышенным индексом массы тела.

Гомеостаз – это одно из свойств организма, поддерживающее нормальное состояние организма и его устойчивость к абиотическим факторам окружающей среды. Нарушение постоянства внутренней среды организма под воздействием внешних и внутренних факторов ведет к необратимым последствиям, что наблюдается в виде изменения интенсивности процессов биосинтеза. Это может стать причиной нарушения иммунного ответа, снижения интенсивности обмена веществ, увеличения уровня сахара в крови и кортизола, повышения уровня холестерина и развития атеросклероза [5].

Выводы

Профессия пожарного-спасателя МЧС – одна из самых опасных в мире. Эта ежедневная работа – величайший риск для жизни, но она необходима для сохранения материальных ценностей, защиты и спасения жизней людей. Благородство, сила духа, мужество, честь, воля – вот те качества, которые отличают лесного пожарного по призванию.

В результате экстремальных условий работы у пожарных-спасателей МЧС высока вероятность развития стресса. При стрессе происходит спазм сосудов, что ведет к снижению их эластичности и поражению атеросклеротическими бляшками, которые сужают просвет сосудов. Это приводит к повышению артериального давления, ломкости или разрыву сосудов, возникновению кровоизлияний. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, сердечно-сосудистая патология считается ведущей во многих странах мира. Определение основных факторов риска развития атеросклероза, диагностика и прогнозирование развития заболевания позволят своевременно проводить терапевтическую коррекцию у работников.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексанин С.С., Астафьев О.М., Санников М.В., Совершенствование системы медицинских обследований спасателей и пожарных МЧС России. Медицина катастроф. 2010; 3: 8–11.
2. Круглякова М.В., Смирнова О.В., Титова Н.М. Оценка показателей антиоксидантной и глутатионовых систем в крови здоровых людей. Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. 2019; 11: 5–1.
3. Марьин М.И., Гегель А.Л., Апостолова Л.О. Результаты оценки функционального состояния и работоспособности пожарных. Проблемы пожарной безопасности зданий и сооружений. М.: ВНИИПО, 1990. 243 с.
4. Меерсон Ф.Э., Пиенникова М.Г. Адаптация человека. М., 1988. 380 с.
5. Алексанин С.С. Лабораторная диагностика соматической патологии у спасателей, сотрудников федеральной противопожарной службы Государственной противопожарной службы МЧС России и участников ликвидации радиационных аварий (методические рекомендации). СПб.: ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова; МЧС России, 2015. 66 с.

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТАНДАРТНЫХ ШКАЛ ИЗМЕРЕНИЯ ИНТЕЛЛЕКТА У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВОМ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

А.И. Косонова, Ю.В. Шапошникова

КГБУЗ «Красноярский краевой психоневрологический диспансер №1», г. Красноярск, Россия

Аннотация

Данная работа посвящена актуальной на сегодняшний день проблеме расстройств аутистического спектра у детей. Актуальность проблемы определяет необходимость изучения аутистических расстройств врачами разных специальностей из-за роста распространенности аутизма во всем мире и сложностей его дифференциальной диагностики на начальных этапах, что часто ведет к неправильному представлению о людях, страдающих аутизмом, и вызывает негативное отношение к лечению

у психиатра. Учитывая особенности клинической картины детей с аутизмом, из-за которых не всегда удается установить достаточный контакт в ходе проведения тестирования, были рассмотрены проблемы определения уровня IQ стандартизированными методами. Обследование проводилось на базе Красноярского краевого психоневрологического диспансера №1 среди детей, имеющих диагноз атипичный аутизм, сочетающийся с умственной отсталостью. Для оценки уровня интеллекта были использованы стандартные шкалы измерения интеллекта Векслера (оригинальный вариант WISC-IV и его отечественные модификации для детей). Особое внимание также было уделено необходимости учитывать нарушения коммуникации и неравномерность развития психических, в том числе интеллектуальных функций у детей с РАС, в результате чего неверным было бы ориентироваться лишь на цифровые показатели коэффициента интеллектуального развития при постановке диагноза умственной отсталости. Было проведено дополнительное клиническое обследование, по результатам которого часть детей в дальнейшем показывала значительную положительную динамику в познавательной деятельности, что являлось нехарактерным признаком для детей, имеющих умственную отсталость. В дальнейшем на основании клинической картины у части детей диагноз умственной отсталости не подтвердился, несмотря на результаты тестирования, соответствующие уровню интеллектуального недоразвития. Данное исследование позволило сделать вывод, что для постановки диагноза необходимо оценивать полную клиническую картину аутистического расстройства, а результаты психологического тестирования могут служить одним из дополнительных методов обследования. Для более точной диагностики в дальнейшем возможна разработка и применение альтернативных методов определения интеллекта у детей, имеющих расстройство аутистического спектра, с учетом их эмоционально-волевых, коммуникативных, сенсорных нарушений.

Ключевые слова: расстройства аутистического спектра, аутизм, интеллект, IQ, Векслер, РАС.

POSSIBILITIES OF USING STANDARD SCALES FOR MEASURING INTELLIGENCE IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDER

A.I. Kosogova, Y.V. Shaposhnikova

Krasnoyarsk Regional Psychoneurological Dispensary, Krasnoyarsk, Russia

Abstract

The article focuses on the current problem of children with autism spectrum disorder. The relevance of the problem determines the need to study autistic disorders by doctors of different specialties due to the growing prevalence of autism worldwide and the difficulties in its differential diagnosis at early stages. This often leads to misconceptions about people with autism, and causes a negative attitude to treatment by a psychiatrist. Taking into account the peculiarities of the clinical picture of autism in children, because of which it is not always possible to make sufficient contact during testing, the problems of determining the IQ level by standardized methods were considered. The examination was conducted on the basis of the Krasnoyarsk regional psychoneurological dispensary No. 1 among children diagnosed with Atypical autism, associated with mental retardation. To assess the level of intelligence the standard Wexler intelligence scales were used (the Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence and its Russian modifications). Special attention was also paid to the need to take into account communication disorders and uneven development of mental, including intellectual functions in children with ASD. Otherwise it would be incorrect to focus only on the digital indicators of the intellectual quotient when diagnosing mental retardation. An additional clinical examination was carried out, according to which some children showed significant positive dynamics in cognitive activity in the future, which was not a characteristic feature of children with mental retardation. Later, the clinical picture in some cases proved that mental retardation could not be confirmed, despite the examination, which revealed results corresponding to the level of intellectual underdevelopment. According to this research, we may conclude that it is necessary to evaluate the full clinical picture of autism disorder in order to make a diagnosis, while the results of psychological testing can serve as an additional method of examination. For a more precise diagnosis, it is possible to develop and use alternative methods of intelligence assessment in children with autism spectrum disorder, taking into account their emotional, volitional, communicative, and sensory disorders. Recently, the problem of autism spectrum disorders has been of particular significance among all mental disorders, in international and domestic child psychiatry. As a result, the term autism, previously used only for one of the main symptoms of schizophrenia has been applied for a separate mental disorder and «the focus of research gradually shifted from schizophrenia to the problem of autism itself».

Key words: autism spectrum disorders, autism, intelligence, IQ, WISC-IV, ASD.

Актуальность

В последнее время проблема расстройств аутистического спектра заняла особое место среди всех психических нарушений в международной и отечественной детской психиатрии. Это привело к тому, что термин «аутизм», ранее применявшийся только как один из основных симптомов шизофрении, стал использоваться в качестве отдельного психического расстройства, и акцент исследований постепенно сместился от шизофрении в сторону проблемы аутизма [1]. На 2018 год, согласно статистическим данным ВОЗ, более 10 000 000 человек в мире имеют аутистические расстройства. Показатели общей заболеваемости детей от 0 до 14 лет, страдающих аутизмом, на территории Российской Федерации достигали 110,9 на 100 000 населения. С 2014 по 2018 год этот показатель увеличился на 107,1 %. На территории Красноярского края показатель общей заболеваемости детей с аутизмом от 0 до 14 лет равен 219,1 на 100 000 населения. «Одновременное наличие другого заболевания у людей с нарушением интеллекта выше в три-четыре раза, чем в среднем по популяции, и РАС входит в список наиболее частых коморбидных состояний для нарушения интеллекта» [2]. При постановке диагноза умственной отсталости у детей, имеющих аутизм, неверно ориентироваться лишь на цифровые показатели коэффициента интеллектуального развития (обычно получаемого при обследовании по методике Векслера). «Результаты по отдельным субтестам могут различаться очень значительно (от нуля до максимума в 20 баллов по шкальным оценкам). Дисперсия оценок по отдельным субтестам у обследуемых с РАС минимум в 2–3 раза выше, чем у детей с умственной отсталостью без аутизма, в связи с этим усредненная величина IQ нередко утрачивает смысл или, по крайней мере, требует большой осторожности в оценке» [3]. В ряде случаев для установления IQ у детей с РАС более применимыми оказываются методы, разработанные для специальных групп испытуемых, например, невербальная методика «Международная шкала продуктивности Leiter», оригинальная версия которой использовалась для обследования глухих людей или людей, не владеющих английским языком» [4].

Цель исследования – проанализировать возможность диагностики уровня интеллекта у детей, имеющих расстройство аутистического спектра, и оценить эффективность применения стандартизированной шкалы Векслера для определения уровня IQ.

Материал и методы

Исследование проведено на базе детского диспансерного отделения КГБУЗ «Красноярский краевой психоневрологический диспансер №1» в течение 2019 года. Обследовано 40 детей (33 мальчика – 82 %; 7 девочек – 18 %) в возрасте от 5 до 8 лет (средний возраст 6,5 лет±0,5), имеющих диагноз «Атипичный аутизм, сочетающийся с умственной отсталостью» (F84.11). Все дети посещали детские дошкольные учреждения и центры реабилитации, дополнительно получали психологическую коррекцию.

Диагностика аутистических расстройств проводилась согласно расширенным критериям Международной классификации болезней 10-го пересмотра. Для определения нарушений интеллекта использовались стандартные шкалы измерения интеллекта Векслера (оригинальный вариант WISC-IV и его отечественные модификации для детей).

Результаты

В ходе клинического обследования из 40 детей, имеющих диагноз «Атипичный аутизм, сочетающийся с умственной отсталостью», у 12 (30 %) детей полностью отсутствовала речь, либо она была представлена единичными эхоповторами. У 5 из них (12,5 %), кроме того, отсутствовал зрительный контакт и реакция на инструкции экспериментаторов. Диагностика интеллекта стандартными методиками Векслера и Равена не представлялась возможной в связи с отсутствием собственной речи и сложностями с пониманием речевых инструкций. Однако в ходе дальнейшего наблюдения один из обследуемых детей выявлял картину, не характерную для детей, имеющих умеренную или тяжелую умственную отсталость. Несмотря на невозможность пройти тестирование для обследования интеллекта, у ребенка были сформированы навыки опрятности, он умел пользоваться гаджетами, мог самостоятельно включать мультфильмы на телефоне, выполнять задания на экране на классификацию предметов, хотя по просьбе экспериментатора эти задания не выполнялись.

У 28 обследуемых (70 %) в ходе тестирования выявлены результаты, соответствующие уровню интеллектуального недоразвития (диапазон IQ составлял 54–66). Начиная посещать детские дошкольные учреждения, дети не шли на контакт с педагогами даже на индивидуальных занятиях, не выполняли многие из предлагаемых заданий, соответствующих их возрасту. В ходе адаптации они начали вовлекаться в занятия со специалистами и стали показывать неравномерные результаты при обследованиях. К концу года при посещении спе-

циализированных групп эти дети смогли показать значительную положительную динамику в познавательной деятельности, что является нехарактерным признаком для детей, имеющих умственную отсталость. При дальнейшем наблюдении 5 из 28 детей (уровень IQ выше 80) смогли овладеть навыками глобального чтения, были способны производить сортировку предметов на уровне со сверстниками, могли полностью обслуживать себя.

Выводы

Таким образом, при постановке диагноза «Атипичный аутизм, сочетающийся с умственной отсталостью» результаты психологического обследования не являются основным критерием, так как они часто оказываются недостаточно достоверными в связи с коммуникативными, эмоционально-волевыми, сенсорными нарушениями у детей, из-за чего не удается установить достаточный контакт в ходе проведения обследования. Такие дети не всегда способны выполнять задания по инструкции экспериментатора и отвечать необходимым требованиям в конкретный момент времени, что заставляет их уходить от общения и еще больше усложняет проведение диагностики. В будущем возможно использование альтернативных методик обследования, например, упомянутой выше «Международной шкалы продуктивности Leiter» после ее адаптации для детей с РАС для более достоверного определения уровня интеллектуального развития. Кроме того, не исключено использование инструментальных методов измерения невербального интеллекта ребенка с аутизмом. Например, определение активности мозга методом ЭЭГ путем фиксирования пиковой активности альфа-волн, отвечающих за процесс познания. Требуются дальнейшие исследования, чтобы понять, может ли измерение пиковой частоты альфа-активности мозга обнаруживать характерные пиковые альфа-частоты, которые позволят количественно определить интеллект и умственную активность ребенка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сухотина Н.К., Башина В.М. Расстройства психологического (психического) развития. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 215 с.
2. Сорокин А.Б. Нарушения интеллекта при расстройствах аутистического спектра. Современная зарубежная психология. 2018; 7(1): 38–44.
3. Морозов С.А., Морозова Т.И., Белявский Б.В. К вопросу об умственной отсталости при расстройствах аутистического спектра. Аутизм и нарушения развития. 2016; 14(1): 9–18. doi:10.17759/autdd.2016140101.
4. Fernandez B.A., Scherer S.W. Syndromic autism spectrum disorders: moving from a clinically defined to a molecularly defined approach [Internet]. URL: [https:// www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5789213/pdf/DialoguesClinNeurosci-19-353.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5789213/pdf/DialoguesClinNeurosci-19-353.pdf) (cited 01.02.2020).

СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЕНОЛАЗЫ И БЕЛКА S-100 У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ЗАВИСИМОСТИ ОТ АЛКОГОЛЯ И ДЕПРЕССИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

Л.А. Левчук

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

Аннотация

В статье представлены результаты исследования концентраций нейрон-специфической енолазы (NSE) и белка S-100 в сыворотке крови пациентов с синдромом зависимости от алкоголя, пациентов с депрессивными расстройствами и пациентов с коморбидным течением этих заболеваний. Содержание NSE и белка S-100 в сыворотке крови больных и психически здоровых людей определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов CanAg NSE EIA производства Fujirebio Diagnostics, Inc. (Швеция) и DY1820-05 Human S100B DuoSet ELISA производства «R&D Systems» (США). Результаты исследования показали, что для всех пациентов характерно повышение содержания NSE на фоне снижения уровня S-100. Однако тенденция к нарушению баланса в секреции NSE и S-100 у пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и депрессивного расстройства усиливается, что, вероятно, свидетельствует о большем дефекте в нейробиологических процессах и нейродегенерации, а также подтверждает данные об утяжелении клинической симптоматики как аддитивных, так и депрессивных расстройств.

Ключевые слова: нейрон-специфическая енолаза, белок S-100, синдром зависимости от алкоголя, депрессивное расстройство.

THE CONTENT OF NEURON-SPECIFIC ENOLASE AND S-100 PROTEIN IN PATIENTS WITH ALCOHOL DEPENDENCE SYNDROME AND DEPRESSIVE DISORDERS

L.A. Levchuk

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

Abstract

The article presents the results of a study of the concentrations of neuron-specific enolase (NSE) and S-100 protein in serum of patients with alcohol dependence syndrome, patients with depressive disorders, and patients with comorbid course of these disorders. Serum NSE and S-100 protein in patients and mentally healthy individuals were determined by enzyme immunoassay using CanAg NSE EIA kits (Fujirebio Diagnostics, Inc., Sweden) and DY1820-05 Human S100B DuoSet ELISA (R&D Systems, USA). The results of the study showed that all patients are characterized by an increased content of NSE and a reduced level of S-100. Patients with a comorbid course of alcohol dependence syndrome and depressive disorder are characterized by a strong imbalance in the secretion of NSE and S-100. This probably indicates a greater defect in neurobiological processes and neurodegeneration, and confirms data on the aggravation of clinical symptoms of both addictive and depressive disorders.

Key words: neuron-specific enolase, S-100 protein, alcohol dependence syndrome, depressive disorder.

Психиатрические расстройства, в том числе аддиктивные и депрессивные, являются важной медико-социальной проблемой, часто встречающейся как в общей популяции населения, так и в общемедицинской практике. Сопряженность этих двух заболеваний относится к числу неблагоприятных факторов, усложняющих процесс диагностики, терапии и медицинской реабилитации таких пациентов, с одной стороны, и негативно влияющих на течение и прогноз каждого из заболеваний, с другой стороны. Современные исследования в области патофизиологии психических расстройств свидетельствуют об участии нейробиологических процессов, включая нейрогенез, дегенерацию нейронов, модуляцию нейровоспалительного ответа в механизмах развития данных расстройств [1]. Трансляционный подход в исследовании белков, имеющих специфические для мозга функции и имеющих отношение к механизмам аддиктивных и психических расстройств, может выявить новые диагностические маркеры или терапевтические мишени для данных расстройств. Нейроспецифические белки в биологических жидкостях (сыворотке крови и ликворе), выполняя одновременно множество интегративных функций, являются маркерами различных патологических состояний нервной системы. Оценка нейроспецифических белков отражает степень повреждения гематоэнцефалического барьера и глубину патологических изменений в нервной системе [2]. Нейрон-специфическая енолаза (NSE) и белок S-100, являясь нейроспецифическими белками, позволяют оценить степень выраженности повреждений нервной ткани, гибели нейронов и повреждений глиальных клеток. Изменение содержания нейроспецифических белков в крови и других биологических жидкостях отмечается при широком спектре патологических состояний (повреждения ЦНС, неврологические нарушения, нейродегенеративные заболевания, нейроинфекции, дегенеративные заболевания нервной системы, психические нарушения и другие) [3]. **Целью** данного исследования была оценка содержания нейроспецифических белков (NSE и белка S-100) у пациентов с синдромом зависимости от алкоголя и депрессивными расстройствами.

Материал и методы

Исследование проведено с соблюдением протокола, утвержденного комитетом по биоэтической этике НИИ психического здоровья Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук и в соответствии с Хельсинкской декларацией.

В исследование включены 63 пациента с синдромом зависимости от алкоголя и депрессивными расстройствами, проходившие лечение в отделениях аддиктивных и аффективных состояний клиник НИИ психического здоровья Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук. Из них 22 пациента с синдромом зависимости от алкоголя (F10.2, МКБ-10), 22 пациента с депрессивными расстройствами

(F32, F33, МКБ-10) и 19 пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и аффективного расстройства: депрессивного эпизода, биполярного аффективного расстройства, рекуррентного депрессивного расстройства или дистимии.

Группу контроля составили 36 психически и соматически здоровых лиц, соответствующих по полу и возрасту обследуемым пациентам, не имеющих хронических заболеваний и не состоящих на диспансерном наблюдении, без признаков перенесенных острых инфекционных заболеваний на момент обследования.

Материалом для исследования явилась сыворотка крови. У всех обследуемых лиц брали кровь из локтевой вены в период с 8.00 до 9.00 натошак до начала терапии в пробирки фирмы BD Vacutainer с активатором свертывания для получения сыворотки.

Определение концентрации нейрон-специфической енолазы (NSE) в сыворотке крови больных и психически здоровых людей осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов CanAg NSE EIA производства Fujirebio Diagnostics, Inc. (Швеция). Содержание маркера повреждения астроглии – белка S-100 в сыворотке крови определяли «Сэндвич-методом» твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов DY1820-05 Human S100B DuoSet ELISA производства «R&D Systems» (США). Постановку реакции проводили согласно прилагаемым к наборам инструкциям. После проведения и остановки ферментативной реакции проводили количественную оценку результатов анализа на анализаторе иммуноферментных реакций УНИ-ПЛАН («Пикон», Россия). Конечные результаты выражали в единицах, рекомендованных фирмами-изготовителями для построения калибровочных графиков из стандартных навесок определяемого вещества (мкг/л для NSE и пг/мл для S100).

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы SPSS, версия 20,0. Проверку на нормальность распределения значений переменных проводили по критерию Колмогорова-Смирнова. Данные выражали в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. Для сравнения групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Содержание нейроспецифических белков у пациентов и психически здоровых людей представлено в табл. 1.

Как видно из таблицы, содержание NSE у пациентов с текущим депрессивным эпизодом на момент поступления в стационар было статистически значимо выше данного показателя группы здоровых лиц (3,8 (3,02–4,7) и 3 (2,52–3,67) мкг/л, $p = 0,004$). У пациентов с синдромом зависимости от алкоголя до начала терапии уровень NSE составил 3,33 (2,63–4,23) мкг/л, что незначительно выше контрольных значений ($p > 0,05$). Содержание NSE у пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и депрессивного расстройства на момент поступления в стационар составило 3,62 (2,86–4,4) мкг/л, что статистически значимо выше данного показателя группы здоровых лиц ($p = 0,05$).

В группе пациентов с текущим депрессивным эпизодом содержание S-100 в сыворотке крови до начала терапии составило 29,96 (27,82–38,23) пг/мл, что незначительно ниже контрольных значений ($p > 0,05$). Показатель сывороточного белка S-100 у пациентов с алкоголизмом на момент поступления в стационар был статистически значимо ниже данного показателя здоровых лиц (29,46 (26,79–32,73) и 32,68 (29,31–35,95) пг/мл, $p = 0,026$). Выявлена тенденция различий в содержании белка S-100 у пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и депрессивного расстройства по сравнению с показателем здоровых лиц ($p = 0,07$).

Таким образом, в нашем исследовании для всех пациентов характерна тенденция к повышению содержания NSE на фоне снижения уровня S-100. Из литературных данных известно, что в низких концентрациях S-100 оказывает нейропротективные свойства, блокируя NMDA-рецепторы и действуя как фактор роста и дифференцировки нейронов и глии, а NSE повышается при повреждении нервной ткани, гибели нейронов и нарушении мембранной функции гематоэнцефалического барьера. Не исключено, что повышение уровня NSE обусловлено вовлечением в патологический процесс центральной и периферической нервной системы, а S-100, как паракринный нейротрофный фактор в ЦНС, влияет на развитие мозга, пролиферацию глиальных клеток и созревание нейронов, содействует выживанию клеток в стрессовых условиях и противодействует эффектам нейротоксинов.

Выводы

Изменения в секреции NSE и S-100 характерны для пациентов с синдромом зависимости от алкоголя и депрессивными расстройствами, что, вероятно, указывает на неспецифическую

нейробиологическую реакцию, медиаторный дисбаланс у всех пациентов. Однако тенденция к нарушению баланса в секреции NSE и S-100 у пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и депрессивного расстройства усиливается, что, вероятно, свидетельствует о большем дефекте в нейробиологических процессах и нейродегенерации, а также подтверждает данные об утяжелении клинической симптоматики как аддитивных, так и депрессивных расстройств.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 19-15-00023 «Клинические особенности и поиск потенциальных биомаркеров коморбидности алкоголизма и аффективных расстройств».

Таблица 1

Содержание нейроспецифических белков у пациентов и психически здоровых людей, Ме (25 %Q–75 %Q)

Показатель	NSE, мкг/л	S-100, пг/мл
Пациенты с текущим депрессивным эпизодом	3,8 (3,02–4,7) *p=0,004	29,96 (27,82–38,23)
Пациенты с синдромом зависимости от алкоголя	3,33 (2,63–4,23)	29,46 (26,79–32,73) *p=0,026
Пациенты с коморбидным течением алкогольной зависимости и аффективного расстройства	3,62 (2,86–4,4) *p=0,05	27,79 (24,98–34,08) *p=0,07
Психически здоровые лица	3 (2,52–3,67)	32,68 (29,31–35,95)

Примечание: * – уровень статистической значимости различий при сравнении показателей пациентов и здоровых лиц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Batalla A., Homberg J.R., Lipina T.V., Sescousse G., Luijten M., Ivanova S.A., Loonen A.J. The role of the habenula in the transition from reward to misery in substance use and mood disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2017; 80: 276–285. doi:10.1016/j.neubiorev.2017.03.019.
2. Vos P.E., Jacobs B., Andriessen T.M., Lamers K.J., Borm G.F., Beems T., Edwards M., Rosmalen C.F., Vissers J.L. GFAP and S100B are biomarkers of traumatic brain injury: an observational cohort study. *Neurology*. 2010 Nov 16; 75(20): 1786–93. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181fd62d2.
3. Иванова С.А., Лосенков И.С., Левчук Л.А., Бойко А.С., Вялова Н.М., Симуткин Г.Г., Бохан Н.А. Депрессивные расстройства: гипотезы патогенеза и потенциальные биологические маркеры. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2018. 199 с.

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ДЛИННОЦЕПОЧЕЧНЫХ АЦИЛКАРНИТИНОВ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

И.А. Меднова¹, П. Чалова²

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Россия²

Аннотация

Ацилкарнитины являются промежуточными субстратами в большинстве метаболических путей, которые, как предполагается, участвуют в развитии шизофрении и ассоциированных с ней метаболических нарушений и биоэнергетических дисфункций. Метаболизм жирных кислот тесно связан с биоэнергетикой, при этом ацилкарнитины играют важную роль в транспортировке длинноцепочечных жирных кислот, изменении чувствительности к инсулину и нейропротекции. Таким образом, оценка содержания ацилкарнитинов может оказаться важной областью для дальнейшего понимания патогенеза шизофрении и ассоциированного с ней метаболического синдрома. **Цель исследования** – охарактеризовать содержание длинноцепочечных ацилкарнитинов при шизофрении, ассоциированной с метаболическим синдромом (МС). **Материал и методы.** Было проведено обследование 278 пациентов с шизофренией (F20 согласно МКБ-10), из которых 104 человека имели диагноз МС (IDF, 2005). Группу контроля составили 64 здоровых лица. Определение содержания длинноцепочечных ацилкарнитинов в сыворотке крови проводилось с использованием коммерческого набора MassChrom® 55000 (Chromsystems, Germany) на тандемном масс-спектрометре Agilent 6410QQQ (Agilent Technologies, США). Статистическую обработку

данных проводили с использованием пакета стандартных прикладных программ SPSS Statistic 23 для Windows. **Результаты.** У пациентов с шизофренией без МС было выявлено статистически значимое снижение C14 ($p = 0,006$), C14-OH ($p = 0,015$) и C18 ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Статистически значимое снижение C14-OH ($p=0,005$) и C18 ($p<0,001$) также зарегистрировано у пациентов с шизофренией, ассоциированной с МС, по сравнению с контролем. Содержание C18:2-OH оказалось значительно выше ($p<0,001$) в группе пациентов с шизофренией с МС по сравнению с пациентами с шизофренией без МС. **Выводы.** В результате проведенных исследований были выявлены нарушения в сывороточном профиле ацилкарнитинов у больных шизофренией. При этом снижение C14, C14-OH и C18 ацилкарнитинов у пациентов с шизофренией не зависит от сопутствующего МС, а уровень C18:2-OH оказался значительно выше при шизофрении, ассоциированной с МС.

Ключевые слова: шизофрения, метаболический синдром, ацилкарнитины, метаболомика, масс-спектрометрия.

EVALUATION OF LONG-CHAIN ACYLCARNITINES IN SCHIZOPHRENIA ASSOCIATED WITH METABOLIC SYNDROME

I.A. Mednova¹, P. Chalova²

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research
Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

Acylcarnitines are intermediate substrates in most metabolic pathways, which are thought to be involved in the development of schizophrenia and its associated metabolic disorders, and bioenergetic dysfunctions. Fatty acid metabolism is closely related to bioenergy, while acyl carnitines play an important role in transporting long-chain fatty acids, changing insulin sensitivity and neuroprotection. Thus, assessment of the acyl carnitine content may be an important area for further understanding the pathogenesis of schizophrenia and its associated metabolic syndrome. **Purpose of the study** to describe the content of long-chain acylcarnitines in schizophrenia associated with metabolic syndrome (MS). **Material and Methods.** A total of 278 patients with schizophrenia (F20 according to ICD-10) were examined, of which 104 people were diagnosed with MS (IDF, 2005). The control group consisted of 64 healthy individuals. Serum long-chain acylcarnitines were determined using a MassChrom® 55000 commercial kit (Chromsystems, Germany) on an Agilent 6410QQQ tandem mass spectrometer (Agilent Technologies, USA). Statistical data processing was performed using the standard application package SPSS Statistic 23 for Windows. **Results.** In patients with schizophrenia without MS, a statistically significant decrease in C14 ($p=0.006$), C14-OH ($p=0.015$) and C18 ($p<0.001$) was revealed compared with the control. A statistically significant decrease in C14-OH ($p=0.005$) and C18 ($p<0.001$) was also recorded in patients with schizophrenia associated with MS compared with the control. The content of C18: 2-OH was significantly higher ($p<0.001$) in the group of patients with schizophrenia with MS compared with patients with schizophrenia without MS. **Conclusions.** The studies revealed abnormalities in the serum profile of long-chain acylcarnitines in patients with schizophrenia. The decrease in C14, C14-OH and C18 acylcarnitines in patients with schizophrenia does not depend on concomitant MS, and the level of C18: 2-OH was significantly higher in schizophrenia associated with MS.

Key words: schizophrenia, metabolic syndrome, acylcarnitines, metabolomics, mass spectrometry.

Актуальность

Шизофрения является гетерогенным тяжелым психическим заболеванием с неустановленной этиологией и патогенезом [1]. Обсуждаются различные патофизиологические механизмы формирования шизофрении: митохондриальная дисфункция, воспаление, окисление липидов, повреждение ДНК, окислительный стресс и апоптоз [2, 3]. Помимо этого, шизофрения часто ассоциирована с метаболическими нарушениями и биоэнергетической дисфункцией, чаще всего клинически проявляющимися в виде метаболического синдрома (МС), ожирения и сахарного диабета 2 типа [4]. Метаболические нарушения, например гиперпролактинемия, дислипидемия, инсулинорезистентность, в основном развиваются при хронической шизофрении на фоне длительного применения антипсихотической терапии [5, 6]. Метаболизм жирных кислот тесно связан с биоэнергетикой, при этом ацилкарнитины играют важную роль в

транспортировке длинноцепочечных жирных кислот через митохондриальную внутреннюю мембрану [7]. Установлено, что ацилкарнитины активируют провоспалительные сигнальные пути, а также изменяют чувствительность к инсулину [8]. Кроме того, ацилкарнитины являются промежуточными субстратами в большинстве метаболических путей, которые, как предполагается, участвуют в развитии шизофрении [9]. Имеются данные об участии ацилкарнитинов в нейропротекции [9]. В доступной литературе представлено крайне мало информации об изменении ацилкарнитинового профиля при шизофрении. В исследовании Cao (2019) et al. описан дисбаланс профиля ацилкарнитинов при шизофрении по сравнению со здоровыми добровольцами [7]. Kriisa et al. продемонстрировали изменение сывороточного состава длинноцепочечных ацилкарнитинов при первом эпизоде заболевания [8].

Таким образом, оценка содержания ацилкарнитинов может оказаться важной областью для дальнейшего понимания патогенеза шизофрении и ассоциированного с ней метаболического синдрома.

Цель исследования – охарактеризовать содержание длинноцепочечных ацилкарнитинов при шизофрении, ассоциированной с метаболическим синдромом.

Материал и методы

Было проведено комплексное обследование 278 пациентов с шизофренией (F20 согласно МКБ-10), из которых 104 человека имели диагноз МС согласно критериям IDF, 2005. Группу контроля составили 64 психически и соматически условно здоровых лица, соответствующих по полу и возрасту. В качестве материала исследования использовалась сыворотка крови. Определение содержания длинноцепочечных ацилкарнитинов (C14, C14-ОН, C14:1, C14:2, C16, C16-ОН, C16:1, C16:1-ОН, C18, C18-ОН, C18:1, C18:1-ОН и C18:2-ОН) проводилось с использованием коммерческого набора MassChrom® 55000 (Chromsystems, Germany) на тандемном масс-спектрометре Agilent 6410QQQ (Agilent Technologies, США) с использованием аналитической колонки EcoNova (EcoNova, Россия). Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета стандартных прикладных программ SPSS Statistic 23 для Windows. Выборки проверяли на нормальность распределения по критерию Шапиро-Уилка. Статистическую значимость различий считали с использованием U-критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

При анализе спектра длинноцепочечных ацилкарнитинов у пациентов с шизофренией без МС было выявлено статистически значимое снижение C14 ($p = 0,006$), C14-ОН ($p = 0,015$) и C18 ($p < 0,001$) по сравнению с данными показателями в контрольной группе (рис. 1). Статистически значимое снижение C14-ОН ($p = 0,005$) и C18 ($p < 0,001$) также зарегистрировано у пациентов с шизофренией, ассоциированной с МС, по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе (рис. 1). Содержание C18:2-ОН оказалось значительно выше ($p < 0,001$) в группе пациентов с шизофренией с МС по сравнению с данным показателем у пациентов с шизофренией без МС (рис. 1).

Выводы

В результате проведенных исследований были выявлены нарушения в сывороточном профиле ацилкарнитинов у больных шизофренией. При этом снижение C14, C14-ОН и C18 ацилкарнитинов у пациентов с шизофренией не зависит от сопутствующего МС, в связи с чем можно предположить, что изменения данных ацилкарнитинов могут играть роль в патогенезе собственно психического заболевания или обусловлены влиянием лекарственной терапии. Наши данные подтверждаются исследованиями Cao et al., которые продемонстрировали снижение содержания длинноцепочечных ацилкарнитинов при шизофрении [7]. В свою очередь, снижение уровня длинноцепочечных ацилкарнитинов после семи месяцев лечения антипсихотическими препаратами было показано в исследовании Kriisa et al. [8]. При этом уровень C18:2-ОН оказался значительно выше при шизофрении, ассоциированной с МС, что может указывать на роль данного ацилкарнитина в формировании метаболических нарушений.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 18-15-00011 «Шизофрения, сочетанная с метаболическим синдромом: клинко-конституциональные факторы и молекулярные маркеры».

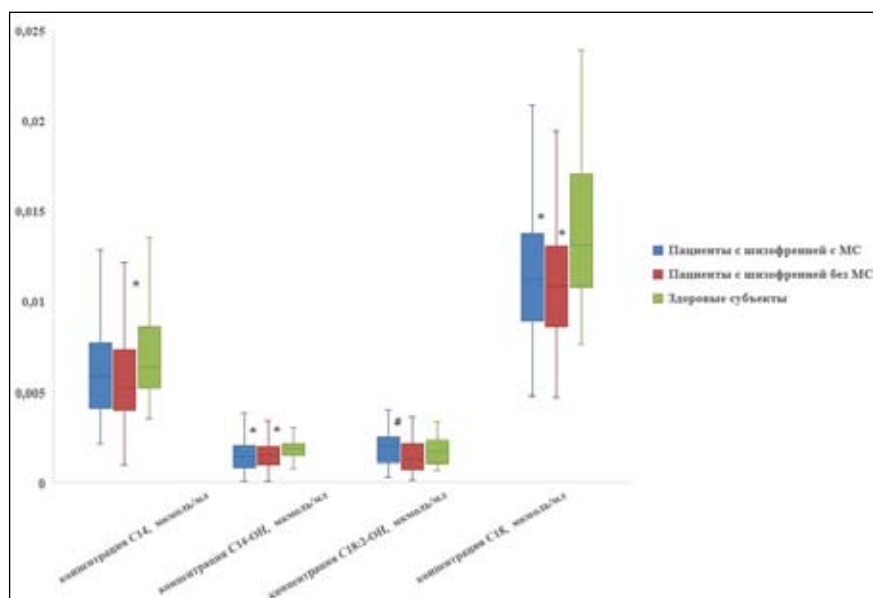


Рис. 1. Статистически значимые изменения содержания длинноцепочечных ацилкарнитинов при шизофрении, ассоциированной с метаболическим синдромом.

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с показателем у здоровых субъектов, # – $p < 0,05$ по сравнению с показателем у пациентов с шизофренией без МС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Saha S., Chant D., Welham J., Mc Grath J. A systematic review of the prevalence of schizophrenia. PLoS Med. 2005 May;2(5):e141. doi: 10.1371/journal.pmed.0020141.
2. Смирнова Л.П., Паришкова Д.А., Ермаков Е.А., Дмитриева Е.М., Бойко А.С., Федоренко О.Ю., Синянский Л.Е. Результаты поиска биомаркеров шизофрении. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2018; 2 (99): 33–44.
3. Sertan Copoglu U., Virit O., Hanifi Kokacya M., Orkmez M., Bulbul F., Binnur Erbagci A., Semiz M., Alpak G., Unal A., Ari M., Savas H.A. Increased oxidative stress and oxidative DNA damage in non-remission schizophrenia patients. Psychiatry Res. 2015 Sep 30; 229(1–2): 200–5. doi: 10.1016/j.psychres.2015.07.036.
4. Mitchell A.J., Vancampfort D., Sweers K., van Winkel R., Yu W., De Hert M. Prevalence of metabolic syndrome and metabolic abnormalities in schizophrenia and related disorders—a systematic review and meta-analysis. Schizophr Bull. 2013 Mar; 39(2): 306–18. doi: 10.1093/schbul/sbr148.
5. Корнетова Е.Г., Дмитриева Е.Г., Тугунцев В.В., Гончарова А.А., Полежаев П.К., Иванова С.А., Семке А.В. Гиперпролактинемия у больных шизофренией, получающих галоперидол и рисперидон: клинико-социальный аспект. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2019; 2: 90–97.
6. Kornetova E.G., Kornetov A.N., Mednova I.A., Dubrovskaya V.V., Boiko A.S., Bokhan N.A., Loonen A.J.M., Ivanova S.A. Changes in Body Fat and Related Biochemical Parameters Associated With Atypical Antipsychotic Drug Treatment in Schizophrenia Patients With or Without Metabolic Syndrome. Front Psychiatry. 2019 Nov 1; 10:803. doi: 10.3389/fpsy.2019.00803.
7. Cao B., Wang D., Pan Z., Brietzke E., McIntyre R.S., Musial N., Mansur R.B., Subramanieapillai M., Zeng J., Huang N., Wang J. Characterizing acyl-carnitine biosignatures for schizophrenia: a longitudinal pre- and post-treatment study. Transl Psychiatry. 2019 Jan 17; 9(1): 19. doi: 10.1038/s41398-018-0353-x.
8. Kriisa K., Leppik L., Balõšev R., Ottas A., Soomets U., Koido K., Volke V., Innos J., Haring L., Vasar E., Zilmer M. Profiling of Acylcarnitines in First Episode Psychosis before and after Antipsychotic Treatment. J Proteome Res. 2017 Oct 6; 16(10): 3558–3566. doi: 10.1021/acs.jproteome.7b00279.
9. Jones L.L., Mc Donald D.A., Borum P.R. Acylcarnitines: role in brain. Progress in lipid research. 2010; 49(1): 61–75.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ КЛИНИКО-ДИНАМИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ БОЛЬНЫХ С ПОСТШИЗОФРЕНИЧЕСКОЙ ДЕПРЕССИЕЙ

Б.О. Мухторов, А.В. Рогов

Ташкентский педиатрический медицинский институт, г. Ташкент, Узбекистан

Аннотация

Для обоснования места постшизофренической депрессии в динамике основного шизофренического заболевания было проведено определение ее психопатологической структуры и клинической сущности. В ходе исследования выявлена диссоциация между незначительной тяжестью собственно депрессивных симптомов и субъективным восприятием больными своего состояния как тягостного, его продолжительностью и устойчивостью к проводимой медикаментозной терапии. Постшизофрени-

ческие депрессии достоверно чаще наблюдались при наличии 1–4 психотических эпизодов в анамнезе и стаже заболевания эпизодической параноидной шизофренией до 10 лет.

Ключевые слова: параноидная шизофрения, постшизофреническая депрессия, когнитивные расстройства, резидуальная шизофрения.

SOME ASPECTS OF A CLINICODYNAMIC PROFILE OF PATIENTS WITH A POST-SCHIZOPHRENIC DEPRESSION

B.O. Muhtorov, A.V. Rogov

Tashkent Pediatric Medical Institute, Tashkent, Uzbekistan

Abstract

For justification of the place of a post-schizophrenic depression in dynamics of the basic schizophrenic disease determination of its psychopathological structure and clinical essence was carried out. During the research dissociation between insignificant weight of actually depressive symptoms and subjective perception by patients of the state as burdensome, its duration and resistance to the carried-out medicamentous therapy is revealed. Post-schizophrenic depressions were observed in the presence of 1–4 psychotic episodes in the anamnesis and an experience of a disease of incidental paranoid schizophrenia till 10 flyings authentically more often.

Key words: paranoid schizophrenia, post-schizophrenic depression, cognitive frustration, cognitive impairment, residual schizophrenia.

Несмотря на колоссальное количество исследований, посвященных проблеме расстройств шизофренического спектра, они не в полной мере отвечают на вопросы, поставленные современной медицинской наукой. Потеря трудоспособности и ранняя длительная инвалидизация этой группы больных выводят проблему шизофрении из чисто медицинской в общегосударственные, затрагивая экономику, социальные и многие другие сферы государственной деятельности. Выраженные аффективные нарушения у больных шизофренией являются одним из камней преткновения для представителей разных специальностей. Данные о распространенности депрессий при шизофрении в обзоре литературы не однозначны, однако большинство исследователей подтверждают факт наличия симптомов депрессии у 7–70 % пациентов [1]. Доказанным является факт высокого процента самоубийств у больных шизофренией [2]. Проблема клинической сущности таких депрессий является одной из наиболее дискуссионных у исследователей. Обозреваемые исследования в этой области представляют несколько точек зрения. Некоторые авторы рассматривают их как часть ядерной патологии шизофрении, имеющую биологическую природу [2–4], представители другой точки зрения утверждают, что симптомы депрессии являются последствием применения нейролептических лекарственных средств.

На фоне вышеупомянутых состояний выделяется постшизофреническая депрессия, характеризующаяся как длительно протекающий депрессивный эпизод на фоне шизофренического процесса [5].

В своих исследованиях О.В. Конева обосновывает существование психологических механизмов в возникновении постшизофренических депрессий, по ее мнению, перенесенный психоз является чрезвычайным жизненным событием [6]. Постшизофренические депрессии достоверно чаще наблюдались при наличии 1–4 психотических эпизодов в анамнезе (97,1 %) и стаже заболевания приступообразной параноидной шизофренией до 10 лет (80,6 %) [7]. Динамика постшизофренических депрессий достоверно чаще характеризовалась рекуррентным течением (79,6 %). Для постшизофренических депрессий характерна атипичная структура синдрома [8]. Различный, не типичный, психопатологический профиль постшизофренической депрессии представляет богатую почву для исследований в этом направлении [9].

Цель исследования – изучить клинико-динамический профиль больных с постшизофренической депрессией.

Материал и методы

В соответствии с поставленными целью и задачами объектом исследования стали 43 пациента Ташкентской городской клинической психиатрической больницы. Критериями от-

бора являлись: возраст от 18 до 60 лет, наличие признаков постшизофренической депрессии (F20.4 МКБ-10). Средний возраст обследованных лиц составил во всей выборке $36,1 \pm 1,0$ года, в том числе среди женщин – $37,5 \pm 1,2$ года, среди мужчин – $32,9 \pm 1,8$ года. Максимальное количество случаев заболевания выявлялось среди возрастных групп 30–39 лет и 40–49 лет. Исследование проводилось клинико-психопатологическим и клинико-катамнестическим методами. Для стандартизированной оценки состояний постшизофренической депрессии, их структуры использовались психометрические методы анализа: шкала для оценки депрессий Гамильтона (HAMD) – клиническое пособие для количественной оценки состояния пациентов с депрессивными расстройствами до, во время и после лечения (наблюдения клинической динамики – 21 признак) и подраздел шкалы позитивных и негативных симптомов PANSS, наиболее популярной и получившей международное признание при клиническом изучении действия нейролептиков и других методов лечения шизофрении, содержащий 7 признаков негативных расстройств.

Результаты

Выявленные в ходе проведенного исследования общие для постшизофренической депрессии психопатологические особенности, отличающие эти состояния от «классических» депрессий (в МКБ-10 данный термин отсутствует), проявлялись в разной степени различных депрессивных расстройствах. Эти особенности затрудняли квалификацию постшизофренической депрессии с помощью традиционно выделяемых типов депрессий. Специфика собственно депрессивных симптомов постшизофренической депрессии выражалась, прежде всего, в их стертости, незавершенности или, напротив, в их гипертрофии или окрашенности их свойствами других расстройств. Для постшизофренической депрессии характерной являлась стертость тимического компонента, признаков витальности и суточного ритма, преобладание апатии, безразличия и дисфорического настроения. Из проявлений депрессивной триады с наибольшим постоянством в картине постшизофренической депрессии встречались моторные нарушения, которые характеризовались либо адинамической, либо астенической окрашенностью. Проявления идеаторных нарушений колебались от снижения интеллектуальной продуктивности, концентрации внимания до отчетливых расстройств мышления с элементами деперсонализации. Такие симптомы, как ангедония, анергии, эмоциональная безучастность, социальная отгороженность, безволие, нарушения мышления, в одних случаях по своей природе являлись производными депрессии, и их правомерно было рассматривать как «вторичные» негативные расстройства [10], другие имели скорее первичный (дефицитарный) характер и были обусловлены основным заболеванием – шизофренией. В структуре постшизофренической депрессии имело место сочетание симптомов депрессии с обусловленными шизофреническим заболеванием остаточными психотическими и разной степени выраженности негативными (дефицитарными) расстройствами [11]. Обращала на себя внимание диссоциация между незначительной тяжестью собственно депрессивных симптомов (по показателям шкалы HAMD) и субъективным восприятием больными своего состояния как тягостного, его продолжительностью и устойчивостью к проводимой медикаментозной терапии.

Средний возраст манифестации приступообразной параноидной шизофрении в обследованной выборке в целом составил $30,5 \pm 1,0$ года; несколько раньше заболевание манифестировало у мужчин ($26,5 \pm 1,7$ года), чем у женщин ($32,2 \pm 1,2$ года). Изучение клинических характеристик манифестного периода заболевания в данной группе показало, что наиболее часто в клинической картине заболевания выявлялся галлюцинаторно-параноидный синдром (75,5 %), для которого характерными оказались наличие бредовых идей физического и психического воздействия, психические автоматизмы, слуховые и зрительные псевдогаллюцинации. В других случаях в клинической картине манифестного приступа встречались депрессивно-бредовый синдром – в 15,5 % наблюдений, бредовый – в 6,8 %, полиморфный – в 1,0 % случаев.

Изучение типологии депрессивного синдрома позволило выявить 6 вариантов, среди которых достоверно преобладал апатический (50,5 %, $p < 0,001$); далее в порядке убывания частоты встречались следующие варианты: тревожный (19,4 %), простая депрессия (11,7 %), астенический (8,7 %), адинамический (6,8 %) и дисфорический (2,9 %). Средний балл по шкале депрессии Гамильтона составил: у женщин – $18,1 \pm 0,9$ балла, у мужчин – $17,8 \pm 2,9$ балла. Достоверно чаще (68,9 %, $p < 0,001$) выявленная симптоматика соответствовала умеренной депрессии; тяжелой – в 27,2 % случаев, легкой – в 3,9 %.

Изучение клинической картины постшизофренической депрессии показало, что проявления «классической» депрессии для нее были малохарактерными: достоверно чаще (77,7 %, $p < 0,001$) встречались депрессивные симптомы, не соответствующие критериям «классической» депрессии.

$p < 0,001$) выявлялись атипичные синдромы. Стертость собственно гипотимического компонента депрессии (38,8 %) проявлялась слабой представленностью витальных расстройств, бедностью эмоциональных проявлений, отсутствием внешней напряженности, скорбной мимики, что не соответствовало актуальности внутренних переживаний подавленности, отчаяния и отражало несоответствие внутреннего (когнитивного) и внешнего (поведенческого) аспектов депрессивного синдрома.

Стертость только ассоциативного компонента триады проявлялась в 3,9 % случаев и выражалась в отсутствии идеаторной заторможенности. Невыраженность только моторного компонента депрессивной триады выявлена в 3,9 % случаев; она проявлялась отсутствием депрессивной выразительности в движениях, мимике, позе. Невыраженность одновременно двух или трех компонентов депрессивной триады была зафиксирована в 31,1 % случаев. В структуре депрессивного синдрома факультативная симптоматика депрессии присутствовала в 74,8 % наблюдений ($p < 0,001$) в виде резидуальных бредовых переживаний (14,6 %), галлюцинаторных симптомов (7,8 %), ипохондрических и психопатоподобных (по 4,9 %), обсессивно-фобических и деперсонализационных (по 3,9 %) и сочетания симптомов разных регистров (35,0 %). Постпроцессуальная симптоматика, регистрируемая при помощи шкалы PANSS, была представлена в выборке следующим образом: общий уровень позитивных симптомов «ниже среднего значения»; негативные симптомы достигали уровня «среднего значения», общие симптомы оказались «незначительно выше среднего значения». Кластер депрессии ($p < 0,01$) находился на уровне «выше среднего значения».

Проведенное изучение соотношения количественных и качественных признаков в заданных сферах выявило преобладание симптомов «искажения» в эмоциональной (42,7 %) и ассоциативной (47,6 %) сферах; в волевой сфере превалировали симптомы «выпадения» (58,3 %).

При изучении соотношения постшизофренических депрессий с этапом шизофренического процесса выявлено следующее распределение: в анамнезе 1 психотический приступ – 61,2 % ($p < 0,01$), 2 приступа – 14,6 %, 3 приступа – 13,0 %, 4 приступа – 7,8 %, 5 приступов – 1,0 %, 7 приступов – 1,0 %, 10 приступов – 1,0 %.

При изучении соотношения давности заболевания с развитием постшизофренической депрессии было выявлено, что достоверно чаще постшизофреническая депрессия (80,6 %, $p < 0,001$) была диагностирована в первом десятилетии эпизодической параноидной шизофрении. Средняя продолжительность с момента манифестации до возникновения симптомов постшизофренической депрессии составила $5,6 \pm 1,0$ года. В 33,0 % случаев признаки постшизофренической депрессии уже имели место в анамнезе.

Рассмотрение динамических характеристик постшизофренической депрессии показало, что средняя продолжительность всех впервые выявленных постшизофренических депрессий составила $9,9 \pm 1,4$ недели, достоверно чаще (53,4 %, $p < 0,05$) они развивались как самостоятельный аффективный приступ; постпсихотическая депрессия была зафиксирована в 37,9 % наблюдений. В большинстве случаев (79,6 %, $p < 0,01$) постшизофреническая депрессия протекала рекуррентно; при этом достоверно чаще наблюдалась динамика «по типу клише» (52,4 %, $p < 0,01$). Рецидивирование депрессивной симптоматики происходило как под влиянием психогенных и соматогенных вредностей, так и автохтонно.

Выводы

Постшизофренические депрессии достоверно чаще наблюдались при наличии 1–4 психотических эпизодов в анамнезе (97,1 %) и стаже заболевания эпизодической параноидной шизофренией до 10 лет (80,6 %). Клиническая картина постшизофренических депрессий достоверно чаще (68,9 %, $p < 0,001$) соответствовала умеренной тяжести расстройства; тяжелые депрессии отмечены в 27,2 %, легкие депрессии – в 3,9 %. Средняя продолжительность впервые выявленного депрессивного эпизода составила $9,9 \pm 1,4$ недели. В 79,6 % случаев ($p < 0,01$) постшизофреническая депрессия протекала рекуррентно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Addington J., Van Mastrigt S., Addington D. Duration of untreated psychosis: impact on 2-year outcome. *Psychol Med.* 2004 Feb; 34(2): 277–84. doi: 10.1017/s0033291703001156.
2. Цупрун В.Е. Суицидальное поведение и шизофрения: биопсихосоциальный подход в диагностике, лечении и профилактике. *Суицидология.* 2013; 3(12): 3–11.
3. Абдуллаева В.К. Структура психопатологических расстройств у больных при постшизофренической депрессии. *Theoretical & Applied Science.* 2018; 3: 134–137.
4. Антохин Е.Ю., Будза В.Г., Крюкова Е.М., Паляева Р.И. Постприступная депрессия при первом эпизоде шизофрении: исследование перфекционизма. *Социальная и клиническая психиатрия.* 2017; 3(38): 46.
5. Fenton W.S. Depression, suicide and suicide prevention in schizophrenia. *Suicide Life Threat Behav.* 2000 Spring; 30(1): 34–49.

6. Конева О.В. Постшизофреническая депрессия: клинические, адаптационные и реабилитационные аспекты: дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2009. 210 с.
7. Melle L., Johannesen J.O., Friis S., Haahr U., Joa I., Larsen T.K., Opjordsmoen S., Rund B.R., Simonsen E., Vaglum P., McGlashan T. Early detection of the first episode of schizophrenia and suicidal behavior. *Am J Psychiatry*. 2006 May; 163(5): 800–4. doi: 10.1176/ajp.2006.163.5.800.
8. Бабарахимова С.Б., Искандарова Ж.М. Особенности поведенческих нарушений у подростков с депрессивными расстройствами. Сборники конференций НИЦ Социосфера. 2013; 53: 18–21.
9. Ирмухамедов Т.Б., Абдуллаева В.К., Хамраев М.М. Психопатологическая дифференциация тревожно-фобических расстройств невротического уровня: Материалы Российской научной конференции с международным участием, 9 июня 2017 г., г. Ростов-на-Дону. Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2017. 134–138.
10. Рогов А.В. Когнитивные расстройства у больных с параноидной шизофренией, коморбидной с вирусными гепатитами. Антология российской психотерапии и психологии. 2019; 158–158.
11. Matete M.A., Pretorius P.J., Rataemane S.T. Depressive symptoms in schizophrenia. *The Medicine Journal*. 2001; 28.

РОЛЬ ГЕНОВ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ В РАЗВИТИИ ЛЕКАРСТВЕННО-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ

Д.З. Падерина^{1,2}, В.В. Тигунцев¹, А.С. Бойко¹

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

Терапия антипсихотическими препаратами зачастую связана с гиперпролактинемией, которая может протекать бессимптомно или иметь широкий спектр побочных эффектов. Лекарственно-индуцированная гиперпролактинемия имеет не только краткосрочные, но и долгосрочные последствия, которые могут серьезно повлиять на качество жизни пациента. В развитии данного побочного эффекта антипсихотической терапии участвуют не только экзогенные, но и генетические факторы. Настоящее исследование направлено на выяснение роли аллельных вариантов генов дофаминергической (*DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *DRD4*) и серотонинергической (*HTR1A*, *HTR1B*, *HTR2A*, *HTR2C*) систем в патогенезе антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии. Обследовано 446 пациентов с шизофренией, проживающих в Западно-Сибирском регионе России. Среди больных были выделены подгруппы пациентов с гиперпролактинемией ($n=227$) и с нормальным уровнем пролактина ($n=219$). Были обнаружены статистически значимые результаты для следующих аллельных вариантов: rs936461 (*DRD1*), rs134655 (*DRD2*), rs6298 и rs6296 (*HTR1B*), rs569959 и rs12858300 (*HTR2C*).

Ключевые слова: фармакогенетика, гены, полиморфные варианты, рецепторы, серотонин, дофамин, побочные эффекты, гиперпролактинемия, шизофрения.

THE ROLE OF GENES OF NEUROTRANSMITTER SYSTEMS IN THE DEVELOPMENT OF DRUG-INDUCED HYPERPROLACTINEMIA

D.Z. Paderina^{1,2}, V.V. Tiguntsev¹, A.S. Boiko¹

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

Antipsychotic therapy is often associated with hyperprolactinemia, which may be asymptomatic or have a wide range of side effects. Drug-induced hyperprolactinemia has not only short-term, but also long-term consequences, which can seriously affect the patient's quality of life. Not only exogenous, but also genetic factors are involved in the development of this side effect of antipsychotic therapy. The present study is aimed at studying allelic variants of genes the dopaminergic (*DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *DRD4*) and serotonergic (*HTR1A*, *HTR1B*, *HTR2A*, *HTR2C*) systems in the pathogenesis of antipsychotic-induced hyperprolactinemia. Were examined 446 patients with schizophrenia living in the West Siberian region of Russia. Patients were

divided into subgroups: with hyperprolactinemia ($n=227$) and with normal prolactin levels ($n=219$). Statistically significant results were found for the following allelic variants: rs936461 (*DRD1*), rs134655 (*DRD2*), rs6298 and rs6296 (*HTR1B*), rs569959 and rs12858300 (*HTR2C*).

Key words: pharmacogenetics, genes, polymorphic variants, receptors, serotonin, dopamine, side effects, hyperprolactinemia, schizophrenia.

Актуальность

Гиперпролактинемия является многофакторным нейроэндокринным побочным эффектом нейролептиков. Вероятность развития гиперпролактинемии зависит от фармакологических свойств антипсихотика, его дозы, схемы и длительности приема, а также индивидуальной чувствительности и генетических особенностей пациента [1,2].

Применение антипсихотиков вызывает развитие гиперпролактинемии у 40–80 % пациентов с шизофренией, длительно получающих антипсихотическую терапию. Клинические проявления гиперпролактинемии включают гинекомастию, галакторею, нарушения менструального цикла, сексуальные дисфункции, бесплодие, а также значимый рост вероятности развития остеопороза и онкологических заболеваний [3–5].

Антипсихотики вызывают гиперпролактинемия благодаря антагонизму к дофаминовому D2-рецептору. Дофамин оказывает ингибирующее действие на секрецию пролактина; таким образом, дофаминергическое торможение увеличивает высвобождение пролактина в тубероинфундибулярном тракте гипоталамуса [6]. Серотонинергическая система, в свою очередь, оказывает модулирующее влияние на дофаминергические структуры. Серотонин угнетает высвобождение дофамина, тогда как блокада постсинаптических серотониновых рецепторов ведет к увеличению его содержания. Подобный механизм взаимодействия серотонина и дофамина в тубероинфундибулярной области приводит к уменьшению выраженности явлений гиперпролактинемии [7].

Выявление ассоциаций полиморфных вариантов генов нейромедиаторных систем с развитием побочных эффектов лекарственных средств позволит разработать оптимальную стратегию лечения с учетом индивидуальной чувствительности и генетических особенностей пациента, что отвечает концепции персонализированной медицины. Это позволит в дальнейшем формировать новые методы диагностики и лечения на основе генетических маркеров [8]. В связи с вышеизложенным **целью данного исследования** явилось выяснение роли полиморфных вариантов генов нейромедиаторных систем в патогенезе развития лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией.

Материал и методы

Материалом для исследования послужили образцы ДНК 446 больных шизофренией русской этнической принадлежности, проживающих в Западно-Сибирском регионе России. Формирование групп пациентов для исследования и клиническая верификация диагнозов выполнены на базе отделения эндогенных расстройств НИИ психического здоровья (руководитель отделения – д-р мед. наук, профессор А.В. Семке), ОГБУЗ «Томская клиническая психиатрическая больница» (главный врач – С.М. Андреев) и ГКУЗ КО «Кемеровская областная клиническая психиатрическая больница» (главный врач – канд. мед. наук В.А. Сорокина). Исследование проводилось согласно этическим принципам ведения исследований человека в соответствии с протоколом, утвержденным локальным этическим комитетом НИИ психического здоровья.

В качестве материала для исследования была использована венозная кровь. Венозную кровь брали из локтевой вены в период с 8.00 до 9.00 натошак в пробирки фирмы BD Vacutainer с антикоагулянтом ЭДТА. Полученную кровь использовали для выделения ДНК стандартным фенол-хлороформным методом. Концентрацию пролактина определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов PRLTestSystem [MonobindInc., США]. Границы нормальных значений содержания гормона пролактина в крови: для мужчин – до 20 нг/мл, для женщин – до 25 нг/мл.

Генотипирование по изучаемым генам *DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *DRD4*, *HTR1A*, *HTR1B*, *HTR2A* и *HTR2C* проводилось в учреждении геномного анализа, лаборатории генетики университета Гронингена, с использованием The MassARRAY® System by Agena Bioscience™, набором SEQUENOM Consumables iPLEX Gold 384, а также на базе лаборатории молекулярной генетики и биохимии НИИ психического здоровья (руководитель лаборатории – д-р мед. наук, профессор С.А. Иванова) методом цифровой полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПЦР в реальном времени на амплификаторах StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Ap-

plied Biosystems, США) и QuantStudio™ 3D Digital PCR System Life Technologies (Applied Biosystems) с использованием наборов TaqMan Validated SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, США).

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы SPSS 23.0. Распределение частот генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Сравнение частот генотипов и аллелей в исследуемых группах проводили по критерию χ^2 . Оценка риска осуществлялась с помощью показателя отношения шансов (oddsratio, OR) с 95 % доверительным интервалом (95 % CI). Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

На основании показателей содержания гормона пролактина в сыворотке крови все пациенты с шизофренией были разделены на две группы: с гиперпролактинемией и с нормальной концентрацией пролактина. Согласно этому критерию у 227 пациентов (основная группа) была диагностирована гиперпролактинемия и у 219 (группа сравнения) не была диагностирована. Распространенность гиперпролактинемии в исследуемой выборке составила 50,9 %. Демографическая и клиническая характеристика обследованных пациентов представлена в табл. 1.

Из табл. 1 следует, что повышенным риском развития гиперпролактинемии является принадлежность к женскому полу ($p=0,006$), молодой возраст ($p=0,030$) и высокие дозы антипсихотиков ($p=0,005$).

Статистически значимые результаты были получены для полиморфного варианта rs936461 гена *DRD1* по аллелям ($\chi^2=4,43$; $p=0,035$). Аллель А статистически значимо чаще встречается в группе больных с повышенным пролактином и ассоциирован с повышенным риском развития гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии (OR = 1,36; 95 % CI: 1,02–1,81). Частота аллеля G выше в группе пациентов с нормальным уровнем пролактина, что может свидетельствовать о его протективном эффекте в отношении развития гиперпролактинемии (OR = 0,74; 95 % CI: 0,55–0,98). Выявлена статистически значимая ассоциация полиморфного варианта rs134655 гена *DRD2* по аллелям ($\chi^2=4,66$; $p=0,039$) в группе пациентов, принимающих рисперидон. Аллель С является предрасполагающим к развитию гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии (OR 2,37; 95 % CI: 1,07 – 5,23). Аллель G обладает протективным эффектом (OR 0,42; 95 % CI: 0,19–0,93).

Статистически значимые различия были выявлены для аллельных вариантов rs6298, rs6296 гена *HTR1B* в группе пациентов, принимающих рисперидон. Аллель С полиморфного варианта rs6298 статистически значимо чаще встречается в группе больных с гиперпролактинемией ($\chi^2=4,49$; $p=0,030$) (OR 2,36; 95 % CI: 1,05–5,29) и является предрасполагающим к развитию лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии. Аллель Т, напротив, обладает протективным эффектом (OR 0,42; 95 % CI: 0,19–0,95). Для полиморфного варианта rs6296 выявлены статистически значимые ассоциации как для генотипов ($\chi^2=6,45$; $p=0,040$), так и для аллелей ($\chi^2=5,52$; $p=0,020$). Аллель С (OR 0,38; 95 % CI: 0,17–0,87) и генотип CC (OR 0,16; 95 % CI: 0,03–0,81) варианта rs6296 обладают протективными свойствами в отношении развития гиперпролактинемии. Аллель G преобладает в группе пациентов с повышенным пролактином по сравнению с группой сравнения (OR 2,62; 95 % CI: 1,15–5,95).

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* в группе женщин была показана статистически значимая ассоциация с развитием гиперпролактинемии для генотипов ($\chi^2=7,88$; $p=0,005$) и аллелей ($\chi^2=7,60$; $p=0,005$). Частота аллеля G (OR 0,08; 95 % CI: 0,01–0,64) и генотипа GG (OR 0,08; 95 % CI: 0,01–0,61) выше в группе женщин без гиперпролактинемии, что говорит об их протективных свойствах. Аллель С (OR 11,89; 95 % CI: 1,56–90,80) и гетерозиготный генотип GC (OR 12,61; 95 % CI: 1,64–97,23) обладают предрасполагающим эффектом. В группе мужчин с шизофренией выявлена статистически значимая ассоциация полиморфного варианта rs569959 ($\chi^2=4,96$; $p=0,026$) с повышенным уровнем пролактина на фоне антипсихотической терапии. В группе мужчин с гиперпролактинемией преобладает аллель G (OR 2,05; 95 % CI: 1,13–3,73), в группе сравнения выше частота аллеля А (OR 0,49; 95 % CI: 0,27–0,89).

Выводы

В нашем исследовании были выявлены статистически значимые ассоциации как для генов дофаминовых рецепторов, которые являются основной мишенью антипсихотических

лекарств, так и для генов серотониновых рецепторов, имеющих стимулирующую роль в секреции пролактина. Дальнейший поиск генетических маркеров позволит оптимизировать генотип-специфический подход к оценке риска развития побочных эффектов фармакотерапии и разработать подходы к персонализированной терапии этих заболеваний.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-29-06035 «Новые подходы к фармакогенетике антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией».

Таблица 1

Демографические и клинические признаки исследованных больных шизофренией с гиперпролактинемией (ГП) и с нормальным уровнем пролактина

Признак		Больные без ГП, n=219	Больные с ГП, n=227	p
Пол	женщины	96 (56,2 %)	129 (56,8 %)	0,006
	мужчины	123 (43,8 %)	98 (43,2 %)	
Возраст		42,9±13,6	40,2±13,2	0,030
Длительность заболевания		14,0 (8,0; 22,0)	11,0 (4,0; 22,0)	0,036
Доза антипсихотика в хлорпромазиновом эквиваленте		370,5 (200,0; 675,0)	500,0 (253,0; 750,0)	0,005
Концентрация пролактина, нг/мл		12,9 (8,1; 16,8)	49,6 (32,6; 76,3)	0,000

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов М.В., Чомский А.Н. Фармакогенетические аспекты нейрорепетической терапии психических расстройств. Обзор психиатрии и медицинской психологии. 2012; 4: 40–43.
2. Иванова С.А., Османова Д.З., Бойко А.С., Пожидаев И.В., Федоренко О.Ю., Вялова Н.М., Полтавская Е.Г., Тигунцев В.В., Фрейдин М.Б., Корнетова Е.Г., Семке А.В. Антипсихотик-индуцированная гиперпролактинемия: фармакогенетические аспекты. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2018; 2: 21–27.
3. O'Keane V. Antipsychotic-induced hyperprolactinaemia, hypogonadism and osteoporosis in the treatment of schizophrenia. Journal of Psychopharmacology. 2008; 22(2): 70–75.
4. Корнетова Е.Г., Тигунцев В.В., Корнетов А.Н., Гончарова А.А., Лобачева О.А., Давыдов А.А., Хардикина С.А., Иванова С.А., Семке А.В. Половые различия в клинических особенностях антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией. Бюллетень сибирской медицины. 2019; 18(3): 62–71.
5. Горобец Л.Н. Теоретические и практические аспекты психонейроэндокринологии. М.: 2012. 212 с.
6. Tewksbury A., Olander A. Management of antipsychotic-induced hyperprolactinemia. Ment Health Clin. 2016; 6(4): 185–190.
7. Clemens J.A., Smalting E.B., Sawyer B.D. Antipsychotic drugs stimulate prolactin release Psychopharmacologia. 1974; 40(2): 123–127.
8. Иванова С.А., Федоренко О.Ю., Смирнова Л.П., Семке А.В. Поиск биомаркеров и разработка фармакогенетических подходов к персонализированной терапии больных шизофренией. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2013; 1(76): 12–16.

СЫВОРОТОЧНЫЕ АНТИТЕЛА К ОСНОВНОМУ БЕЛКУ МИЕЛИНА ПРИ ШИЗОФРЕНИИ: ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА С УЧЕТОМ КЛИНИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Д.А. Паршукова¹, А.А. Гончарова¹, Д.В. Казанцева², А.Р. Васильева²

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия²

Аннотация

Природные антитела представлены широким спектром циркулирующих иммуноглобулинов, наделенных разнообразными функциями, представления о которых значительно расширились за последние десятилетия. Антитела участвуют в клиренсе продуктов деградации эндогенных молекул, регуляции воспалительного ответа, влияя на процессы пролиферации и дифференцировки и обладают каталитическими свойствами. Работа посвящена изучению связи активности IgG, гидролизующих основной белок миелина, с уровнем антител к основному белку миелина у больных шизофренией. Проведено изучение уровня удельной активности гидролиза основного белка миелина, катализируемого сывороточными IgG у пациентов с шизофренией в зависимости от клинических особенностей и типа течения

заболевания (группа пациентов с параноидной формой шизофрении была разделена на подгруппы по типу течения заболевания: непрерывный, эпизодический с нарастающим дефектом, эпизодический со стабильным дефектом). С помощью строгих критериев доказано, что эта каталитическая активность относится к сывороточному пулу IgG пациентов с шизофренией. Установлено, что протеолитическая активность антител у пациентов с шизофренией (1,026 [0,205; 3,372], мг ОБМ/мг IgG /1ч) достоверно превышает удельную активность антител у здоровых лиц (0,000 [0,00; 0,367], мг ОБМ/ мг IgG/ 1ч). При сравнении уровней активности у пациентов с различными типами течения параноидной шизофрении было выявлено, что пациенты с непрерывным типом течения имеют максимальные значения активности. ОБМ-гидролизующая активность антител у больных шизофренией сочетается с повышенным содержанием сывороточных IgG к ОБМ. У пациентов обнаружено двукратное увеличение уровня АТ к ОБМ. Между изучаемыми показателями была выявлена достоверная положительная корреляция средней силы ($r=0.48$; $p=0.026$). Также изучено содержание разных подклассов IgG на основе структуры тяжелой цепи у пациентов с шизофренией методом иммуоферментного анализа, однако не было выявлено зависимости содержания IgG от типа течения шизофрении в соответствии с нашими данными.

Ключевые слова: шизофрения, антитела, абзимы, каталитическая активность, основной белок миелина.

SERUM ANTIBODIES TO THE MYELIN BASIC PROTEIN IN SCHIZOPHRENIA: PROTEOLYTIC PROPERTIES DEPENDING ON THE CLINICAL FEATURES OF THE DISEASE

D.A. Parshukova¹, A.A. Goncharova¹, D.V. Kazantseva², A.R. Vasileva²

Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,
MentalHealth Research Institute, Tomsk, Russia¹
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

Abstract

This work is devoted to the study of the association of MBP-hydrolyzing IgG activity with the level of antibodies to MBP in patients with schizophrenia. Hydrolysis of myelin basic protein (MBP) by IgG in patients with schizophrenia was studied depending on the clinical features and course of disease in individual patients. Participants with schizophrenia ($n=79$) and healthy controls ($n=17$) were included in analysis of MBP hydrolysis. The patients were grouped according to type of schizophrenia and type of disease course. Several strict criteria have been applied to prove that studied catalytic activity belongs to the serum IgG of schizophrenic patients. We have found that IgG isolated and purified from sera of schizophrenia patients' blood hydrolyses human MBP, and the level of this hydrolysis significantly exceeds that of healthy individuals. The antibodies-specific proteolytic activity of patients with acute schizophrenia (1.026 [0.205; 3.372] mg MBP/mg IgG/1 h) significantly exceeds the activity of IgG in healthy individuals (0.000 [0.00; 0.367] mg MBP/mg IgG/1 h). When comparing the specific activity in patients with different types of disease course, we have found that patients with a continuous course of paranoid schizophrenia had maximal activity values. In the group of patients, a high level of specific proteolytic activity of antibodies and a twofold increase in the level of antibodies to MBP were found. A significant positive correlation ($r=0.48$; $p=0.026$) was found between the studied parameters. According to our data, distribution of IgG1-IgG4 subclasses in patients with schizophrenia does not depend on the type of schizophrenia course. Thus the IgG preparations that are capable not only of binding but also of hydrolyzing myelin basic protein were identified in schizophrenia. These catalytic antibodies can probably play an important role in SCZ pathogenesis.

Key words: 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. Многолетние показатели высокого уровня инвалидизации данных пациентов демонстрируют необходимость определения внешних и внутренних факторов в клинко-динамические показатели заболевания и прогностических критериев эффективности лечебно-диагностических мероприятий [1,2]. У больных шизофренией обнаружено повреждение гематоэнцефалического барьера наряду с сенсibilизацией к нейрогенным антигенам, в том числе появление антител к основному белку миелина (ОБМ), которые способны не только связывать антиген, но и гидролизовать его [3,4]. Ранее нами было показано, что титры аутоантител против ОБМ у

пациентов с шизофренией в 1,8 раза выше, чем у здоровых людей, но в 5,0 раз ниже, чем у пациентов с рассеянным склерозом [5]. Исследование гидролиза основного белка миелина при шизофрении позволяет выявить биохимические особенности этих реакций и приблизит нас к пониманию патогенетических механизмов шизофрении. Изучение активности IgG-протеаз при шизофрении в связи с нарушением миелинизации и с клиническими особенностями заболевания, в доступном для использования в диагностических целях биоматериале – сыворотке крови, могут послужить дополнением к имеющимся критериям дифференциальной диагностики и мониторинга тяжести психических расстройств.

Материал и методы

В исследование было включено 32 пациента с шизофренией в возрасте от 21,9 до 50 лет (мужчины 52 % и женщины 48 %) с диагнозом параноидная шизофрения, клинически верифицированным согласно МКБ-10 на базе отделения эндогенных расстройств НИИ психического здоровья ТНИМЦ. Для оценки позитивной, негативной и общей психопатологической симптоматики использовалась стандартная международная психометрическая шкала PANSS. Продолжительность болезни составляла от 5 до 17 лет. В качестве группы контроля были обследованы 14 психически и соматически здоровых лиц. Поликлональные препараты IgG выделены методом аффинной хроматографией 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, определялась методом электрофореза в полиакриламидном геле. Активность протеолиза оценивалась по убыли субстрата (ОБМ) после инкубации с препаратами IgG и выражалась в удельных единицах мг ОБМ/мг IgG/ч. Анализ уровня АТ к ОБМ проводился в очищенных препаратах IgG методом твердофазного ИФА. Относительное содержание анти-ОБМ АТ было выражено в единицах оптического поглощения окрашенного продукта реакции при длине волны 450 нм (ед. А450; среднее значение двух измерений). Содержание IgG разных подклассов проводилось аналогично методом ИФА, в качестве антигена использовались АТ к человеческим IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 в 0,1 М Na₂CO₃, pH 9,6.

Результаты

Скрининг содержания сывороточных АТ к ОБМ показал, что уровень АТ к ОБМ у пациентов с шизофренией ($0,08 \pm 0,039$ ед. А450) в 2 раза превышал уровень АТ у здоровых лиц ($0,04 \pm 0,017$ ед. А450) и эти отличия обладали высокой статистической значимостью ($p = 0,0014$). Также для всех пациентов, включенных в исследование, был проведен скрининг протеолитической активности IgG к ОБМ. Удельная протеолитическая активность IgG пациентов варьировала с медианой значений $1,026 [0,205; 3,372]$ мг ОБМ/мг IgG/ч. В то время как для здоровых лиц эта активность была минимальной $0,00 [0,00; 0,37]$ мг ОБМ/мг IgG/ч.

При анализе уровня АТ в подгруппах с учетом преобладающей клинической симптоматики шизофрении были выявлены достоверные отличия между группой контроля, группой пациентов с ведущей позитивной симптоматикой ($p = 0,0002$) и группой с ведущей негативной симптоматикой ($p = 0,015$). Пациенты с ведущей негативной симптоматикой продемонстрировали более высокие значения содержания АТ к ОБМ – $0,083$ ед. А450, чем пациенты с ведущей позитивной симптоматикой – $0,074$ ед. А450, но отличия не были достоверными. В то время как максимальная протеолитическая активность обнаруживалась в подгруппе пациентов с ведущей негативной симптоматикой $1,04 [0,40; 2,52]$ мг ОБМ/мг IgG/ч и достоверно превышала уровень активности в группе пациентов с ведущей позитивной симптоматикой или группе контроля.

При анализе протеолитических свойств IgG и уровня АТ к ОБМ в группах пациентов с разным типом течения параноидной шизофрении было показано, что подгруппа пациентов с непрерывным типом течения шизофрении обладает достоверно наиболее высокими значениями удельной активности, в то же время характеризуется наибольшим уровнем АТ к ОБМ. При анализе корреляционной связи протеолитической активности антител, способных к гидролизу ОБМ, и уровня содержания IgG к ОБМ в сыворотке пациентов с шизофренией была выявлена достоверная положительная корреляция средней силы ($r = 0,48$; $p = 0,026$).

Содержание разных подклассов IgG у пациентов, а также в контрольной группе уменьшается в следующем ряду: IgG1 > IgG2 > IgG3 > IgG4. Однако не было обнаружено статистически значимого различия в содержании подкласса IgG для пациентов с шизофренией по сравнению со здоровыми лицами.

Пациенты с параноидной шизофренией с различным течением заболевания продемонстрировали высокую изменчивость в содержании подклассов IgG1–IgG4. Хотя антитела

пациентов с эпизодическим типом течения с нарастающим дефектом имели преобладание в подклассе IgG2 и более высокие значения IgG1 и IgG2 по сравнению с контролем, отсутствие статистической значимости позволяет заключить, что между здоровыми лицами и пациентами с шизофренией не обнаружено достоверных различий в концентрациях подклассов IgG1–IgG4.

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. Семке А.В., Федоренко О.Ю., Лобачева О.А., Рахмазова Л.Д., Корнетова Е.Г., Смирнова Л.П., Микилев Ф.Ф., Щигорева Ю.Г. Клинические, эпидемиологические и биологические предпосылки адаптации больных шизофренией как основа персонализированного подхода к антипсихотической терапии. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2015; 3(88): 19–25.
2. Марусин А.В., Корнетов А.Н., Сваровская М.Г., Вагайцева К.В., Павленок Е.С., Степанов В.А. Ассоциация генов подверженности к алкоголизму, шизофрении и болезни Альцгеймера с психодиагностическими признаками в популяции русских. Бюллетень сибирской медицины. 2016; 15(5): 83–96. doi: 10.20538/1682-0363-2016-5-83-96.
3. Бойко А.С., Бохан Н.А., Бунева В.Н., Ветлугина Т.П., Зозуля С.А., Иванова С.А., Ключник Т.П., Корнетова Е.Г., Лосенков И.С., Олейник И.В., Семке А.В., Смирнова Л.П., Узбекиев М.Г., Федоренко О.Ю. Биологические маркеры шизофрении: поиск и клиническое применение. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2017. 148 с.
4. Лобачева О.А., Ветлугина Т.П., Семке А.В. Иммунологические критерии прогноза эффективности антипсихотической терапии больных шизофренией. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2013; 1(76): 66–70.
5. Parshukova D., Smirnova L., Buneva V., Semke A., Ivanova S. Proteolytic hydrolysis of myelin basic protein by iggs during long-term treatment of schizophrenia. European Neuropsychopharmacology. 2015; 25: S272.

АПРОБАЦИЯ КОМПЛЕКСНЫХ ПРОГРАММ ТЕРАПИИ ПРОБЛЕМНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНТЕРНЕТА У ПАЦИЕНТОВ С РАССТРОЙСТВАМИ ЛИЧНОСТИ

А.А. Петров

АНО Иркутский научно-практический центр медицинской и социальной реабилитации населения, г. Иркутск, Россия

Аннотация

На сегодняшний день проблемное использование интернета становится предметом озабоченности многих исследователей во всем мире. Чрезмерное применение мировой сети негативно влияет на различные стороны социального функционирования пользователей и часто сопровождается личностными расстройствами. Целью настоящего исследования стала разработка и апробация комплексных программ терапии проблемного использования интернета у пациентов с расстройствами личности. Для этого из контингента пациентов АНО ИНПЦ МСРН были отобраны 43 человека мужского пола с личностными расстройствами, имеющие жалобы на чрезмерное использование интернета. Были выделены 3 группы пациентов в соответствии с 3 верифицированными клиническими типами проблемного использования мировой сети: интернет-аддикцией, использованием интернета в качестве копинг-стратегии при декомпенсациях и реакциях личностного расстройства, развитием личности по типу «цифровой аутизации». Основой психотерапевтического блока при всех 3 типах проблемного использования интернета послужило сочетание мотивационного интервью с когнитивно-поведенческой терапией личностных расстройств и интернет-аддикцией. Содержание психофармакологического блока варьировало в зависимости от клинического типа проблемного использования интернета и было представлено такими классами психотропных препаратов, как нормотимики, антидепрессанты и нейрорепаранты – корректоры поведения. Достоверное повышение значений шкалы GAF у пациентов всех 3 групп демонстрировало улучшение социального функционирования, что в конечном итоге свидетельствовало об эффективности предложенных лечебных программ.

Ключевые слова: проблемное использование интернета, расстройство личности, терапия, интернет-аддикция, копинг-стратегия, цифровая аутизация, апробация.

APPROBATION OF COMPLEX PROGRAMS OF THERAPY OF PROBLEM INTERNET USE IN PATIENTS WITH PERSONALITY DISORDERS

A.A. Petrov

ANO Irkutsk scientific and practical center of medical and social rehabilitation of the population,
Russian Federation, Irkutsk, Russia

Abstract

Today, problematic Internet use is becoming a matter of concern to many researchers around the world. Overuse of the global network negatively affects various aspects of the social functioning of users and often accompanies personality disorders. The aim of this study was to develop and test comprehensive treatment programs for problematic use of the Internet in patients with personality disorders. For this, 43 males with personality disorders who complained of excessive use of the Internet were selected from the contingent of patients of the ANO Irkutsk scientific and practical center of medical and social rehabilitation of the population. 3 groups of patients were identified in accordance with 3 verified clinical types of problematic use of the global network: Internet addiction, using the Internet as a coping strategy for decompensations and reactions of personality disorder, personality development by the type of "digital autization". The combination of motivational interviews with cognitive-behavioral therapy of personality disorders and Internet addiction served as the basis for the psychotherapeutic block for all 3 types of problematic use of the Internet. The content of the psychopharmacological block varied depending on the clinical type of problem use of the Internet and was represented by such classes of psychotropic drugs as normotics, antidepressants and antipsychotics – behavior correctors. A significant increase in the GAF score in patients of all 3 groups demonstrated an improvement in social functioning, which ultimately testified to the effectiveness of the proposed treatment programs.

Key words: problematic internet use, personality disorder, therapy, Internet addiction, coping strategy, digital autism, approbation.

Актуальность

Проблемное использование интернета (ПИИ) характеризуется чрезмерным пребыванием в мировой сети, приводящим к нарушениям в различных областях социального функционирования [1]. Особое клиническое и социальное значение занимает проблема коморбидности ПИИ и расстройств личности (РЛ) ввиду высокой частоты распространенности последних (10,6 %) [2]. В рамках исследований зарубежных авторов показатель коморбидности ПИИ и РЛ оценивается от 10,3 до 42,0 % [3,4]. Несмотря на это в настоящее время не разработаны программы комплексной терапии ПИИ у пациентов с РЛ.

Целью исследования стала разработка и апробация комплексных программ терапии проблемного использования интернета у пациентов с расстройствами личности.

Материал и методы

Исследовательскую выборку составили 43 пациента мужского пола (средний возраст $19,6 \pm 1,8$ лет) с верифицированным диагнозом РЛ. Все пациенты обратились за психотерапевтической помощью в АНО ИНПЦ МСРН в связи с чрезмерным использованием интернета. Диагностика РЛ осуществлялась на основании соответствующих критериев МКБ – 10 и DSM – 5, а также дополнительным применением диагностического теста личностных расстройств В.П. Дворщенко. Среди обследуемых пациентов РЛ были распределены следующим образом: в 19 случаях (44,2 %) отмечалось шизоидное РЛ, в 10 случаях (23,3 %) – инфантильное РЛ, в 8 случаях (18,6 %) – избегающее РЛ и в 6 случаях (14,0 %) эмоционально неустойчивое РЛ импульсивного типа. Верификация интернет-адикции осуществлялась посредством клинко-психопатологического анализа с применением универсальных диагностических критериев для аддикций, предложенных М. Griffiths (1996): «сверхценность», «изменение настроения», «рост толерантности», «симптомы отмены», «конфликт с окружающим и самим собой», «рецидив», а также вспомогательным использованием шкалы интернет-адикции Чена (CIAS). Для оценки эффективности проводимой терапии осуществлялось клиническое наблюдение с использованием шкалы социального функционирования GAF. Первичная обработка полученных данных производилась с использованием описательной статистики. Для сравнения психометрических различий значений шкал GAF и CIAS в изучаемых выборках

до и после терапии использовался U-критерий Манна-Уитни. Статистический анализ производился в программе STATISTICA v. 10.

Результаты

В рамках клинико-психопатологического метода среди обследуемых пациентов были определены 3 клинических варианта ПИИ: 1) интернет-аддикция (ИА) (n=18); 2) использование интернета в качестве копинг-стратегии при декомпенсациях и реакциях РЛ (n=12); 3) специфическое развитие личности по типу «цифровой аутизации» (n=13). В случае ИА чрезмерное использование интернета ассоциировалось с полноценным аддиктивным симптомо-комплексом. При копинг-стратегии мировая сеть использовалась чрезмерно исключительно на период аффективных нарушений в рамках актуальных психопатических декомпенсаций и реакций. В случае развития личности по типу «цифровой аутизации» наблюдалась глубокая деформация когнитивно-аффективно-поведенческого мотивационного вектора с формированием жизненного стиля, ведущего к социальной изоляции и близкого по своему содержанию к японскому феномену «Хикикомори» [5]. Группу пациентов с ИА (группу №1) составили 7 человек (38,9 %) с РЛ кластера А, 3 человека (16,7 %) с РЛ кластера В и 8 человек (44,5 %) с РЛ кластера С. Группу пациентов, использующих интернет в качестве копинг-стратегии при декомпенсациях и реакциях РЛ (группу №2), составили 5 человек (41,7 %) с РЛ кластера А и 7 человек (58,4 %) с РЛ кластера С. Группу пациентов с развитием личности по типу «цифровой аутизации» (группу №3) составили 8 человек (61,5 %) с РЛ кластера А, 2 человека (15,4 %) с РЛ кластера В и 3 человека (23,1 %) с РЛ кластера С. С учетом приведенной клинической систематики ПИИ у пациентов с РЛ были разработаны комплексные программы лечения, включающие психотерапевтические и психофармакологические блоки. Базис психотерапевтического блока при всех 3 вариантах ПИИ составили мотивационное интервью (МИ), когнитивно-бихевиоральная терапия расстройств личности (КБТ РЛ) и когнитивно-бихевиоральная терапия интернет-аддикции (КБТ ИА) [6]. Первоначально с помощью МИ на протяжении 3–4 сессий создавался необходимый уровень мотивации для реализации соответствующих когнитивных и поведенческих изменений. Объем применяемой в последующем КБТ ИА определялся клиническим вариантом ПИИ. В группе №1 КБТ ИА использовалась в полноформатном варианте, подразумевающим 3 последовательные части. Поведенческая часть (5 сессий) была направлена на анализ распределения времени между деятельностью в сети и другими формами поведения с последующим перераспределением времени в пользу его уменьшения при использовании интернета. Когнитивная часть была нацелена на работу с отрицанием ИА (6 сессий). Третьим этапом стала «Терапия снижения вреда» («Harm Reduction Therapy»), подразумевающая решение других проблем, способствующих формированию зависимости (18 сессий). Чаще всего последними были затруднение коммуникации вплоть до социофобии, нарушенные внутрисемейные отношения и профессиональное/академическое снижение. При применении КБТ ИА в группе №2 наибольший акцент был сфокусирован на совместном с пациентом анализе механизмов развития интернет-копинга (6 сессий). После исследовательской части при активном участии пациента разрабатывались новые адаптивные стратегии совладания со стрессом (в среднем 17 сессий). Так, в случае избегающего РЛ пациенты обучались навыкам когнитивной реструктуризации и аутогенной тренировки, снижающим характерную для них тревожную симптоматику. Пациенты с шизоидным РЛ изучали программу тренинга коммуникации, способствующую развитию навыка общения в различных жизненных ситуациях. Пациенты с истерическим РЛ обучались методикам планирования деятельности. Как и в случае группы №1, психотерапия пациентов группы №3 подразумевала полноформатное использование КБТ ИА. В рамках когнитивной части определялся спектр дисфункциональных убеждений, способствующих избеганию реального мира (6 сессий). Данные убеждения базировались на негативном опыте социального функционирования. Основной целью когнитивной реструктуризации в этих случаях стало создание системы адаптивных убеждений, позволяющих воспринимать реальную социальную среду благоприятной для учебной, профессиональной и творческой самореализации. «Терапия снижения вреда» (20 сессий) для данной группы пациентов была направлена на анализ жизненных ситуаций, приведших к психологической травматизации. Выбор препаратов психофармакотерапевтического блока осуществлялся с учетом клинического анализа актуальных психопатологических расстройств. В группе №1 с целью снижения компульсивного компонента ИА во всех случаях (n=18) применялся вальпроат натрия до 500 мг/сут. Для редукции экстрапунитивных реакций синдрома отмены назначался перициазин до 5 мг/сут. (n=13). При неудовлетворительной переносимости препарата пациенты принимали тиоридазин до 75 мг/сут (n=5). В группе №2 для уменьшения

выраженности эксплозивного компонента психопатических реакций назначался перициазин до 8 мг/сут. ($n=4$) и тиоридазин до 75 мг/сут. ($n=2$). Тералиджен до 15 мг/сут. назначался при тревожном и тревожно-фобическом типах реакций ($n=11$), флувоксамин до 150 мг/сут. при дистимических реакциях с тревожным радикалом ($n=10$), сертралин до 150 мг/сут. при аффективных нарушениях с апатическим компонентом. В группе №3 для редукции аутистической поглощенности цифровой средой использовался флюанксол до 10 мг/сут., для коррекций психопатических реакций применялись перициазин до 4 мг/сут. и тиоридазин до 30 мг/сут. Фиксированная общая продолжительность комплексной терапии составила 6 месяцев. Полностью курс терапии завершили только 32 человека (74,4 %), при этом наибольшие сложности реализации терапевтических программ обуславливали общеизвестная ригидность когнитивных схем личностных расстройств и преобладающая типичная аддиктивная анозогнозическая позиция при ИА. С учетом выбывших из исследования пациентов отмечалось достоверно значимое ($U_{\text{Эмп}} = 0$; $U_{\text{кр.}} = 25$, $p \leq 0,01$) снижение показателя шкалы CIAS в группе №1 до (среднее значение $76,8 \pm 9,8$ баллов) и после (среднее значение $35,5 \pm 6,2$ баллов) терапии. Во всех 3 группах наблюдалось статистически значимое улучшение социального функционирования. В группе №1 среднее значение шкалы GAF до и после лечения составило $48,1 \pm 7,1$ и $67,3 \pm 4,1$ баллов соответственно ($U_{\text{Эмп}} = 0,5$; $U_{\text{кр.}} = 25$, $p \leq 0,01$), в группе №2 $54,6 \pm 11,6$ и $73,5 \pm 3,4$ баллов соответственно ($U_{\text{Эмп}} = 0,5$; $U_{\text{кр.}} = 19$, $p \leq 0,01$), в группе №3 $43,1 \pm 8,0$ и $48,4 \pm 9,7$ баллов соответственно ($U_{\text{Эмп}} = 3,5$; $U_{\text{кр.}} = 25$, $p \leq 0,01$). Улучшение социального функционирования отмечалось и в рамках общей конечной выборки – $48,4 \pm 9,7$ баллов до терапии и $69,2 \pm 6,2$ балла после терапии ($U_{\text{Эмп}} = 70,5$, $U_{\text{кр.}} = 338$, $p \leq 0,01$).

Выводы

Предложенные программы терапии ПИИ, сочетаемого с РЛ, способны эффективно улучшать социальное функционирование соответствующего контингента пациентов. Видится перспективным внедрение данных программ в практическую деятельность клинических психологов и психотерапевтов. Последнее в конечном итоге позволит значительно уменьшить социальные и экономические потери.

ЛИТЕРАТУРА

1. Anderson E.L., Steen E., Stavropoulos V. Internet use and Problematic Internet Use: a systematic review of longitudinal research trends in adolescence and emergent adulthood. *International Journal of Adolescence and Youth*. 2017; 22(4): 430–454.
2. Lenzenweger M.F. Epidemiology of personality disorders. *Psychiatric Clinics of North America*. 2008; 31(3): 395–403.
3. Floros G., Siomos K., Stogiannidou A., Giouzevas I., Garyfallos G. Comorbidity of psychiatric disorders with Internet addiction in a clinical sample: the effect of personality, defense style and psychopathology. *Addict Behav.* 2014 Dec; 39(12): 1839–45. doi: 10.1016/j.addbeh.2014.07.031.
4. Möller K.W., Beutel M.E., Wulfing K. A contribution to the clinical characterization of Internet addiction in a sample of treatment seekers: Validity of assessment, severity of psychopathology and type of co-morbidity. *Comprehensive Psychiatry*. 2014; 55(4): 770–777.
5. Suwa M., Suzuki K. The phenomenon of “hikikomori” (social withdrawal) and the socio-cultural situation in Japan today. *Journal of Psychopathology*. 2013; 19: 191–198.
6. Young K.S. CBT-IA: The first treatment model for internet addiction. *Journal of Cognitive Psychotherapy*. 2011; 25(4): 304–312.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ТАРДИВНОЙ ДИСКИНЕЗИИ У ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ

И.В. Пожидаев, А.С. Бойко

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

Аннотация

Шизофрения является одной из наиболее актуальных проблем современной клинической психиатрии, поскольку характеризуется не только сочетанием позитивной и негативной симптоматики, а также и мультифакторной природой. Нейролептики являются основной группой антипсихотических средств в лечении шизофрении. Помимо основного терапевтического действия, они вызывают ряд побочных эффектов, которые отрицательно сказываются на эффективности терапии. Было установлено, что до 32 % пациентов с шизофренией, получающих антипсихотики первого поколения, осложняются таким двигательным побочным эффектом, как тардивная дискинезия. Тардивная дискинезия – это

серьезный и потенциально необратимый побочный эффект длительного воздействия антипсихотиков, характеризующийся непроизвольными движениями туловища, конечностей и орофациальных мышц. Исследовалась гипотеза, что полиморфные варианты генов глутаматных рецепторов играют роль в формировании tardive dyskinesia у пациентов с шизофренией. Выборка составила 449 человек, из которых у 121 пациента была диагностирована tardive dyskinesia. ДНК выделяли из периферической крови фенол-хлороформным методом. Генотипировали полиморфные варианты глутаматергических рецепторов GRIK4, GRIN2A с помощью real-time ПЦР, обработку и статистический анализ проводили в R 3.6.2. В результате анализа нами не было получено статистически значимых результатов, что не позволило подтвердить гипотезу о вовлеченности глутаматных рецепторов в патогенез tardive dyskinesia.

Ключевые слова: шизофрения, глутамат, рецепторы, tardive dyskinesia, полиморфизм, ген.

INVESTIGATION OF THE ROLE OF GLUTAMATE RECEPTORS IN THE PATHOGENESIS OF TARDIVE DYSKINESIA IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

I.V. Pozhidaev, A.S. Boiko

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

Abstract

Schizophrenia is one of the most up to date problems of modern clinical psychiatry, as it is characterized not only by a combination of positive and negative symptoms, but also by its multifactorial nature. Antipsychotics are the main group of antipsychotics for the treatment of schizophrenia. In addition to the main therapeutic effect, they cause a number of side effects that can affect on the effectiveness of therapy. It was discovered that up to 32% of patients with schizophrenia receiving first-generation antipsychotics are complicated by a motor side effect such as tardive dyskinesia. Tardive dyskinesia is a serious and potentially irreversible side effect of prolonged exposure to antipsychotics, characterized by involuntary movements of the trunk, limbs and orofacial muscles. There are many risk factors, and the main ones are the use of antipsychotics of the first and second generations. We investigated the hypothesis that polymorphic variants of glutamate receptor genes contribute to the formation of tardive dyskinesia in patients with schizophrenia. The sample was 449 people. DNA was isolated from peripheral blood by the phenol-chloroform method. Genotyping was carried out using real-time PCR, processing and statistical analysis was performed in R 3.6.2. As a result of the analysis, we did not get statistically significant results, which did not let us to confirm the hypothesis about the involvement of glutamate receptors in the pathogenesis of tardive dyskinesia.

Key words: schizophrenia, glutamate, receptors, tardive dyskinesia, polymorphism, gene.

Актуальность

Шизофрения характеризуется как тяжелое психическое заболевание, зачастую приводящее к инвалидизации [1]. Основным методом терапии шизофрении являются антипсихотические препараты, которые могут вызывать достаточно широкий спектр нежелательных побочных эффектов. Одним из таких эффектов является tardive dyskinesia [2, 3]. Она относится к классу экстрапирамидных двигательных расстройств и характеризуется непроизвольными движениями, что существенно снижает качество жизни пациентов. Основные исследования в области фармакогенетики tardive dyskinesia связаны с исследованием полиморфизмов генов систем и рецепторов, которые потенциально могут быть вовлечены в патогенез tardive dyskinesia [4, 5, 6]. Существуют немногочисленные работы, в которых были изучены полиморфные варианты генов глутаматных рецепторов у больных шизофренией с tardive dyskinesia [7, 8]. В связи с этим исследование новых фармакогенетических маркеров является важной и актуальной задачей. **Цель исследования** – определение роли полиморфных вариантов генов глутаматных рецепторов GRIK4, GRIN2A в патогенезе tardive dyskinesia у пациентов с шизофренией.

Материал и методы

Было проведено клиническое и молекулярно-генетическое исследование 449 больных с верифицированным диагнозом шизофрения согласно МКБ-10 (F20), длительно получающих антипсихотические препараты. Исследование проводилось с соблюдением принципов

Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, разработанных для экспериментов с участием человека. У всех обследуемых было получено информированное добровольное согласие на участие в исследовании. В исследование включены лица от 18 до 65 лет, средний возраст составил $39,2 \pm 12,1$ года. Возраст начала заболевания у большинства обследованных находится в интервале 21–40 лет.

Для оценки выраженности ТД проведено обследование пациентов по шкале патологических непроизвольных движений (Abnormal Involuntary Movement Scale – AIMS). Признаки гиперкинезов в ней сгруппированы по их локализации в частях тела (движения в области лица и рта, в конечностях, туловище). Шкала включает 12 пунктов, из которых 7 показателей являются основными и применяются для диагностики. Каждый пункт оценивается следующими баллами: 0 – отсутствие нарушений; 1 – минимальные нарушения; 2 – слабо выраженные нарушения; 3 – умеренно выраженные нарушения; 4 – сильно выраженные нарушения. Диагноз дискинезии ставится на основании международного критерия Schooler и Kane (1982). Согласно данному критерию для постановки диагноза необходимо наличие у пациента минимум 3 баллов по одному из пунктов или хотя бы по 2 балла как минимум по 2 различным пунктам.

У всех пациентов был произведен забор крови натощак в пробирки с ЭДТА. Впоследствии была выделена ДНК с помощью фенол-хлороформного метода. Определение аллельных вариантов генов глутаматергических рецепторов GRIK4, GRIN2A (rs1954787, rs2650427 и rs1969060) проводили методом ПЦР в режиме реального времени (Real-time PCR) с использованием набора реагентов TaqMan® SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, USA) согласно инструкции производителя. Результаты реакции детектировались при помощи флуоресцентных Taq-man зондов, комплементарных полиморфному участку ДНК. Амплификацию осуществляли с помощью прибора QuantStudio 5 (Applied Biosystems, USA). Первичный анализ результатов осуществляли с помощью программного обеспечения QuantStudio™ Design & Analysis Software и TaqMan Genotyper Software. Статистический анализ выполнен с помощью программной среды R 3.6.2 с использованием базовых функций и дополнительного пакета SN Passoc.

Результаты

Все результаты, полученные в ходе генотипирования, были проверены на соответствие распределению по закону Харди-Вайнберга в качестве первичной проверки. Использовался критерий хи-квадрат для оценки возможных ассоциаций полиморфных вариантов с тардивной дискинезией у пациентов с шизофренией.

Основываясь на результатах, полученных по шкалам AIMS, все пациенты были разделены на две группы: 121 пациент с тардивной дискинезией (27 %) и 328 больных без двигательных расстройств (73 %).

Как следует из результатов проведенного ассоциативного анализа, представленных в таблице, нами не было выявлено статистически значимых ассоциаций в отношении как генотипов, так и аллелей, что не позволяет подтвердить нашу гипотезу относительно вовлеченности данных полиморфных вариантов генов глутаматных рецепторов в патогенез тардивной дискинезии у пациентов с шизофренией.

Выводы

В результате проведенного анализа не было выявлено статистически значимых данных относительно ассоциаций полиморфных вариантов генов глутаматных рецепторов с тардивной дискинезией у пациентов с шизофренией.

Таблица

Распределение генотипов и аллелей полиморфизмов генов глутаматных рецепторов у больных шизофренией с тардивной дискинезией и без двигательных расстройств

Ген	Полиморфизм	Генотип/ Аллель	Пациенты без ТД, %	Пациенты с ТД, %	χ^2	p-value
GRIK4	rs1954787	CC	94 (28.7 %)	40 (33,1 %)	1.867	0.393
		CT	167 (51.1 %)	53 (43,8 %)		
		TT	66 (20.2 %)	28 (23,1 %)		
		C	355 (54.3 %)	133 (55,0 %)	0.030	0.860
		T	299 (45.7 %)	109 (45,0 %)		

Окончание таблицы

GRIN2A	rs2650427	CC	30 (30 %)	21 (35,6 %)	1.185	0.553
		CT	53 (53 %)	26 (44,1 %)		
		TT	17 (17 %)	12 (20,3 %)		
		C	113 (56,5 %)	68 (57,6 %)		
	rs1969060	T	87 (43,5 %)	50 (42,4 %)	0.040	0.840
		AA	55 (57,9 %)	32 (60,4 %)		
		AG	36 (37,9 %)	20 (37,7 %)		
		GG	4 (4,2 %)	1 (1,9 %)		
		A	146 (76,8 %)	84 (79,2 %)		
		G	44 (23,3 %)	22 (20,8 %)		

ЛИТЕРАТУРА

1. Gaebel W., Zielasek J. Schizophrenia in 2020: Trends in diagnosis and therapy. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2015 Nov; 69(11): 661–73. doi: 10.1111/pcn.12322.
2. Loonen A.J., Ivanova S.A. New insights into the mechanism of drug-induced dyskinesia. *CNS Spectr.* 2013 Feb; 18(1): 15–20. doi: 10.1017/s1092852912000752.
3. Morgenstern H., Glazer W.M. Identifying risk factors for tardive dyskinesia among long-term outpatients maintained with neuroleptic medications. Results of the Yale Tardive Dyskinesia Study. *Arch Gen Psychiatry.* 1993 Sep; 50(9): 723–33. doi: 10.1001/archpsyc.1993.01820210057007.
4. Иванова С.А., Федоренко О.Ю., Бохан Н.А., Лунен А. Фармакогенетика тардивной дискинезии. Томск: Изд-во «Новые печатные технологии», 2015. 120 с.
5. Lanning R.K., Zai C.C., Müller D.J. Pharmacogenetics of tardive dyskinesia: an updated review of the literature. *Pharmacogenomics.* 2016; 17(12): 1339–1351.
5. Loonen A.J.M., Wilffert B., Ivanova S.A. Putative role of pharmacogenetics to elucidate the mechanism of tardive dyskinesia in schizophrenia. *Pharmacogenomics.* 2019; 20(17): 1199–1223.
6. Ivanova S.A., Loonen A.J., Pechlivanoglou P., Freidin M.B., Al Hadithy A.F., Rudikov E.V., Zhukova I.A., Govorin N.V., Sorokina V.A., Fedorenko O.Y., Alifirova V.M., Semke A.V., Brouwers J.R., Wilffert B. NMDA receptor genotypes associated with the vulnerability to develop dyskinesia. *Transl Psychiatry.* 2012 Jan 10; 2(1): 67. doi: 10.1038/tp.2011.66.
7. Бойко А.С., Пожидаев И.В., Черевко Н.А., Иванова С.А. Полиморфизмы гена NMDA-рецептора у больных шизофренией с тардивной дискинезией. *Фундаментальные исследования.* 2015; 1: 231–234.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОБРАЗНЫХ КРЕАТИВНЫХ ЗАДАЧ В КАЧЕСТВЕ КОГНИТИВНОГО ТРЕНИНГА В ПОЖИЛОМ ВОЗРАСТЕ

Е.Ю. Приводнова, Е.А. Меркулова, В.Б. Билик

Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины,
г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Известно, что когнитивный тренинг улучшает когнитивные функции в пожилом возрасте, однако отмечается проблема невысокого переноса позитивного тренировочного эффекта с экспериментальных задач на более широкий круг когнитивного функционирования и повседневную жизнь. Творческое мышление включает в себя множество процессов и может иметь более широкий эффект переноса тренировочного эффекта. Согласованно с этим предположением вовлечение в креативные виды деятельности оказывает нейропротекторный эффект в пожилом возрасте. Однако механизмы этого эффекта до конца не изучены. Цель этого исследования – получить предварительные результаты относительно влияния тренировки дивергентного мышления на базовую активность мозга. Многоканальная ЭЭГ была зарегистрирована у 29 людей пожилого возраста (64±6 лет) до, во время и после когнитивной тренировки, состоящей из решения 30 вербальных и 30 образных задач. Плотность источников тока (ПИТ) и последующие сравнения с помощью статистического непараметрического картирования были проведены в программе sLORETA. В посттестовом интервале выявлено увеличение ПИТ по сравнению с предтестовым интервалом в парietoально-окципитальных областях (области интереса, ОИ), в которых также было выявлено значимое увеличение ПИТ во время решения образной задачи. Сила пост/предтестовых изменений в дельта-, тета-, альфа3-, бета2-, гамма-ритмах положительно коррелировала с силой образных/пред-тестовых изменений в пределах ОИ. Отрицательная корреляция между ПИТ образных/предтестовых изменений в пределах ОИ и беглостью свидетельствует, что увеличение в низкочастотных ритмах может быть связано с напряжением и усилиями, вызванными решением задачи. Основываясь на положительной связи между образными/предтестовыми изменениями в пределах ОИ и оригинальностью, можно предположить, что увеличение ПИТ в альфа3-ритме после креативной тренировочной сессии носит позитивный характер.

Ключевые слова: тренинг, креативность, альфа, старение, ЭЭГ.

TESTING THE POSSIBILITY TO USE FIGURAL CREATIVE TASKS AS COGNITIVE TRAINING IN OLD AGE

E.Yu. Privodnova, E.A. Merculova, V.B. Bilik

Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russia

Abstract

Cognitive training improves cognitive function in older age, but there is a problem of a low transfer of a positive training effects from experimental tasks to a wider range of cognitive functioning and everyday life. Creative thinking involves many processes, and may has a wider transferring of training effect. In line with this assumption, engagement in creative activities has a neuroprotective effect in aged adults. However, the mechanisms of this effect are not understood. The purpose of this study is to obtain preliminary results regarding the impact of divergent thinking training on basic brain activity. Multichannel EEG was recorded in 29 elderly people (64 ± 6 years) before, during and after a cognitive training consisting of 30 verbal and 30 figural tasks. The current sources density (CSD) and subsequent comparisons using statistical nonparametric mapping were carried out in the sLORETA program. In the post-test interval, an increase of CSD was detected compared to the pre-test interval in the parietal-occipital areas (areas of interest, OI), in which a significant increase of CSD was also revealed during the solution of the figurative problem. The strength of post/pre-test changes in delta, theta, alpha3, beta2, gamma rhythms positively correlated with the strength of figural/pre-test changes within the OI. A negative correlation between the CSD of figural/pre-test changes within the OI and figural fluency indicates that the increase in low-frequency rhythms may be associated with stress and effort caused by problem solving. Based on the positive relationship between figural/pre-test changes within the OI and originality, we suggest that the increase of CSD after creativity training session in the alpha3 rhythm has positive effect.

Key words: training, creativity, alpha, aging, EEG.

Актуальность

Известно, что когнитивный тренинг может отсрочить или даже предотвратить когнитивное снижение у пожилых людей, однако отмечается проблема невысокого переноса позитивного тренировочного эффекта с экспериментальных задач на более широкий круг когнитивного функционирования и повседневную жизнь [1]. Занятие творческими видами деятельности в пожилом возрасте является фактором защиты для сохранения когнитивных способностей. Согласно обзору методических подходов к лечению деменции пожилого возраста вовлечение в творческие виды деятельности может выступать альтернативой антипсихотическим препаратам [2]. Позитивное влияние креативной деятельности может быть обусловлено неспецифической когнитивной стимуляцией, однако лежащие в основе нейробиологические механизмы недостаточно исследованы. Считается, что эффективный когнитивный тренинг индуцирует процессы нейропластичности – способности мозга к реорганизации самого себя в ответ на различный опыт. Было показано, что показатели спектральной мощности изменяются после выполнения повторяющихся заданий и характер изменений зависит от особенностей выполняемых заданий [3]. Изменения ЭЭГ после выполнения задания можно считать нейрофизиологическими предпосылками для устойчивых изменений в активности мозга, связанных с выполнением тренировочных заданий.

Цель работы – получить предварительные результаты относительно влияния тренировки дивергентного мышления на базовую активность мозга. Чтобы оценить, насколько изменения в фоновой ЭЭГ после выполнения тренировки специфичны для конкретного типа творческих задач, мы использовали задачи образной и вербальной модальностей.

Материал и методы

В выборку вошли 29 человек старшего возраста (64 ± 6 лет), продолжающие профессиональную деятельность на момент исследования. Критерием исключения были психиатрические, неврологические и основные медицинские заболевания. Исследование было одобрено этическим комитетом НИИ ФФМ, испытуемые дали информированное согласие на участие в исследовании. Тренировка креативности длилась около 40 минут и состояла из 30 вербальных («Необычное использование предмета») и 30 образных («Незавершенные фигуры») дивергентных задач, которые обычно используются как экспериментальные модели креативности. Успешность выполнения тестов оценивалась отдельно в образном и вербальном тестах, по показателям беглости (количество идей) и оригинальности (уникальность идей) аналогично

[4]. Многоканальная регистрация ЭЭГ проводилась на протяжении всего эксперимента и включала 2 трехминутные записи в состоянии покоя с открытыми глазами (перед и после тренировки) и вербальный и образный блоки креативных заданий. Для каждого интервала записи была рассчитана плотность источников тока (ПИТ) в 8 индивидуальных частотных диапазонах в программном пакете sLORETA. С помощью непараметрического статистического картирования в sLORETA для каждого ритма были рассчитаны контрасты ПИТ: 1) в пост- и предтестовом интервалах, 2) в тестовом вербальном и предтестовом интервалах, 3) в тестовом образном и предтестовом интервалах. MNI координаты вокселей, для которых были выявлены максимальные различия в первом контрасте, были использованы как зерна для выделения областей, представляющих интерес (ОИ). Корреляционный анализ между ОИ, показателями эффективности решения задач проводили в программе STATISTICA.

Результаты

В период после решения креативных задач по сравнению с предтестовым временным интервалом было выявлено повышение плотности источников тока в каждом частотном диапазоне с преимущественной локализацией в парието-окципитальной и темпоральной областях ($0.0002 < P_{\max} < 0.017$). Выявлена вызванная решением образной задачи статистически значимая синхронизация ритмов в парието-окципитальной и темпоральной областях коры ($0.0002 < P_{\max} < 0.0003$), в то время как решение вербальной образной задачи вызвало синхронизацию только дельта-ритма в левой фронтально-темпоральной области ($P_{\max} = 0.006$). Выявлены положительные корреляции между изменениями ПИТ от предтестового к образному тестовому интервалу и изменениями от предтестового к посттестовому интервалу в пределах ОИ в дельта-, тета-, альфа3-, бета2- и гамма-ритмах. ПИТ во время выполнения образной задачи в пределах ОИ отрицательно коррелировала с образной беглостью в дельта-ритмах ($r = -0.54$, $p = 0.002$) и тета-ритмах ($r = -0.46$, $p = 0.012$) и положительно коррелировала с образной оригинальностью в альфа3- ритме ($r = 0.48$, $p = 0.008$) (рис. 1).

Выводы

Изменения ПИТ от предтестового к посттестовому интервалу являются последствием изменений ПИТ от предтестового к образному тестовому интервалу. Об этом свидетельствуют полученные результаты о схожести показателей ЭЭГ во время выполнения образного задания и после выполнения креативной тренировки, а также корреляции между этими показателями в пределах ОИ. Увеличение ПИТ в тета- и дельта- ритмах, отрицательно связанное с беглостью, может быть электрофизиологическим коррелятом усилий и напряжения, вызванных требованиями задания, тогда как увеличение ПИТ в альфа3-ритме, положительно связанное с оригинальностью, отражает ассоциированные с образной креативностью аспекты выполнения задания.

Увеличение мощности альфа-ритма связывают с активным подавлением обработки сенсорной информации во время мыслительных операций во внутреннем фокусе внимания [5]. При старении показано снижение мощности базового альфа-ритма и увеличение отвлекаемости. В недавней работе была показана причинно-следственная связь между стимуляцией альфа-ритма и усилением способности к торможению информации у пожилых испытуемых [6]. Таким образом, тренировочное решение образных креативных задач, которое вызвало увеличение ПИТ альфа-ритма у испытуемых, может вносить вклад в улучшение способности к нисходящему торможению. Эти факты могут лежать в основе известного генерализованного позитивного эффекта образной креативной деятельности на ментальное здоровье в пожилом возрасте. Работа ограничена исследованием кратковременной креативной тренировки, однако полученные результаты открывают перспективное направление исследований долгосрочного влияния образного креативного мышления на базовую активность мозга.

Работа выполнена за счет средств федерального бюджета на проведение фундаментальных научных исследований (тема № АААА-А16-116021010228-0, регистрация ЭЭГ), гранта РФФИ Правительства Новосибирской области (№ 19-415-543009, анализ ЭЭГ данных, написание статьи).



Рис. 1. Увеличение ПИТ в посттестовый интервал по сравнению с предтестовым в париетальной доле мозга в альфа3-ритме. Статистически значимые различия ($p < 0.05$) выделены серым цветом; ИО отмечена эллипсом

ЛИТЕРАТУРА

1. Sala G., Gobet F. Cognitive Training Does Not Enhance General Cognition. *Trends Cogn Sci.* 2019; 23(1): 9–20. doi:10.1016/j.tics.2018.10.004.
2. McGreevy J. Arts-based and creative approaches to dementia care. *Nurs Older People.* 2016; 28(1): 20–23. doi:10.7748/nop.28.1.20.s20.
3. Moisello C., Mezziane H.B., Kelly S., Perfetti B., Kvint S., Voutsinas N., Blanco D., Quartarone A., Tononi G., Ghilardi M.F. Neural activations during visual sequence learning leave a trace in post-training spontaneous EEG. *PLoS One.* 2013 Jun 14; 8(6): e65882. doi: 10.1371/journal.pone.0065882.
4. Privodnova E.Y., Volf N.V., Knyazev G.G. The evaluation of creative ideas in older and younger adults: A view from sLORETA study. *J Psychophysiol.* 2018; 16: 19–34. doi:10.1027/0269-8803/a000232.
5. Cooper N.R., Croft R.J., Dominey S.J.J., Burgess A.P., Gruzelier J.H. Paradox lost? Exploring the role of alpha oscillations during externally vs. internally directed attention and the implications for idling and inhibition hypotheses. *Int J Psychophysiol.* 2003; 47(1): 65–74. doi:10.1016/s0167-8760(02)00107-1.
6. Borghini G., Candini M., Filannino C., Hussain M., Walsh V., Romei V., Zokaie N., Cappelletti M. Alpha Oscillations Are Causally Linked to Inhibitory Abilities in Ageing. *J Neurosci.* 2018 May 2; 38(18): 4418–4429. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1285-17.2018.

ХАРАКТЕРИСТИКИ СТРАТЕГИИ ВЫБОРА У БОЛЬНЫХ ПАРАНОИДНОЙ ШИЗОФРЕНИЕЙ С СОПУТСТВУЮЩИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ

А.В. Рогов, В.К. Абдуллаева

Ташкентский педиатрический медицинский институт, г. Ташкент, Узбекистан

Аннотация

Проблемно-решающая функция нейрокогнитивного пула оценивалась с помощью решения задачи «пирамида Ханоя» и теста Tower of London. Было установлено, что больные параноидной шизофренией с сопутствующими хроническими вирусными гепатитами показали значимо более низкую продуктивность в выполнении поставленной задачи по сравнению с больными параноидной шизофренией без сопутствующей соматической патологии.

Ключевые слова: нейрокогнитивный дефицит, параноидная шизофрения, проблемно-решающее поведение.

CHARACTERISTICS OF THE SELECTION STRATEGY IN PATIENTS WITH PARANOID SCHIZOPHRENIA WITH CONCOMITANT VIRAL HEPATITIS

A.V. Rogov, V.K. Abdullaev

Tashkent Pediatric Medical Institute, Tashkent, Uzbekistan

Abstract

The problem-solving function of the neurocognitive pool was evaluated by solving the Hanoi Pyramid problem and the Tower of London test. It was found that patients with paranoid schizophrenia with concomitant chronic viral hepatitis showed significantly lower productivity in fulfilling this problem compared with patients with paranoid schizophrenia without concomitant somatic pathology.

Key words: neurocognitive deficiency, paranoid schizophrenia, problem-solving behavior.

Актуальность

Научное сообщество психиатров, нейрофизиологов и медицинских психологов все более пристально рассматривает проблему шизофренического процесса с точки зрения концепции нейрокогнитивных расстройств [1–3]. Расстройства составляющих когнитивного пула, вероятно, лежит в основе таких феноменов, как нарушение социального функционирования, снижение уровня качества жизни, нарушения эмоционального интеллекта и проблемы комплаентности у больных шизофренией. В свете полученных новых данных становится очевидным, что шизофренический процесс сопровождается расстройствами, определяющими своеобразный когнитивный профиль у этой группы пациентов [3]. В свою очередь, разнообразие вариантов нарушений когнитивных функций и их влияние на различные аспекты шизофренического процесса оставляет открытыми большое количество вопросов и дает богатую почву для научных изысканий в этой области. Важной составляющей когнитивного пула, в существенной степени определяющей его профиль, является функция проблемно-решающего поведения. Когнитивные рассуждения часто включают в себя принятие иерархически организованных решений различного порядка в результате процесса планирования, накопления и обработки информации об ошибках, предопределяют дальнейшие действия или же бездействие человека. Уникальность выбора стратегии и тактики в решении поставленной проблемы – одна из основных интеграционных функций человеческой психики, она относится к приоритетным этапам в выборе модели социального функционирования [4]. Бесспорно, на проблему выбора влияет большое количество переменных в виде различных внешних факторов. Однако при этом прослеживается закономерное влияние хронических соматических расстройств на когнитивные функции, в том числе и на стратегии выбора в рамках проблемно-решающей концепции. Многими авторами показано, что хронически протекающие сопутствующие инфекционные заболевания негативно влияют на течение шизофрении, подвергая привычную психопатологическую картину своеобразному патоморфозу [5]. Хронические вирусные гепатиты являются одной из наиболее распространенных групп заболеваний среди данного контингента пациентов. Исследования, проведенные многими авторами, позволили установить, что маркеры HBV-инфекции встречались у 23,0–81,3 % больных. Среди них HBsAg определялся в 2,0–18,1 % случаев. Анти-HCV обнаруживались у 0,42–20,3 % пациентов психиатрических клиник [6]. В литературе существует достаточно большой информационный пласт, посвященный проблеме когнитивных нарушений у больных шизофренией, при этом не освещено влияние хронических заболеваний, а именно вирусного гепатита, на проблемно-решающее поведение у больных параноидной шизофренией.

Цель исследования – изучить влияние хронических вирусных гепатитов на навыки, определяющие проблемно-решающее поведение у больных параноидной шизофренией.

Материал и методы

Исследование проводилось на базе Ташкентской городской клинической психиатрической больницы. Было обследовано 64 больных с верифицированным в соответствии с МКБ-10 диагнозом параноидная шизофрения (F-20.0). Группу исследования составляли 43 больных. Критерием отбора служило наличие сопутствующего диагноза – хронический вирусный гепатит С (ХГС) и хронический гепатит В (ХГВ), из группы исследования исключались респонденты, имеющие другие хронические заболевания, а именно заболевание сердечно-сосудистой системы, сахарный диабет, заболевания щитовидной железы, аддиктивные расстройства, связанные с употреблением психоактивных веществ и др. В группу сравнения вошел 21 пациент с диагнозом параноидная шизофрения без острой или хронической соматической патологии. Для достижения поставленной цели были использованы экспериментально-психологические и клиничко-статистические методы исследования. Оценка психопатологического статуса проводилась при помощи шкалы позитивных и негативных синдромов (Positive and Negative Syndrome Scale – PANSS). Проблемно-решающая функция нейрокогнитивного пула оценивалась с помощью решения задачи «пирамида Ханоя» с за-

данными параметрами – три стержня и четыре кольца с минимальным количеством ходов по формуле $2^n - 1$, где n – число дисков. Второй задачей оценки проблемно-решающего поведения являлся тест Tower of London, разработанный T.Shallice [Shallice, 1982] и состоящий из 10 заданий, структурированных и унифицированных для всех респондентов. Учитывалось время на определение тактики выполнения задания, время, затраченное непосредственно на решение задания, количество ходов, количество ошибок, оценивалась способность респондентов с учетом опыта сделанных ошибок применять эту информацию для более рационального решения поставленной задачи.

Результаты

Результаты исследования показали, что существует значительная разница между двумя группами в решении задачи «пирамида Ханоя». При объяснении условий задачи больные с параноидной шизофренией без сопутствующей патологии в большинстве случаев не испытывали проблем с усвоением правил решения задачи, только в двух случаях необходимо было повторное объяснение, тогда как в группе с сопутствующими вирусными гепатитами подобное объяснение понадобилось уже 5 (11,62 %) больным. При этом двое после нескольких повторов отказались участвовать в эксперименте. Время для оценки задания, принятия решения и начала решения задачи у больных параноидной шизофренией с сопутствующими вирусными гепатитами в среднем было несколько больше ($15 \pm 0,7$ сек), чем у группы сравнения ($8 \pm 0,4$ сек), при этом нельзя говорить, что оно затрачивалось на более глубокий анализ и выбор оптимальной стратегии решения задачи, так как последующее решение не отличалось большой точностью. Таким образом, можно предположить, что больным с сопутствующими вирусными гепатитами необходимо было в среднем больше времени для построения стратегии и разработки тактики решения поставленной проблемы. На выполнение задачи в основной группе было в среднем затрачено больше времени, чем в группе сравнения. В основной группе средняя продолжительность времени, затраченного на выполнение поставленной задачи, составляла в среднем $11 \pm 1,1$ минуты, в группе сравнения на аналогичное задание было затрачено в среднем $8 \pm 0,9$ минуты. Наиболее значимыми были показатели количества ходов и ошибок, показатель, определяющий качество выбранной стратегии при решении задания, у больных основной группы в среднем $51 \pm 1,7$ ходов, в группе сравнения среднее количество ходов составляло $39 \pm 1,5$ ходов. Это свидетельствует о качественном снижении анализа проблемы и, как следствие, неадекватном стратегическом планировании в проблемно-решающем поведении. Ошибки при выполнении задания, несоответствие хода правилам теста в основной группе составляли в среднем 11 ± 4 , а в группе сравнения 9 ± 5 . Способность респондентов правильно решать задания, основываясь на опыте сделанных ошибок, значимо отличалась в различных группах. В основной группе 19 (44,1 %) больных при допущении ошибок начинали задание с начала и допускали аналогичные ошибки по три и более раз, 6 (13,9 %) больных после нескольких попыток и ошибок отказались от дальнейшего выполнения теста, 3 (6,9 %) после повторной ошибки проявили агрессию к материалу тестирования. В основной группе 15 (34,8 %) больных во время проведения тестирования при допущении стратегических ошибок не повторяли их в дальнейшем, учитывая предыдущий опыт. В группе сравнения только 3 (14,28 %) отказались от выполнения теста после нескольких ошибок, 12 (57,1 %) больных учитывали предыдущие ошибки и их не совершали, 6 (28,5 %) по несколько раз совершали аналогичные ошибки. Из вышеуказанного следует, что больные параноидной шизофренией с сопутствующими хроническими вирусными гепатитами значительно хуже воспринимают получаемую новую информацию, им намного сложнее провести анализ своих ошибок и использовать полученный опыт в решении поставленной задачи, возможно, это косвенно свидетельствует о более глубокой дезинтеграции когнитивных функций, вызванной сопутствующими патологиями. Выполнение теста Tower of London проходило у всех респондентов через стандартный промежуток времени. На этом этапе проводимого эксперимента от его дальнейшего прохождения отказались 3 больных из основной группы (больные с агрессивным поведением, выявившимся в результате предыдущего тестирования) и 2 больных из группы сравнения. Таким образом, ко второму этапу тестирования в основной группе и группе сравнения приступило 41 и 19 больных соответственно. При объяснении условий проведения второго этапа тестирования значительная часть респондентов как основной группы, так и группы сравнения испытывала некоторые проблемы с пониманием новых условий задания, 21 (51,5 %) больных основной группы и 9 (47,3 %) больных группы сравнения не могли с первого раза воспринять новую информацию, 11 (27,5 %) основной группы и 5 (26,3 %) группы сравнения формально соглашались с новыми условиями выполнения задания, но при непосредственном проведении теста проводили его по условиям

первого тестирования. Полученные результаты не противоречат литературным данным и в некоторой степени объясняются нарушением «гибкости мышления» у больных параноидной шизофренией. При выполнении задания больным основной группы потребовалось в среднем $25,4 \pm 9,1$ минуты на выполнение всех представленных задач, группе сравнения для достижения конечного результата понадобилось в среднем $21,2 \pm 8,2$ минуты. Отчетливо просматривалось снижение уровня внимания в обеих группах, так, в исследуемой группе на решение пяти заданий первой половины тестирования потребовалось в среднем $7,2 \pm 4,1$ минуты, в группе сравнения этот показатель был близок и составлял $6,3 \pm 4,0$ минуты. Вторую половину задания обе группы решали со значительным увеличением затраченного времени, в группе исследования средний показатель равнялся $18,2$ минуты, а аналогичные показатели в группе сравнения – $14,9$ минуты. Качество решения поставленных задач, характеризующееся количеством повторных ошибок, значительно упало в обеих группах. Среднее количество необоснованных ошибок в группе исследования составило 102 ± 11 , а в группе сравнения 87 ± 9 . Положительным моментом было то, что больные, начавшие второй этап психологического эксперимента, в обеих группах закончили его без побочных эксцессов. Различия, вложенные в разные этапы проводимого исследования, при кажущейся идентичности позволили нам установить, что у больных параноидной шизофренией существуют значительные нарушения в области гибкости мышления, больным обеих групп в большинстве случаев было трудно переключиться с условия одного задания на другое, таким образом, показатели нашего эксперимента не противоречат данным других исследователей.

Выводы

Таким образом, нами было установлено, что больные параноидной шизофренией с сопутствующими хроническими вирусными гепатитами показали значимо более низкую продуктивность в выполнении поставленной проблемы по сравнению с больными параноидной шизофренией без сопутствующей соматической патологии. Хронические вирусные гепатиты в значительной степени влияют на проблемно-решающее поведение у больных параноидной шизофренией. Наличие сопутствующего хронического вирусного гепатита у больных параноидной шизофренией в значительной степени приводит к нарушению выстраивания рациональной стратегии в решении поставленной проблемы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдуллаева В.К., Нурходжаев С.Н. Особенности социальной адаптации у пациентов с коморбидными аффективными и личностными расстройствами. Общая психопатология: традиции и перспективы. Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2017. 25.
2. Алексеев А.А., Рупчев Г.Е., Катенко С.В. Нарушения планирования при шизофрении. Психологические исследования. 2012; 5(23): 9.
3. Дорофейкова М.В., Петрова Н.Н. Нарушения когнитивных функций при шизофрении и их коррекция. Современная терапия психических расстройств. 2015; 1: 2–9.
4. Ткаченко С.В., Бочаров А.В. Нейропсихологический анализ дефекта при шизофрении и аффективных психозах. Шизофренический дефект (диагностика, патогенез, лечение): сб. под ред. Р.Я. Вовина. СПб.: Изд-во НИПНИ им. В.М. Бехтерева, 1991. С. 95–123.
5. Рогов А.В. Когнитивные расстройства у больных с параноидной шизофренией, коморбидной с вирусными гепатитами. Антология российской психотерапии и психологии. 2019; 158–158.
6. Cividini A., Pistorio A., Regazzetti A., Cerino A., Tinelli C., Mancuso A., Ribola M., Galli M.L., Agnusdei A., Leone M., Silini E., Mondelli M.U. Hepatitis C virus infection among institutionalised psychiatric patients: a regression analysis of indicators of risk. J Hepatol. 1997 Sep; 27(3): 455–63. doi: 10.1016/s0168-8278(97)80348-0.

КЛИНИКО-ДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ АФФЕКТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ В «ЧИСТОМ» ВИДЕ И В КОМОРБИДНОСТИ С АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТЬЮ

О.В. Рощина, А.И. Розин

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

Аннотация

Коморбидное сосуществование алкогольной зависимости (АЗ) и аффективных расстройств (АР) характеризуется патопсихологической синергичностью, повышающей риск неблагоприятного прогноза для каждого из них. В терапии коморбидных состояний важен персонифицированный подход, не акцентированный только на аффективной патологии или патологическом влечении к ПАВ. В прове-

денном исследовании поставлена цель изучить клинико-динамические и клинико-психопатологические особенности АР в «чистом» виде и в коморбидности с АЗ. Было обследовано 57 человек с АР и АЗ, из них 29 больных с АР без зависимости от алкоголя и 28 пациентов с коморбидным течением АР и АЗ. Были использованы клинико-психопатологический, клинико-динамический и статистические методы. Объективная оценка выраженности симптоматики осуществлялась с применением диагностических шкал SIGH-SAD, HARS. По результатам исследования авторы пришли к выводу, что пациенты с коморбидным диагнозом демонстрируют худшую динамику редукции аффективной симптоматики в терапии, несмотря на изначально более низкие показатели в сравнении с группой с «чистым» АР. Заключение: Клинико-динамические характеристики коморбидного сочетания АР и АЗ ведут к терапевтическим затруднениям, сопряженным с худшей динамикой редукции симптомов аффективной патологии.

Ключевые слова: алкогольная зависимость, депрессивные расстройства, коморбидность, антидепрессивная терапия.

CLINICAL AND DYNAMIC FEATURES OF THE COURSE OF MOOD DISORDERS IN A “PURE” FORM AND IN COMORBIDITY WITH ALCOHOL USE DISORDER

O.V. Roshchina, A.I. Rozin

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

Abstract

The comorbidity of alcohol use disorder (AUD) and mood disorder (MD) define by pathopsychological synergy, which increases the risk of an adverse prognosis for each of them. A personalized approach not focusing only on affective pathology or pathological attraction to alcohol is important in the treatment of co-occurring conditions. The goal of the research: to study the clinical-dynamic and clinical-psychological features of MD in a “pure form” and in comorbidity with AUD. 57 people were examined, of which: 29 patients with MD and 28 patients with comorbidity AUD and MD. Clinical-psychopathological, clinical-dynamic and statistical methods were used. An objective assessment of the severity of symptoms was carried out using the diagnostic scales SIGH-SAD, HARS. According to the results of the studies, the authors concluded that patients with a co-occurring diagnosis show the worst dynamic reduction of affective symptoms in the course of therapy, despite initially lower rates compared with the group with “pure” MD. Conclusion: Clinical and dynamic characteristics of the comorbidity of AUD and MD lead to therapeutic difficulties associated with worse dynamics of reduction of symptoms of affective pathology.

Key words: alcohol use disorder, mood disorders, comorbidity, antidepressant therapy.

Актуальность

Развитие отечественной психиатрии последние десятилетия характеризуется растущим осознанием необходимости целостного биопсихосоциального подхода к терапии психических расстройств [1]. Интеграция этого подхода обращает внимание на многофакторность формирования заболевания, а также взаимовлияния нозологий в случае их коморбидности. Так, немаловажным фактором в формировании АЗ, ее пато- и саногенезе являются коморбидные психические расстройства, в первую очередь шизофренического и аффективного спектра [2], являющиеся предиктором неблагоприятного прогноза течения каждого заболевания [3]. Тем не менее, на практике коморбидность АР и АЗ часто остается незамеченной: это может быть связано с клиническим патоморфозом [4, 5]. Терапевтический акцент на одной из имеющихся у пациента психических нозологий чреват снижением эффективности лечения, увеличением его длительности и снижением качества и продолжительности ремиссий.

Цель – изучение клинико-динамических и клинико-психопатологических особенностей АР в «чистом виде» и в коморбидности с АЗ.

Материал и методы

Проведено обследование 57 пациентов, поступивших на лечение с верифицированным диагнозом АР (кластер F3 по МКБ-10) и/или АЗ (F10.2 по МКБ-10) и давших информированное согласие на участие в исследовании. Были использованы клинико-психопатологический, психометрический, клинико-динамический, статистические методы исследования. Объективная оценка выраженности симптоматики и ее динамики в ходе лечения осуществлена

применением следующих диагностических инструментов: шкалы SIGH-SAD (Structured Interview Guide For The Hamilton Depression Rating Scale, Seasonal Affective Disorders Version, Williams J. et al., 1992) и HARS (The Hamilton Anxiety Rating Scale, Hamilton M., 1959) – при поступлении и при выписке. Статистическая обработка данных проведена при помощи пакета стандартных прикладных программ IBMSPSS Statistics 23. Включенные в исследование пациенты были распределены на 2 группы: пациенты с АР без АЗ (n=29), пациенты с коморбидным течением АЗ и АР (n=28).

Результаты

Структура аффективных расстройств в группе без коморбидности с синдромом зависимости была представлена депрессивными эпизодами различной степени тяжести в 34,5 %, депрессивным эпизодом в рамках рекуррентного расстройства – в 31 % и смешанным или депрессивным эпизодом в рамках биполярного аффективного расстройства – в 24,1 %.

Коморбидная аффективная патология была представлена в равной степени дистимией и депрессивным эпизодом в рамках рекуррентного депрессивного расстройства (по 32,1 %). Аффективная симптоматика в рамках биполярного расстройства выявлена в 21,4 % наблюдений. В 14,3 % случаев коморбидным диагнозом был депрессивный эпизод средней (10,7 %) или легкой (3,6 %) степени.

Проведенные в двух точках (при поступлении и при выписке) обследования с использованием психометрических шкал SIGH-SAD и HARS позволили объективно оценить выраженность депрессивной (типичной и атипичной) и тревожной симптоматики и ее клиническую динамику (табл. 1)

На момент поступления пациенты с «чистыми» АР отмечали большую выраженность депрессивной симптоматики по шкале SIGH-SAD, а также тревоги по шкале HARS по сравнению с группой пациентов с коморбидным диагнозом. На фоне проводимой психофармакотерапии к концу лечения отмечалось снижение интенсивности аффективной симптоматики в обеих группах до примерно одинаковых значений, но не достигающих нуля. Таким образом, пациенты с коморбидным диагнозом демонстрируют худшую динамику в редуцировании депрессивной и тревожной симптоматики на фоне лечения, при изначально более низких показателях, в сравнении с группой с «чистой» депрессией.

Вывод

Клиническая картина коморбидного сочетания АР и АЗ характеризуется меньшей клинической выраженностью симптомов АР по сравнению с группой с «чистой» аффективной патологией (сумма баллов по шкале SIGH-SAD при поступлении 24 (18,25; 33) и 28 (21; 36) соответственно, HARS 20,5 (12,5; 25) и 21 (14; 29) баллов), но худшей ее динамикой на фоне проводимой психофармакотерапии (сумма баллов по шкале SIGH-SAD при выписке 8 (4,25; 12) и 6 (5; 11) соответственно, HARS 5,5 (3,25; 8) и 5 (3; 10,5) баллов).

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ №19-15-00023 «Клинические особенности и поиск потенциальных биомаркеров коморбидности алкоголизма и аффективных расстройств».

Таблица 1

Баллы по шкале SIGH-SAD и HARS

	SIGH-SAD		HARS	
	при поступлении	при выписке	при поступлении	при выписке
Пациенты с АР	28 (21; 36)	6 (5; 11)	21 (14; 29)	5 (3; 10,5)
Пациенты с АР и АЗ	24 (18,25; 33)	8 (4,25; 12)	20,5 (12,5; 25)	5,5 (3,25; 8)

Примечание: $p < 0,05$ для всех значений, Критерий Краскала-Уоллиса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Николаев Е.Л., Орлов Ф.В. Интеграция биопсихосоциального подхода в общеврачебную практику: возможности и перспективы. Социальная и клиническая психиатрия. 2005; 2: 82–84.
2. Андриященко А.В., Шуляк Ю.А. Алкогольная зависимость и депрессия: подходы к диагностике и лечению. Медицинский совет. 2016; 19: 28–36.
3. Шитов Е.А., Киселев Д.Н., Шустов Д.И. Краткий обзор проблемы «двойного диагноза» (сочетание психических расстройств и расстройств зависимости от психоактивных веществ). Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. 2009; 2: 100–105.
4. Роцина О.В., Розин А.И., Счастный Е.Д., Бохан Н.А. Клиническое значение коморбидности аффективных расстройств и алкогольной зависимости. Бюллетень сибирской медицины. 2019; 4: 110–118.
5. Кинкулькина М.А., Иванец Н.Н. Депрессии при шизофрении и алкоголизме. Клиника и лечение. М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М». 2009. 216 с.

АДДИКТИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ (ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ЗАВИСИМОСТИ) ЛИЧНОСТИ КАК ПРЕДИКТОР ФОРМИРОВАНИЯ СУИЦИДАЛЬНОГО РИСКА У СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКОГО ПРОФИЛЯ

Н.Ж. Сексенбаев, А.А. Калиева, Т.М. Молдагалиев, А.У. Ермакбаев

Некоммерческое акционерное общество «Медицинский университет Семей»,
г. Семей, Республика Казахстан

Аннотация

Аdditивное, или зависимое, поведение является видом девиантного поведения. Ежегодно возрастает удельный вес поведенческих девиаций и расстройств. Данное исследование является пилотной психометрической оценкой показателей поведенческих видов зависимостей и суицидального риска у студентов медицинского профиля, которая позволит прояснить ситуацию клинко-психопатологического аспекта структуры аддитивного поведения (поведенческие зависимости) личности как предиктора формирования суицидального риска. Объектом исследования стали 400 студентов медицинского профиля. Проведено одномоментное кросс-секционное анкетирование по 10 валидизированным психометрическим шкалам. При этом 100 студентов обнаружили положительный отклик хотя бы в одной из скрининговых шкал. Доля респондентов, имеющих хотя бы один из рисков формирования поведенческих видов зависимостей, суицидального риска, составила 25,9 %. Статистически значимое преобладание рисков дезадаптации обнаружено среди девушек. Женский пол был также ассоциирован с риском расстройств пищевого поведения. Наиболее распространёнными в общей группе были риски формирования интернет-зависимости.

Ключевые слова: аддитивность, поведенческие зависимости, суицидальный риск, медицинский университет, студент.

ADDICTIVE BEHAVIOR (BEHAVIORAL DEPENDENCIES) OF A PERSON AS A PREDICTOR OF SUICIDAL RISK FORMATION IN MEDICAL STUDENTS

N.Zh. Seksenbayev, A.A. Kaliyeva, T.M. Moldagaliyev, A.U. Yermekbayev

Non-profit joint-stock company «Semeymedical University», Semey, Republic of Kazakhstan

Abstract

Addictive or dependent behavior is a type of deviant behavior. The proportion of behavioral deviations and disorders increases every year. This study is a pilot psychometric assessment of indicators of behavioral types of addictions and suicidal risk in medical students, which will clarify the situation of the clinical and psychopathological aspect of the structure of addictive behavior (behavioral dependencies) of the individual as a predictor of the formation of suicidal risk. The object of the study was 400 medical students. A single-stage cross-sectional survey was conducted using 10 validated psychometric scales. The share of respondents who have at least one of the risks of forming behavioral types of dependencies, suicidal risk was 25.9%. Statistically significant prevalence of maladjustment risks was found among females. Females was also associated with the risk of eating disorders. The most common risks in the general group were the risks of internet addiction.

Key words: addiction, behavioraldependence, suicidalrisk, medicaluniversity, student.

Актуальность данного исследования обусловлена тем, что медицинская практика – одна из передовых областей человеческой профессиональной деятельности – требует от специалистов значительного напряжения физических, эмоциональных и интеллектуальных ресурсов. Очень важными аспектами остаются психогигиенические и профилактические мероприятия среди специалистов медицинского профиля, в том числе обучающихся [1]. Психологическая помощь в медицинских университетах является актуальным направле-

нием вне зависимости от степени экономического развития общества. Исследование, проведённое среди британских студентов медицинского профиля, показало, что только треть из них имела возможность получать психологическую помощь, при этом в 80 % случаев эта помощь оценивалась как недостаточная [2]. Данные метаанализа свидетельствуют, что уровень распространённости депрессивных симптомов среди студентов медицинского профиля доходит до 30 %, увеличиваясь по мере течения календарного года и повышения академической нагрузки [3]. Интенсификация академических процессов и недостаточная психологическая поддержка студентов приводят к хронизации стрессов и накоплению симптомов эмоционального выгорания, о чем стабильно свидетельствуют научные публикации [4]. Обучение именно в медицинском университете в два-пять раз повышает риск развития эмоционального выгорания по сравнению с обучением в университетах иного профиля [5]. Исследования возможностей преодоления академических и психологических барьеров в укреплении ментального здоровья проводятся как в количественном, так и в качественном поле. Так, значительным фасилитатором в работе профилактических программ могут стать сами учащиеся, которые охотно включаются в инициативы по взаимной поддержке [6]. По-прежнему важным моментом при оценке адаптационных возможностей является анализ личностных характеристик студентов, которые только начинают собственный академический путь. Наличие деструктивных установок (в том числе суицидальности) и дезадаптационных тенденций в виде аддиктивности может приводить к изначальным (первичным) нарушениям в ментальной сфере студента, которые могут усиливаться в процессе обучения.

Целью настоящего фрагмента исследования стала пилотная психометрическая оценка показателей поведенческих зависимостей и суицидального риска у студентов медицинского профиля.

Объектом исследования были 400 студентов, из которых 386 дали согласие на анкетирование (96,5 %). Таким образом, выборка набиралась сплошным способом. При этом 100 студентов обнаружили положительный отклик хотя бы в одной из скрининговых шкал. Сбор информации осуществлялся с помощью анонимного анкетирования, где вся персонализированная информация была закодирована, что исключало разглашение данных, но обеспечивало возможность обратной раскодировки исключительно в целях проведения психокоррекционных интервенций штатным психологом НАО «МУС». Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы SPSS (The IBM SPSS® software platform). Для сбора данных разработана специальная анкета, в которой использованы следующие валидные психометрические инструменты: шкала Пейкеля [7], опросник Завьялова «Выявление предрасположенности к аддиктивному поведению» [8], тест RAFFT для определения предрасположенности к химическим зависимостям [9], тест на выявление интернет-зависимости Кимберли-Янг [10], методика Томаса Такера по оценке пристрастия к азартным играм [11], «Бергенская шкала зависимости от шопинга» [12], голландский опросник пищевого поведения DEBQ [13], скрининг-тест на выявление сексуальной аддикции [14], тест на выявление любовной аддикции (по Егорову) [15], опросник депрессии Бека [16]. Представленные результаты получены при применении кросс-секционного дизайна на основании одномоментного анкетирования студентов медицинского профиля некоммерческого акционерного общества «Медицинский университет Семей» (НАО «МУС») на факультете «Общая медицина». Протокол исследования получил одобрение этического комитета НАО «МУС» (протокол заседания №2 от 18.10.2019). В сумме опрос был проведён среди 386 студентов: 144 юноши (37,3 %) и 242 девушки (62,7 %). Из них у 26 студентов мужского пола обнаруживались положительные результаты скрининговых тестов (минимум в одном из них) – 18,06 %. Значительно выше была распространённость положительного отклика в скрининге у девушек – 74 студентки (30,58 %). Относительный риск для женского пола (RR) составил 1,99 (95 % доверительный интервал – 95 % ДИ: 1,34; 2,99). Средний показатель суицидальности не имел значимых различий между юношами ($2,04 \pm 1,34$ баллов) и девушками ($2,09 \pm 1,11$ баллов) ($p=0,53$). Однако учёт результатов опроса в качестве ранговых переменных позволил получить более точную картину для анализа. Так, по шкале Пейкеля 58 студентов обнаружили наличие как минимум двух признаков суицидальности, что составило 15,03 % от числа всех опрошенных студентов, из них 13 юношей (9,03 %) и 45 девушек (18,6 %). Суицидальность чаще регистрировалась среди девушек. Относительный риск при сравнении обоих полов составил 2,06 (95 % ДИ: 1,15; 3,69). Четыре-пять баллов по данной шкале свидетельствуют о необходимости получения психологического консультирования и детальной психической оценки: зарегистрированы у 12 студентов (3,11 %), из них у 5 юношей (3,47 %) и 7 девушек (2,89 %). При высоких баллах по шкале Пейкеля (4 и выше)

разница между полами нивелировалась: RR составил 0,78 (95 % ДИ: 0,25; 2,39). Результаты психометрической оценки показали, что статистически значимая разница между юношами и девушками регистрировалась по показателю пристрастия к азартным играм, характерному для лиц мужского пола. Напротив, нарушениям пищевого поведения в большей степени были подвержены студентки. Расчёт количественного выражения относительного риска выявил следующие результаты: женский пол ассоциирован с повышенным риском ограничительного пищевого поведения, достигая 4,46 раз (95 % ДИ: 1,61; 12,41), с эмоциогенным перееданием – в 2,79 раз (95 % ДИ: 1,46; 5,36), с экстернальным пищевым поведением – в 2,63 раза (95 % ДИ: 1,45; 4,75). Каждый седьмой студент обнаруживал предрасположенность к аддиктивному поведению, склонность к химическим зависимостям зарегистрирована в 2 % случаев от общего числа опрошенных (n=386). Учитывая соотношение общей предрасположенности к аддикциям и уязвимости по химическим зависимостям, нами сделано допущение о превалировании поведенческих зависимостей среди опрошенных студентов. Действительно, международный «золотой стандарт» в диагностике интернет-зависимости показал наличие случаев чрезмерного использования онлайн пространства и даже сформированной зависимости от интернета, что в общем составило 13 % от числа опрошенных студентов. Любовная зависимость, отражающая потребность в привязанности и романтических отношениях, зарегистрирована у 14,77 % опрошенных учащихся. Это свидетельствует об актуальности изучения именно поведенческих, так называемых социально приемлемых форм зависимостей, которые указывают на напряжение адаптационных способностей и возможность нозологического уровня аддикций. Корреляционный анализ, проведённый в пределах дихотомических/ранговых показателей аддиктивности и данных шкалы суицидальности Пейкеля, не продемонстрировал значительной корреляционной связи между ними. Мы предполагаем, что для выявления значимых связей необходимо увеличить мощность исследования и провести оценку на более обширной выборке, включив в анализ студентов других курсов и факультетов НАО «МУС». Важной находкой настоящего пилотного исследования стало выявление групп студентов, требующих динамического наблюдения. В скрининговой практике это проявлялось пороговыми значениями по отдельным психометрическим шкалам с формулировкой «подозрение на риск». Это позволяет говорить о необходимости дифференцированных подходов в профилактике ментальных расстройств и срывов адаптации у студентов медицинского профиля.

В целом полученные данные демонстрируют необходимость динамической оценки ментальной сферы учащихся медицинских университетов. Важными принципами должны оставаться объективизация данных и своевременность проводимых диагностических мероприятий. Эффективным нам видится двухступенчатый подход в идентификации расстройств адаптации у студентов: первоначальные скрининговые методы должны быть дополнены детальным анализом психического статуса студента и исследованием причинных факторов, приводящих к нарастанию дезадаптации. Настоящий фрагмент пилотной оценки служит обоснованием для продолжения исследования с применением продольного наблюдения за группой риска по аддиктивному поведению. Важным для анализа остаётся определение корреляционных связей между разнообразными показателями адаптационных возможностей ментальной сферы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shanafelt T.D., Sloan J.A., Habermann T.M. The well-being of physicians. *Am. J. Med.* 2003; 114(6): 513–519.
2. Billingsley M. More than 80 % of medical students with mental health issues feel under-supported, says Student BMJ survey. *BMJ.* 2015; h4521.
3. Mata D.A., Ramos M.A., Bansal N., Khan R., Guille C., Di Angelantonio E., Sen S. Prevalence of Depression and Depressive Symptoms Among Resident Physicians: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA.* 2015 Dec 8; 314(22): 2373–83. doi: 10.1001/jama.2015.15845.
4. Medical school burnout: How to take care of yourself. American Medical Association [Internet]. URL: <https://www.ama-assn.org/residents-students/resident-student-health/medical-school-burnout-how-take-care-yourself> (cited 15.11.2019).
5. Dyrbye L.N., West C.P., Satele D., Boone S., Tan L., Sloan J., Shanafelt T.D. Burnout among U.S. medical students, residents, and early career physicians relative to the general U.S. population. *Acad Med.* 2014 Mar; 89(3): 443–51. doi: 10.1097/ACM.0000000000000134.
6. At risk for depression in medical school? Know the key factors. American Medical Association [Internet]. URL: <https://www.ama-assn.org/residents-students/resident-student-health/risk-depression-medical-school-know-key-factors> (cited 15.11.2019).
7. Ghasemi P., Shaghghi A., Allahverdipour H. Measurement Scales of Suicidal Ideation and Attitudes: A Systematic Review Article. *Heal. Promot. Perspect. International Society for Phytocosmetic Sciences.* 2015; 5(3): 156–168.
8. Хрунтович В.А. Проблема раннего выявления предрасположенности обучающихся к формированию химической зависимости. Научные труды республиканского института высшей школы. 2016; 16(2): 258–264.
9. Корчагина Г.А., Фадеева Е.В., Зенцова Н.И. Ранняя диагностика употребления ПАВ. Москва: ФГБУ «Национальный научный центр наркологии» Минздравсоцразвития России, 2012. с. 53.
10. Chin F., Leung C.H. The concurrent validity of the internet addiction test (iat) and the mobile phone dependence questionnaire (MPDQ). *PLoS One. Public Library of Science.* 2018; 13(6): 1–5.

11. Моховиков М.А. Исследование интенсивности проявления игровой компьютерной зависимости у подростков [Internet]. URL: <https://nauchforum.ru/studconf/gum/xli/16802> (cited 15.11.2019).
12. Andreassen C.S., Griffiths M.D., Pallesen S., Bilder R.M., Torsheim T., Aboujaoude E. The Bergen Shopping Addiction Scale: reliability and validity of a brief screening test. *Front Psychol.* 2015 Sep 17; 6:1374. doi: 10.3389/fpsyg.2015.01374.
13. Domoff S.E. Dutch Eating Behavior Questionnaire (DEBQ). *Encyclopedia of Feeding and Eating Disorders.* Singapore: Springer Singapore. 2015. P. 1–2.
14. Carnes P.J., Green B.A., Merlo L.J., Polles A., Carnes S., Gold M.S. PATHOS: a brief screening application for assessing sexual addiction. *J Addict Med.* 2012 Mar; 6(1):29–34. doi: 10.1097/ADM.0b013e3182251a28.
15. Лаборатория психотехники. Тест на любовную зависимость, любовную аддикцию [Интернет]. URL: <http://www.psi-test.ru/sex/love-addict.html> (дата обращения: 16.11.2019).
16. Тестометрика. Шкала депрессии Бека. Тест Бека [Интернет]. URL: <https://testometrika.com/depression-and-stress/depression-scale-beck/> (дата обращения: 16.11.2019).

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА РЯДА БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ, ВЫЯВЛЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ, ПРИ БИПОЛЯРНОМ АФФЕКТИВНОМ РАССТРОЙСТВЕ

А.А. Серегин¹, Л.П. Жакова²

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия²

Аннотация

В работе проанализирован белковый спектр сыворотки крови 45 пациентов с диагнозом биполярное аффективное расстройство (БАР) в возрасте 32 [21; 52] года с длительностью заболевания 8 [5; 11] лет. Группу контроля составили 35 психически и соматически здоровых добровольцев, соответствующих по полу и возрасту группе больных. Сыворотка крови исследуемых лиц очищалась при помощи аффинной хроматографии от 6 мажорных белков. Затем белки разделяли электрофорезом в 12 % полиакриламидном геле по методу Леммли, и после трипсинолиза в геле образцы подвергались масс-спектрометрии. Идентификация белков проводилась с использованием поисковой машины Mascot. Результаты проверялись на достоверность при помощи непараметрического точного критерия Фишера с поправкой Йетса. У больных БАР были выявлены 4 белка, не встречающихся или почти не встречающихся у здоровых лиц: плектин, z-1 субъединица глутаматного NMDA-рецептора (zNMDAR), белок фактора роста эндотелия сосудов 1 (VGER1) и кадгерин-5. Для количественной оценки трех из этих белков использовался метод ИФА с помощью наборов фирмы Cloud-Clone Corp. По результатам ИФА выявлено, что уровень (zNMDAR) в сыворотке крови больных в 5,3 раза превышал уровень этого белка у здоровых лиц. Также было обнаружено статистически значимое увеличение концентрации кадгерина-5 у больных БАР (3,504 [2,089; 6,348] нг/мл) в сравнении со здоровыми лицами (2,727 [1,913; 4,841] нг/мл). Результаты измерения концентрации VGER1 в сыворотке крови больных БАР и здоровых лиц не показали достоверных различий между группами. Достоверность различий проверяли непараметрическим U-критерием Манна-Уитни. Выявленные белки, показавшие увеличение их уровня в сыворотке крови, могут претендовать на роль биомаркеров БАР и могут быть использованы при разработке новых параклинических критериев дифференциальной диагностики. Кроме того, дальнейшее изучение этих белков, может помочь в раскрытии неясных моментов патогенеза этого психического расстройства.

Ключевые слова: протеомика, биомаркеры, биполярное аффективное расстройство, сыворотка крови.

QUANTITATIVE EVALUATION OF A NUMBER OF SERUM PROTEINS IDENTIFIED BY MASS SPECTROMETRY, IN BIPOLAR DISORDER.

A.A. Seregin¹, L.P. Zhakova²

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, the protein spectrum of the blood serum of 45 patients with a diagnosis of bipolar affective disorder (BD) was analyzed. The age of the patients was 32 [21; 52] years and the duration of the disease was 8 [5; 11] years. The control group consisted of 35 healthy volunteers corresponding to the group of patients by sex and age. Blood serum was purified by affinity chromatography from 6 major proteins. Then the proteins were separated by electrophoresis in a 12% polyacrylamide gel according to the Lemmley method. After trypsinolysis in gel, the samples were subjected to mass spectrometry. Protein identification was performed using the Mascot search engine. The results were checked for reliability using Fisher's nonparametric exact test with Yates correction. In patients with BD, 4 proteins were found that were not found or almost never found in healthy individuals: plectin, glutamate [NMDA]-receptor subunit zeta -1 (zNMDAR), vascular endothelial growth factor receptor 1 (VGER1) and cadherin-5. For quantitative evaluation of these three proteins used ELISA method using Cloud-Clone Corp. company sets. According to the ELISA, it was found that the level (zNMDAR) in the blood serum of patients was 5.3 times higher than the level of this protein in healthy individuals. A statistically significant increase in the concentration of cadherin-5 was also found in patients with BD (3,504 [2,089; 6,348] ng / ml) compared with healthy individuals (2,727 [1,913; 4,841] ng / ml). The results of measuring the concentration of VGER1 in the blood serum of patients with BD and healthy individuals did not show significant differences between the groups. The validity of the ELISA was checked by the nonparametric Mann-Whitney U-test. Proteins revealed by us, which showed an increase in blood serum concentration, can claim the role of biomarkers of BD and can be used to develop new paraclinical criteria for differential diagnosis of BD. In addition, further study of the proteins identified by us can help in revealing unclear aspects of the pathogenesis of this mental disorder.

Key words: proteomics, biomarkers, bipolar disorder, serum proteins, peripheral biomarkers.

Актуальность

Биполярное аффективное расстройство (БАР) нередко имеет сходную клиническую картину с другими психическими расстройствами (ПР), а параклинические критерии дифференциальной диагностики для этих расстройств отсутствуют [1, 2]. Это связано с недостаточным пониманием молекулярных механизмов патогенеза БАР. В последние годы повысился интерес к протеомным исследованиям при ПР и стали интенсивно проводиться исследования в этом направлении [3–8]. Выявление белка-маркера, или регуляторных белков, участвующих в патогенезе БАР, в доступном для использования в диагностических целях биоматериале – сыворотке крови – максимально приблизит нас к пониманию специфических патогенетических механизмов этого расстройства и может послужить основой для новых методов дифференциальной диагностики и разработки новых, патогенетически обоснованных, лекарственных средств.

Материал и методы

В работе анализировали белковый спектр сыворотки крови 45 пациентов с БАР, поступивших в стационар в фазе депрессивного эпизода в возрасте 32 [21;52] года с длительностью заболевания 8 [5;11] лет. Больные были госпитализированы в остром состоянии и забор крови производили до начала терапии. Группу контроля составили 35 психически и соматически здоровых добровольцев, соответствующих по полу и возрасту обследуемой группе. Для масс-спектрометрического исследования были отобраны 8 больных БАР и 5 здоровых лиц. Работа выполнена с соблюдением протокола, утвержденного комитетом по биомедицинской этике НИИ психического здоровья Томского НИМЦ и в соответствии с Хельсинской декларацией для экспериментов, включающих людей. Забор биологического материала – сыворотки крови – проводился из локтевой вены утром натощак. Далее сыворотка при помощи аффинной хроматографии очищалась от 6 мажорных белков (альбумин, иммуноглобулин G, иммуноглобулин A, антитрипсин, трансферрин и гаптоглобин) на хроматографе АКТА pure (GEHealthcare). После чего очищенные белки концентрировали до 1 мл с помощью ультрафильтрации через фильтры Amicon Ultra-0,5 (MILLIPORE) на 3 кДа и разделяли вертикальным электрофорезом в 12 % полиакриламидном геле по методу Леммли (Laemmli, U.K., 1970). Затем, после проведения трипсинолиза и экстракции пептидов из геля, белки идентифицировали при помощи ВЭЖХ/масс-спектрометрии на масс-спектрометре LTQ Velos (Thermo Scientific) на базе ЦКП «Протеом человека» ИБМХ РАМН им. Ореховича г. Москва. Идентификация белков проводилась путем поиска совпадения значений экспериментальных масс с массами белков, аннотированных в базе данных UniProtKB / Swiss-Prot (www.uniprot.org) с использованием поисковой машины Mascot (www.matrixscience.com). Результаты проверялись на достоверность при помощи непараметрического точного критерия Фишера с поправкой Йетса. Концентрацию кадгерина-5 определяли с помощью набора иммунофер-

ментного анализа (ИФА) ELISA Kit for Cadherin 5 (CDH5) 96 (Cloud-Clone Corp, США). Для количественной оценки рецептора фактора роста эндотелия сосудов 1 использовался набор ИФА «ELISA Kit for VEGF 1 from Homo sapiens (Human)» (Cloud-Clone Corp., USA). Для количественной оценки z-1 субъединицы глутаматного NMDA-рецептора использовался набор для количественного измерения ELISA Kit for Glutamate Receptor, Ionotropic, N-Methyl-D-Aspartate 1 (GRIN1) (Cloud-CloneCorp., USA). Достоверность результатов оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

Результаты

В предыдущей работе в результате масс-спектрометрического анализа сыворотки крови были выявлены 2 белка, не встречающихся или почти не встречающихся у здоровых лиц: плектин (Q15149)(Plec) и z-1 субъединица глутаматного NMDA-рецептора (H9FTE6) (NMDAR). В дальнейшем были выявлены ещё два белка: белок фактора роста эндотелия сосудов 1 (P17948) (VGER1) и кадгерин-5 (P33151). Для количественной оценки выявленных белков был использован метод ИФА. В результате статистической обработки результатов (табл. 1) выявлено, что у больных БАР уровень zNMDAR в сыворотке крови статистически значимо превышал уровень этого белка у здоровых лиц. NMDA-рецепторы обладают высокой чувствительностью к Ca^{2+} , и транспорт этих ионов через NMDAR возможен только при значительной деполяризации мембраны. Этот тип рецепторов вносит существенный вклад в обеспечение пластичности мозга и способен конвертировать специфические паттерны нейрональной активности в долговременные изменения синаптической структуры путем временной суммации и усиления вызванного потенциала, что, как предполагают, лежит в основе высших когнитивных функций [9]. Известно, что в маниакальную фазу БАР наблюдается повышенный уровень глутамата в левой дорсолатеральной префронтальной коре на фоне снижения плотности глутаматных NMDA рецепторов [10]. Вероятно, что увеличение потока Ca^{2+} в нейрон приводит к активации Ca^{2+} -зависимых ферментов, в том числе и протеинкиназы CaMK-II и окислительных процессов, нарушающих функциональную активность нейрона и приводящих к повреждению NMDAR, что, вероятно, и приводит к снижению их плотности. Обнаружение белка промежуточных филаментов – плектина – может указывать на повреждение нейронов, что вполне вероятно при нарушении его метаболизма, вызванного чрезмерной активацией протеинкиназы CaMK-II. Имеются данные, что применение антагонистов NMDAR показало антидепрессивный эффект в доклинических исследованиях [11]. Появлению субъединицы рецептора в крови способствует повреждение ГЭБ. Также обнаружено статистически значимое увеличение содержания кадгерина-5 в сыворотке крови больных БАР в сравнении со здоровыми лицами. Белок CADH5 является маркером эндотелиальной клетки и не содержится ни в каком другом типе клеток [12]. Изменение его количества может влиять на развитие эндотелиальной дисфункции и, как следствие, повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Было показано, что существует корреляционная связь между определёнными минорными аллельными вариантами кадгеринов и предрасположенностью к шизофрении и БАР [13]. Некоторые медиаторы воспаления, такие как обнаруженный в сыворотке крови белок VGER1, связываясь со своими рецепторами, могут нарушать организацию контактов эндотелиоцитов, тем самым способствуя прохождению белков плазмы через эндотелиальный барьер. Однако результаты измерения концентрации белка VGER1 в сыворотке крови больных БАР и здоровых лиц не показали достоверных различий между группами.

Выводы

В сыворотке крови больных БАР обнаружены 4 белка, не встречающихся у здоровых лиц: плектин, z-1 субъединица глутаматного NMDA-рецептора, белок фактора роста эндотелия сосудов 1 и кадгерин-5. Также методом ИФА выявлено увеличение количества z-1 субъединицы глутаматного NMDA-рецептора в сыворотке крови больных. Это свидетельствует о нарушении глутаматэргической нейротрансмиссии в патогенезе БАР. Обнаружение белка клеточного цитоскелета – плектина в сыворотке крови больных БАР значимо чаще, чем у здоровых лиц, может указывать на выраженное повреждение клеток. Методом ИФА обнаружено статистически значимое увеличение концентрации кадгерина-5 у больных БАР. Дальнейшее изучение выявленных нами белков, претендующих на роль биомаркеров БАР, может помочь в раскрытии неясных моментов патогенеза и разработке новых параклинических критериев дифференциальной диагностики БАР.

Работа выполнена в рамках государственного задания, тема НИР: «Комплексное исследование клинико-психопатологических закономерностей и патобиологических

механизмов формирования и прогрессивности социально значимых психических и поведенческих расстройств с разработкой инновационных методов ранней диагностики, персонализированных стратегий терапии и профилактики», регистрационный номер: АААА-А19-119020690013-2.

Таблица 1

Содержание изучаемых белков в сыворотке крови исследуемых групп

Группа	БАР (F31), Ме [Q ₂₅ ; Q ₇₅]	Контроль, Ме [Q ₂₅ ; Q ₇₅]	Mann-Whitney U Test
zNMDAR, нг/мл	0,64 [0,18;0,78]	0,12 [0,07;0,14]	p=0,037
VGER1, пг/мл	555,94 [499,12;716,28]	581,66[478,25; 708,13]	P>0,05
Кадгерин-5, нг/мл	3,504 [2,089; 6,348]	2,727 [1,913; 4,841]	P=0,017

ЛИТЕРАТУРА

1. Корнетов А.Н. Онтогенетические аспекты депрессивных расстройств. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2003; 103(8): 80–81.
2. Марусин А.В., Корнетов А.Н., Сваровская М.Г., Вагайцева К.В., Павленюк Е.С., Степанов В.А. Ассоциация генов подверженности к алкоголизму, шизофрении и болезни Альцгеймера с психодиагностическими признаками в популяции русских. Бюллетень сибирской медицины. 2016; 15(5): 83–96. doi: 10.20538/1682-0363-2016-5-83-96.
3. Смирнова Л.П., Логинова Л.В., Дмитриева Е.М., Серёгин А.А., Семке А.В., Симуткин Г.Г., Иванова С.А. Первые результаты сравнения протеомов сыворотки крови больных шизофренией и биполярным аффективным расстройством. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2016; 2(91): 42–47.
4. Логинова Л.В., Смирнова Л.П., Серёгин А.А., Дмитриева Е.М., Мазин Е.В., Симуткин Г.Г. К вопросу поиска биомаркеров при биполярном аффективном расстройстве. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2014; 3(49): 139–141.
5. 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/epr.10.97.
6. 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 Arch Gen Psychiatry. 2011 May; 68(5): 477–88. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2011.43.
7. 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.
8. 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
9. Traynelis S.F., Wollmuth L.P., McBain C.J., Menniti F.S., Vance K.M., Ogden K.K., Dingledine R. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. Pharmacol. Rev. 2010; 62: 405–496.
10. Fountoulakis K.N. The possible involvement of NMDA glutamate receptor in the etiopathogenesis of bipolar disorder. Curr Pharm Des. 2012; 18: 1605–1608.
11. Mlyniec K., Davies C.L., de Agüero Sánchez I.G., Pytko K., Budziszewska B., Nowak G. Essential elements in depression and anxiety. Part I. Pharmacol. Rep. 2014; 66(4): 534–544. doi: 10.1016/j.pharep.2014.03.001.
12. Lampugnani M.G., Resnati M., Raiteri M., Pigott R., Pisacane A., Houen G., Ruco L.P., Dejana E. A novel endothelial-specific membrane protein is a marker of cell-cell contacts. J Cell Biol. 1992 Sep; 118(6): 1511–22. doi: 10.1083/jcb.118.6.1511.
13. Lachman H.M. Copy variations in schizophrenia and bipolar disorder. Cytogenetic and genome research. 2008; 123; 1–4: 27–35.

КОРРЕКЦИЯ АГРЕССИВНОПОДОБНОГО ПОВЕДЕНИЯ МОДУЛИРОВАННЫМИ *IN VITRO* ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ

Е.В. Серенко, М.А. Княжева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Нейролептики достаточно широко используются для коррекции психомоторного возбуждения, в том числе и при аффективных расстройствах. Действие указанных препаратов проявляется, в частности, в достижении седативного эффекта. Однако при этом позитивное седативное действие нейролептиков сопровождается рядом побочных эффектов, таких как возникновение привыкания, зависимости, эндокринные нарушения, а также возможность индуцирования поздних психозов, утяжеляющих течение основного расстройства, что ограничивает возможности их применения и обуславливает поиск новых подходов к коррекции аффективных расстройств. С учетом тесной функциональной взаимосвязи нервной и иммунной систем возможным подходом к решению проблемы коррекции аффективных рас-

стройств может быть использование иммунокомпетентных клеток, продукты которых обладают психо- и нейротропным эффектом. Принимая во внимание установленную ранее способность клеток иммунной системы с определенной функциональной активностью к направленному изменению поведения экспериментальных животных, целью настоящего исследования был анализ психофизиологических показателей у экспериментальных животных после трансплантации иммунных клеток с модулированной *in vitro* нейрореплетиком функциональной активностью. Продemonстрировано, что модулированные экстракорпорально хлорпромазином иммунокомпетентные клетки агрессивноподобных мышей после трансплантации редактируют поведение сингенных реципиентов на фоне изменения в головном мозге ряда регуляторных цитокинов. Представленные результаты являются экспериментальным обоснованием перспективности применения модулированных нейрореплетиком иммунокомпетентных клеток с целью коррекции агрессивноподобного поведения.

Ключевые слова: агрессивноподобное поведение, иммунные клетки, хлорпромазин, головной мозг, цитокины.

CORRECTION OF AGGRESSIVE-LIKE BEHAVIOR BY *IN VITRO* MODULATED IMMUNE CELLS

E.V. Serenko, M.A. Knyazheva

Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia

Abstract

Antipsychotics are widely used to correct psychomotor agitation, including in affective disorders. The action of these drugs is manifested, in particular, in achieving a sedative effect. However, at the same time, the positive sedative effect of antipsychotics is accompanied by a number of side effects, such as the occurrence of addiction, addiction, endocrine disorders, as well as the possibility of inducing late psychoses that aggravate the course of the main disorder, which limits the possibility of their use and determines the search for new approaches to the correction of affective disorders. Given the close functional relationship of the nervous and immune systems, the use of immune cells whose products have a psycho and neurotropic effects can be a possible approach to solving the problem of correcting affective disorders. Taking into account the previously established ability of the immune system with a certain functional activity to directionally change the experimental animal's behavior, the aim of this study was to analyze the experimental animal's psychophysiological parameters after transplantation of the immune cells with functional activity modulated *in vitro* using an antipsychotic. It was demonstrated that aggressive-like mice immune cells, modulated extracorporeally with chlorpromazine, after the transplantation edit syngeneic recipient's behavior on the background of changes in the content of a number of regulatory cytokines in the brain. The presented results are an experimental justification for the prospect of using antipsychotic modulated immune cells in order to correct aggressive behavior.

Key words: aggressive-like behavior, immune cells, chlorpromazine, brain, cytokines.

Актуальность

Психоактивные препараты, применяемые для коррекции аффективных расстройств, достаточно эффективны, действие указанных препаратов проявляется, в частности, в достижении седативного эффекта. Однако при этом позитивное седативное действие нейрореплетиков сопровождается рядом побочных эффектов, таких как возникновение привыкания, зависимости, эндокринные нарушения, а также возможность индуцирования поздних психозов (психозов дофаминовой гиперчувствительности), возникающих при длительном приеме указанных препаратов и утяжеляющих течение основного расстройства, что ограничивает возможности применения антипсихотиков и обуславливает поиск новых подходов к коррекции аффективных расстройств.

В настоящее время известно, что иммунная система и ее клеточные элементы оказывают регулирующее влияние на функции центральной нервной системы. Установлено, что иммунокомпетентные клетки способны к регуляции поведенческих реакций как в норме, так и при нейроиммунной патологии, и их продукты обладают психо- и нейротропным эффектом [1–5]. Одновременно влияние большинства психоактивных веществ на клетки нервной и иммунной систем предполагает возможность использования иммунных клеток в психиатрии для коррекции расстройств с выраженным нейроиммунным компонентом в патогенезе.

С учетом вышеизложенного **целью** настоящего исследования явилась попытка редактирования агрессивноподобного поведения трансплантацией иммунокомпетентных клеток с модулированной *in vitro* нейролептиком функциональной активностью.

Материал и методы

В исследовании в качестве доноров и реципиентов использовались агрессивноподобные мыши-самцы (СВАхС57В1/6) F1 в возрасте четырех месяцев; средний вес животных составлял 20–25 граммов. Животных содержали в условиях лабораторного вивария по 10 особей в клетке, не менее 2 недель до начала экспериментов на стандартной диете, при свободном доступе к воде и нормальном световом режиме. Эксперимент проводился соответственно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986 г.), правилам лабораторной практики (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.06.2003, №267).

Агрессивноподобное поведение у мышей с высоким уровнем двигательной активности в «открытом поле» формировалось в результате длительного социального стресса (опыт побед в межсамцовых конфронтациях в течение 11 дней). Ориентировочно-исследовательское поведение (ОИП) животных (до и после клеточной трансплантации) оценивали в тесте «открытое поле» [3]. Для трансплантации использовались спленоциты, которые выделялись в стерильных условиях и обрабатывались *in vitro* хлорпромазином из расчета 15×10^6 клеток / 150 мкг препарата в течение 25 минут. Концентрация препарата, применяемая при культивировании клеток, определялась путем перерасчета терапевтической дозы с учетом веса и особенностей метаболизма животных, а также предварительного тестирования [6]. Затем, после 3-кратного отмывания, прекультивированные с хлорпромазином спленоциты внутривенно вводили сингенным реципиентам в концентрации 15×10^6 клеток в объеме 0,3 мл физиологического раствора на одно животное. В группе контроля подготовка и трансплантация спленоцитов проводилась в аналогичных условиях эксперимента, за исключением того, что клетки культивировались без присутствия хлорпромазина.

Исследование пролиферативной активности трансплантируемых клеток после обработки *in vitro* хлорпромазином оценивали стандартным методом по включению в нуклеопротеидные фракции клеток радиоактивной метки (H^3 -тимидин). Результаты представляли в виде среднего счета в имп/мин.

Количественное содержание цитокинов оценивали методом ИФА (ELISA) с использованием компонентов к цитокинам мыши производства фирмы «R&D Systems» (Великобритания) согласно инструкции фирмы производителя. Чувствительность наборов для ИЛ-1 β не превышает 5 пг/мл, для ИЛ-6 – 2 пг/мл, для ФНО α – 1 пг/мл.

Статистическая обработка результатов производилась с применением парного критерия Манна-Уитни с использованием компьютерной программы «Statistica 10.0». Результаты представлены в виде $M \pm SD$. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Ранее были показаны особенности функциональной активности иммунокомпетентных клеток у экспериментальных животных с агрессивноподобным типом поведения [7]. Показано, что прекультивирование спленоцитов с хлорпромазином модулирует функциональную активность клеток, проявляющуюся в существенном снижении спонтанной пролиферативной активности ($628,9 \pm 204$ имп/мин и $144,0 \pm 47,6$ имп/мин в контрольной и опытной группах соответственно; $p < 0,05$).

Трансплантация модулированных хлорпромазином спленоцитов у мышей-реципиентов сопровождалась изменениями параметров ОИП, проявляющимися в снижении показателей горизонтальной двигательной активности, отражающей моторный компонент поведения (периферическая: $144,0 \pm 13,9$ и $70,7 \pm 9,9$ в контрольной и опытной группах соответственно; центральная: $8,0 \pm 4,0$ и $0,4 \pm 0,1$ в контрольной и опытной группах соответственно; суммарная: $152,0 \pm 17,9$ и $71,1 \pm 10,1$ в контрольной и опытной группах соответственно, $p < 0,01$), и вертикальной двигательной активности, отражающей исследовательский компонент поведения (свободные стойки: $0,8 \pm 0,2$ и $0,2 \pm 0,5$ в контрольной и опытной группах соответственно; стойки с опорой на стенку: $2,2 \pm 1,1$ и $0,7 \pm 0,1$ в контрольной и опытной группах соответственно; суммарная: $2,9 \pm 1,3$ и $1,0 \pm 0,6$ в контрольной и опытной группах соответственно, $p < 0,01$).

Указанные изменения в поведении реципиентов регистрировались на фоне достоверного повышения количественного содержания ряда регуляторных цитокинов в головном мозге. Так, регистрировалось изменение содержания в мозге цитокинов ИЛ-1 β ($82,7 \pm 24,1$ пг/мл и $135,4 \pm 37,8$ пг/мл в контрольной и опытной группах соответственно; $p < 0,01$), ИЛ-6

(170,3±74,4 пг/мл и 318,1±93,7 пг/мл в контрольной и опытной группах соответственно; $p < 0,01$), ФНО α (152,5±24,1 пг/мл и 202,9±45,9 пг/мл в контрольной и опытной группах соответственно; $p < 0,01$). Принимая во внимание существенную роль указанных цитокинов в реализации поведенческих реакций, как в норме, так и при различных патологических состояниях [1, 2, 3, 8; 9, 10], в том числе и при формировании агрессивноподобного поведения [11–13], изменение их содержания в головном мозге реципиентов может быть одним из механизмов продемонстрированного редактирования агрессивноподобного поведения модулированными психоактивным веществом иммунными клетками.

Выводы

1. Обработка спленцитов агрессивноподобных животных *in vitro* нейрорепрессором хлорпромазином изменяет функциональную активность клеток, проявляющуюся в снижении пролиферативной активности.

2. Трансплантация модулированных хлорпромазином спленцитов сопровождается редактированием агрессивноподобного поведения у реципиентов, регистрируемым на фоне повышения в головном мозге цитокинов ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-6.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ader R. Psychoneuroimmunology. University of Chicago Press. 2007; 1: 1269 p.
2. Straub R.H., Cutolo M. Psychoneuroimmunology-developments in stress research. Wien Med. Wochenschr. 2018; 168(3–4):76–84.
3. Маркова Е.В., Абрамов В.В., Козлов В.А. Имунокомпетентные клетки и регуляция поведения у животных. Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2007; 27(2): 6–9.
4. Маркова Е.В. Иммунная система и высшая нервная деятельность. Механизмы нейроиммунных взаимодействий в реализации и регуляции поведенческих реакций. Saarbrücken, 2012. 260 с.
5. Markova E., Shevela C., Ostanin A., Knyazheva M., Savkin I., Chernykh E. New experimental approach to immunotherapy of depression based on M2-macrophages. European Psychiatry. 2019; 56S: 123.
6. Фомичева М.А., Маркова Е.В., Абрамов В.В., Козлов В.А. Влияние трансплантации спленцитов, обработанных аминазином, на поведенческие и иммунологические параметры у животных. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2009; S2 (24): 56–57.
7. Маркова Е.В., Князева М.А., Рюмина Т.В., Козлов В.А. Особенности функционирования клеток иммунной системы у особей с агрессивным и депрессивноподобным типами поведения. В мире научных открытий. 2014; 8(56): 131–147.
8. Miller A.H., Raison C.L. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. Nat. Rev. Immunol. 2016; 16(1): 22–34.
9. Capuron L., Miller A.H. Immune system to brain signaling: neuropsychopharmacological implications. Pharmacol. Ther. 2011; 130(2): 226–238.
10. Маркова Е.В., Князева М.А., Козлов В.А. Клеточные механизмы нейроиммунных взаимодействий в регуляции ориентировочно-исследовательского поведения. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2013; 1(76): 49–52.
11. Idova G.V., Gevorgyan M.M., Al'perina E.L., Zhanaeva S.Y., Markova E.V. Cytokine production by splenic cells in c57bl/6j mice with depression-like behavior depends on the duration of social stress. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2018; 164(5): 645–649.
12. Alperina E., Idova G., Zhukova E., Zhanaeva S., Kozhemyakina R. Cytokine variations within brain structures in rats selected for differences in aggression. Neuroscience Letters. 2019; 692: 193–198.
13. Coccaro E.F., Lee R., Coussons-Read M. Cerebrospinal fluid in inflammatory cytokines and aggression in personality disordered subjects. Int J Neuropsychopharmacol. 2015 Feb 3; 18(7): pyv001. doi: 10.1093/ijnp/pyv001.

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ЭТАНОЛИНДУЦИРОВАННЫХ НАРУШЕНИЙ ПОВЕДЕНИЯ У БЕЛЫХ АУТБРЕДНЫХ МЫШЕЙ В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТА

Д.А. Смолянкин, С.С. Байгильдин, Д.Д. Каримов, М.М. Зиатдинова,
Э.Р. Кудояров, Т.Г. Якупова

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», г. Уфа, Россия

Аннотация

Тенденция к увеличению потребления алкоголя наблюдается во всем мире. Злоупотребление алкоголем является одним из важнейших факторов, влияющих на возникновение структурных и функциональных изменений в различных органах и системах организма. В центральном и периферическом отделах нервной системы отсутствуют эффективные механизмы элиминации этанола и продуктов его метаболизма, поэтому они являются наиболее незащищенными структурами при алкогольной интоксикации. Употребление алкоголя пагубно влияет на все вегетативные и психические процессы организма. Оценка механизмов действия нейротоксикантов, включая этанол, идентифицированных поведенческими методами и оцененных на клеточном и молекулярном уровнях, обеспечивает понимание явлений в нервной системе, приводящих к неврологической дисфункции. Для оценки индивидуальных особен-

ностей интактных животных используется один из наиболее широко применяемых для исследования нейроэтологических (психофизиологических) показателей тест «открытое поле». Тестирование животных позволяет получить ряд характеристик, отражающих особенности поведения, эмоциональности, вегетативного баланса. В экспериментах с длительной алкогольной интоксикацией использовали 30 (по 10 в каждой группе) белых аутбредных мышей-самцов массой 15–20 г, содержащихся на стандартном сбалансированном рационе вивария. 20 % раствор этанола служил единственным источником питья. Контрольная группа животных (n=10) имела свободный доступ к дистиллированной воде. Продолжительность исследования составила от 1 до 3 мес. По окончании индивидуального срока алкоголизации для каждой опытной группы, животных тестировали с использованием классической методики «открытое поле» (ОП). Регистрировали изменения горизонтальной двигательной активности (ГДА), вертикальной двигательной активности (ВДА), «норковый рефлекс» (НР). Показатели горизонтальной активности характеризуют реакцию ориентировки в пространстве и поисковую функцию; ВДА выявляет стойкие индивидуальные черты «неспецифической возбудимости»; «норковый рефлекс» характеризует степень адаптации в новых условиях. Сопоставление данных указывает, что в наибольшей степени токсическому действию этанола подвержена ориентировочно-исследовательская деятельность животных. Депримирующее действие алкоголя негативно сказывается на психоэмоциональном статусе.

Ключевые слова: этанол, метод «открытое поле», горизонтальная двигательная активность, вертикальная двигательная активность, «норковый рефлекс».

STUDY OF THE FEATURES OF ETHANOL-INDUCED BEHAVIORAL DISORDERS IN WHITE OUTBRED MICE IN THE DYNAMICS OF THE EXPERIMENT

D.A. Smolyankin, S.S. Baygildin, D.D. Karimov, M.M. Ziatdinova, E.R. Kudoyarov, T.G. Yakupova

Federal State Budgetary Institution «Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology», Ufa, Russia

Abstract

A trend towards an increase in alcohol consumption is observed worldwide. Alcohol abuse is one of the most important factors affecting the occurrence of structural and functional changes in various organs and systems of the body. In the central and peripheral parts of the nervous system, there are no effective mechanisms for the elimination of ethanol and its metabolic products; therefore, they are the most unprotected structures during alcohol intoxication. Drinking alcohol adversely affects all the vegetative and mental processes of the body. Evaluation of the mechanisms of action of neurotoxicants, including ethanol, identified by behavioral methods and evaluated at the cellular and molecular levels, provide an understanding of the phenomena in the nervous system leading to neurological dysfunction. To assess the individual characteristics of intact animals, one of the most widely used for the study of neuroetological (psychophysiological) indicators is used - the "open field" test. Animal testing allows you to get a number of indicators that reflect the characteristics of behavior, emotionality, vegetative balance. In experiments with prolonged alcohol intoxication, 30 (10 in each group) white outbred male mice weighing 15-20 g contained in a standard balanced diet of vivarium were used. A 20% ethanol solution served as the sole source of drinking. The control group of animals (n = 10) had free access to distilled water. The duration of the study ranged from 1 to 3 months. At the end of the individual alcoholization period for each experimental group, animals were tested using the classic Open Field (OP) technique; recorded changes in horizontal motor activity (GDA), vertical motor activity (VDA), "mink reflex" (NR). Indicators of horizontal activity characterize the orientation reaction in space and the search function; VDA reveals persistent individual traits of "nonspecific excitability"; "Mink reflex" characterizes the degree of adaptation in new conditions. A comparison of the data indicates that the orienting and research activity of animals is most affected by ethanol. The depressing effect of alcohol negatively affects the psycho-emotional status.

Key words: ethanol, open field method, horizontal motor activity, vertical motor activity, mink reflex.

Актуальность

Злоупотребление алкоголем является одним из важнейших факторов, влияющих на возникновение структурных и функциональных изменений в различных органах и системах организма. В центральном и периферическом отделах нервной системы отсутствуют эффективные механизмы элиминации этанола и продуктов его метаболизма, поэтому они являются наиболее незащищенными структурами при алкогольной интоксикации.

Для оценки индивидуальных особенностей интактных животных используется один из наиболее широко применяемых для исследования нейроэтологических (психофизиологических) показателей – тест «открытое поле» [1, 2]. Как правило, ориентировочно-исследовательская реакция грызунов оценивается по горизонтальной и вертикальной двигательной активности, времени реакции обнюхивания [3–5]. Все эти показатели изменяются при введении в организм различных нейротропных фармакологических препаратов [6, 7]. В связи с этим **целью исследования** явилась оценка особенностей некоторых поведенческих реакций и психоэмоционального статуса белых беспородных мышей с учетом нарушений, вызванных продолжительным приемом этанола.

Материал и методы

В экспериментах с длительной алкогольной интоксикацией использовали 30 (по 10 в каждой группе) белых аутбредных мышей-самцов массой 15–20 г, содержащихся на стандартном сбалансированном рационе вивария. 20 % раствор этанола служил единственным источником питья. Контрольная группа животных ($n=10$) имела свободный доступ к дистиллированной воде. Продолжительность исследования составила от 1 до 3 мес. По окончании индивидуального срока алкоголизации для каждой опытной группы животных тестировали с использованием классической методики «открытое поле» (ОП).

Установка теста ОП представляла собой арену с высокими стенками. Полом служил лист белого пластика, на который черной краской была нанесена решетка, делящая поле на равные квадраты с отверстиями по центру («норки»).

При тестировании животных помещали в центр установки. В течение 5 мин подсчитывали параметры моторного и исследовательского компонентов поведения мышей: число пересеченных квадратов четырьмя лапами как показатель горизонтальной двигательной активности (ГДА), число вертикальных стоек — показатель вертикальной двигательной активности (ВДА), определяли число заглядываний в отверстия – «норковый рефлекс» (НР). После исследования животных возвращали в клетку, пол арены тщательно протирали.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали статистически с помощью пакетов анализа данных программы IBM SPSS Statistics 21 с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Различия считались достоверными при вероятности ошибки $p < 0,05$.

Результаты

Алкоголизация опытных групп мышей путем продолжительного приема этанола привела к существенным изменениям их психоэмоционального статуса.

При анализе средних значений ГДА в группах были показаны достоверные различия ($F=8,99$; $p \leq 0,01$). По показателям горизонтальной активности, характеризующей реакцию ориентировки в пространстве и поисковую функцию, у животных 1–3 групп наблюдалось уменьшение количества пересеченных квадратов в сравнении с контрольной группой (рис.1).

Так, количество пересеченных квадратов животными контрольной группы составляло $39,2 \pm 3,1$. По истечении 1 мес. исследования эта величина была равна $20,0 \pm 4,7$ квадратам, после 2 мес – $33,2 \pm 4,5$. На 3-й мес наблюдений число пересеченных квадратов на арене ОП снижалось до $10,4 \pm 2,5$.

В сочетании с «горизонтальной активностью» ВДА выявляет стойкие индивидуальные черты «неспецифической возбудимости» [8]. В контрольной группе животных ВДА составляла $10,5 \pm 0,7$ стоек после 1 мес алкоголизации мышей этанолом $8,4 \pm 2,2$ (рис.2). В динамике эксперимента тенденция снижения количества вертикальных стоек сохранялась: на 2-й и 3-й мес было зарегистрировано соответственно $6,4 \pm 1,4$ и $5,6 \pm 0,8$ эпизодов. Статистически во всех 4 группах были показаны достоверные различия ($F=4,16$; $p=0,01$).

«Вертикальная активность» отражала в большей степени исследовательскую деятельность и, по-видимому, доминирование животного в популяции, степень его агрессивности [9].

«Норковый рефлекс», один из показателей поведенческих реакций у грызунов, характеризует степень адаптации в новых условиях. При визуальной регистрации эпизодов обследования специальных отверстий на арене ОП было установлено, что контрольные животные в течение 3 мин заглядывали в «норки» $9,2 \pm 0,9$ раз; после 1 мес. эксперимента этот показатель в опытной группе снижался до $6,4 \pm 1,8$. На 2-й и 3-й мес ситуация с уменьшением эпизодов НР сохранялась: $5,4 \pm 1,4$ и $3,6 \pm 1,1$, соответственно. Между группами были показаны достоверные различия: $F=3,61$; $p=0,02$ (рис.3).

Выводы

Анализ полученных данных указывает, что под действием этанола в наибольшей степени токсическому действию подвержена ориентировочно-исследовательская активность: с по-

мощью теста «открытое поле» зарегистрировано снижение параметров ГДА и ВДА, «норкового рефлекса» по сравнению с контрольной группой животных. Отсутствие двигательной активности в тесте ОП рассматривается как индикатор состояния сильного стресса, что проявлялось в уменьшении количественных показателей метода. Полученные результаты согласуются с данными литературы [10]. Депримирующее действие алкоголя негативно сказывалось на психоэмоциональном статусе мышей. Таким образом, проведенные исследования позволили констатировать, что у экспериментальных групп животных, подвергшихся алкоголизации 20 % раствором этанола, продолжительностью от 1 до 3 мес, наблюдались поведенческие нарушения, обусловленные нейротоксическим действием алкоголя.

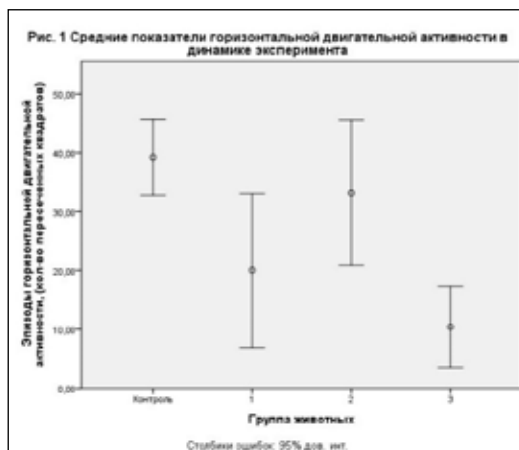


Рис. 1. Средние показатели горизонтальной двигательной активности в динамике эксперимента

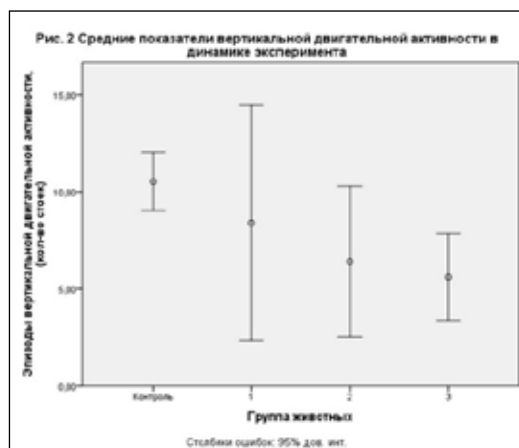


Рис. 2. Средние показатели вертикальной двигательной активности в динамике эксперимента

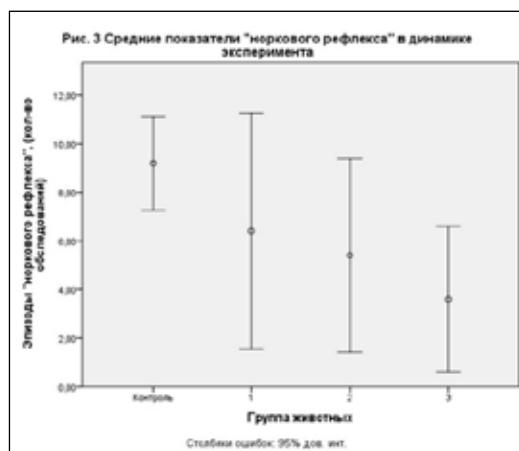


Рис. 3. Средние показатели «норкового рефлекса» в динамике эксперимента

ЛИТЕРАТУРА

1. Hall C. Emotional behavior in the rat: Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. J. Comp. Psychol. 1934; 18: 385–403.
2. Hall C. Emotional behavior in the rat: The relation ship between emotionality and ambulatory activity. J. Comp. Psychol. 1936; 22: 345–352.
3. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005. 832 с.
4. Буслович С.Ю., Котеленец А.И., Фридлянд Р.М. Интегральные методы оценки поведения белых крыс в открытом поле. Журн. высш. нерв. деят. 1989; 39(1):168–171.
5. Sáenz J.C.B., Villagra O.R., Trias J.F. Factor analysis of Forced Swimming Test, Sucrose Preference stand Open Field test in enriched, social and isolate bred rats. Behavioural Brain Research. 2006; 169(1): 57–65.
6. Исмаилова Х.Ю., Агаев Т.М., Семенова Т.П. Индивидуальные особенности поведения: (моноаминергические механизмы). Баку: Нурлан, 2007. 228 с.
7. Яременко И.В. Адаптогены как средства профилактической медицины. Томск: Изд-во Томского ун-та. 1990. 96 с.
8. Lat J., Gollova-Hemon E. Permanent effects of nutritional and endocrinological intervention in early ontogeny on the level of non-specific excitability and on lability (emotionality). Ann. N. Y. Acad. Sci. 1969; 159: 710–720.
9. Ivinkis A. A study of validity of open-field measures. Austral J Psychol. 1970; 22: 175–183.
10. Майоров О.Ю. Оценка индивидуально-типологических особенностей поведения и устойчивости интактных белых крыс-самцов на основе факторной модели нормального этологического спектра показателей в тесте «открытое поле». Клиническая информатика и телемедицина. 2011; 7(8): 21–32.

НОЗОГЕННЫЕ РЕАКЦИИ У ЖЕНЩИН, СТРАДАЮЩИХ ОНКОПАТОЛОГИЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.В. Тарасова

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

Аннотация

В статье представлены результаты исследования нозогенных реакций у женщин, страдающих доброкачественными и злокачественными новообразованиями молочной железы. Приведены данные о психическом состоянии пациенток до и после проведенного лечения с акцентом на психотерапевтический комплекс.

Ключевые слова: рак молочной железы, нозогенные реакции, психотерапия.

NOSOGENIC REACTIONS IN WOMEN SUFFERING FROM ONCOLOGICAL PATHOLOGY OF BREAST

A.V. Tarasova

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

Abstract

The article presents the results of a study of nosogenic reactions in women suffering from benign and malignant neoplasms of breast. The data on the mental state of patients before and after the treatment with an emphasis on the psychotherapy are presented.

Key words: breast cancer, nosogenic reactions, psychotherapy.

Введение

Несмотря на активное развитие медицины, в настоящее время наблюдается сохраняющийся рост уровня заболеваемости и смертности в связи со злокачественными новообразованиями. Одним из самых распространенных видов онкопатологии много лет остается рак молочной железы. На этом фоне растет и количество нервно-психических расстройств среди пациентов данной группы. Все больше и больше работ посвящается исследованию психологических реакций пациентов, которым диагностировали рак (нозогенных реакций) [1, 2]. Но не стоит забывать, что даже консультация и обследование у онколога, не говоря о пребывании в онкологическом стационаре, это уже стрессовая ситуация для любого человека [3]. И многие пациентки с диагнозом доброкачественной опухоли молочной железы также

обращаются к психиатрам и психотерапевтам с жалобами тревожно-депрессивного круга и также нуждаются в специализированной помощи.

Цель исследования – изучить и сравнить структуру непсихотических психических расстройств у женщин, страдающих доброкачественными и злокачественными опухолями молочной железы, а также обеспечить высококвалифицированную медицинскую помощь с персонализированным психотерапевтическим сопровождением пациенток данных групп.

Методы исследования: клиничко-психопатологический, клиничко-динамический, психометрический.

Материал исследования: 2 группы пациенток в возрасте от 24 до 46 лет: 1) 36 пациенток, страдающих раком молочной железы; 2) 32 пациентки с доброкачественными опухолями молочной железы, – у которых были диагностированы нозогенные реакции в рамках психических расстройств тревожно-депрессивного спектра (рубрики F41 и F43 по диагностическим критериям МКБ-10).

Результаты

Состояние пациенток в наблюдаемых группах при обращении характеризовалось тревожно-фобической и депрессивной симптоматикой различной степени выраженности с инсомническими включениями и разнообразными психовегетативными проявлениями. Пациентки отмечали жалобы на протяжении от 3 до 6 месяцев. По шкале Спилбергера-Ханина ситуативная тревога составляла в 1 группе 40 ± 3 балла, во 2 – 45 ± 3 . По результатам шкалы работоспособности на первом этапе лечения в обеих группах отмечались высокие показатели хронической утомляемости, физиологического и когнитивного дискомфорта, а также низкая мотивация пациенток 1 группы к трудовой деятельности. Стоит отметить, что пациентки 2 группы были более фиксированы на ипохондрических переживаниях, диагноз рак представлялся им катастрофичным, страх его развития значительно снижал качество их жизни; тогда как пациентки 1 группы (с диагностированным злокачественным новообразованием) наряду с тревогой отмечали депрессивную симптоматику, а в беседах поднимали преимущественно экзистенциальные вопросы и проблемы семейных отношений. По диагностическим критериям МКБ-10 в 1 группе самый частый диагноз – другие реакции на тяжелый стресс (83 %); во 2 – другие смешанные тревожные расстройства (69 %). На начальном этапе лечения в обеих группах ведущим методом стала фармакотерапия (антидепрессанты, транквилизаторы), так как из-за выраженной тревоги проведение психотерапевтических мероприятий было затруднено. После достижения необходимого терапевтического эффекта в лечение включались различные психотерапевтические методики. Психотерапия проводилась индивидуально и в группах. Использовались методы когнитивно-поведенческой и личностно-ориентированной терапии, аутотренинг, визуализация, проективные методики, арт-терапия. На фоне проводимого лечения наблюдалась положительная динамика, которая отслеживалась как по редукции клинических проявлений, так и по психологическим шкалам: показатели шкалы Спилбергера-Ханина ситуативной тревоги значительно снизились (с 40 ± 3 до 25 ± 5 баллов в 1 группе, с 45 ± 3 до 27 ± 3 баллов во 2); изменения личностной тревоги были незначительны. Результаты шкалы работоспособности на 4 неделе лечения показали значительное снижение хронической утомляемости, редукцию физиологического и когнитивного дискомфорта, а также повышение мотивации пациентов к труду. В период завершения стационарного лечения основной акцент ставился на психосоциотерапевтических мероприятиях, пациенты готовились к поддерживающей терапии, осуществляемой после выписки.

Заключение

По результатам проведенного исследования можно сделать вывод о том, что для пациенток с диагнозом доброкачественной опухоли молочной железы характерна более выраженная тревожно-фобическая симптоматика, а для пациенток, страдающих раком груди, – тревожно-депрессивная. Испытуемые обеих групп отдавали предпочтение психотерапии и показывали хороший ответ на проводимые мероприятия. Таким образом, дальнейшее наблюдение за пациентами с онкопатологией и оказание им лечебно-профилактической помощи позволит более детально изучить особенности нозогенных реакций и повысить качество реабилитационных и превентивных мероприятий у женщин с доброкачественными и злокачественными новообразованиями молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kissane D.W., Maj M., Sartorius N. Depression and cancer. 2011. 244 p.
2. Смулевич А.Б., Иванов С.В., Самушия М.А. Патохарактерологическое предрасположение и формирование нозогенных (провоцированных соматическим заболеванием) психических расстройств. Психические расстройства в общей медицине. 2014; 2: 7–13.
3. Семке В.Я., Чойнзонов Е.Ц., Куприянова И.Е., Балацкая Л.Н. Развитие сибирской психоонкологии. Томск: Изд-во ТГУ, 2008. 198 с.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ТРИПТОФАНГИДРОКСИЛАЗЫ С АНТИПСИХОТИК- ИНДУЦИРОВАННОЙ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИЕЙ У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ

В.В. Тигунцев, Д.З. Падерина

Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук,
г. Томск, Россия

Аннотация

Лекарственно-индуцированная гиперпролактинемия на фоне приёма антипсихотических препаратов остаётся важной проблемой терапии психических расстройств. В основе патогенеза шизофрении, помимо дофаминергической системы, также существенную роль играет серотониновая. Кроме того, большинство антипсихотических препаратов оказывают влияние на метаболизм этого нейромедиатора. В биосинтезе серотонина ключевую роль играет фермент триптофангидроксилаза, кодируемый генами *TPH1* и *TPH2*, поэтому эти гены часто исследуются в сфере психофармакогенетики. Целью работы является изучение вклада полиморфных вариантов генов триптофангидроксилазы (*TPH1* и *TPH2*) в формирование гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии шизофрении. Нами было проведено молекулярно-генетическое исследование 446 больных шизофренией, получающих антипсихотическую терапию. На каждого пациента заполнялись шкала позитивных и негативных синдромов (PANSS), шкала оценки побочного действия (UKU) в модифицированном варианте карты стандартизированного описания больного шизофренией. ДНК из периферической крови выделялась стандартным фенол-хлороформным методом. Генотипирование проводилось по нескольким полиморфным вариантам генов *TPH1* (*rs1800532*, *rs7933505*, *rs684302*) и *TPH2* (*rs7305115*, *rs4290270*, *rs1386494*, *rs1487278*) методом цифровой полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПЦР в реальном времени. Концентрацию пролактина определяли методом твёрдофазного иммуноферментного анализа. На основании уровней пролактина в сыворотке крови пациенты были разделены на группы с гиперпролактинемией и без побочного эффекта. Дополнительно были выделены группы больных, принимающих галоперидол и рисперидон в качестве базовой терапии. В группах пациентов с нормальным и повышенным уровнем пролактина не было выявлено статистически значимых различий по частотам генотипов и аллелей изучаемых полиморфизмов. Была показана статистически значимая ассоциация аллеля С ($\chi^2=6,6$; $p=0,01$) и генотипа СТ ($\chi^2=7,9$; $p=0,016$) полиморфизма *rs1487278* гена *TPH2* с развитием гиперпролактинемии у пациентов, принимающих галоперидол. Вместе с тем, частоты встречаемости аллеля Т того же полиморфизма у тех же больных указывали на их протективный эффект.

Ключевые слова: шизофрения, фармакогенетика, гиперпролактинемия, катехол-О-метилтрансфераза, антипсихотики, одонуклеотидные полиморфизмы.

STUDY OF ASSOCIATION OF ALLELIC VARIANTS OF TRYPTOPHANHYDROXYLASE GENES WITH ANTIPSYCHOTIC-INDUCED HYPERPROLACTINEMIA IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

V.V. Tiguntsev, D.Z. Paderina

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

Abstract

Drug-induced hyperprolactinemia against the background of antipsychotic pharmacotherapy remains an important problem in the treatment of mental disorders. Serotonergic system plays an important role in the pathogenesis of schizophrenia, such as the dopaminergic system. In addition, most antipsychotic drugs affect the metabolism of serotonin. The tryptophan hydroxylase plays the key role in the serotonin biosynthesis. It is an enzyme encoded by the *TPH1* and *TPH2* genes; therefore, these genes are often studied in the field of psychopharmacogenetics. The aim of this work is to study the contribution of polymorphic variants of tryptophan

hydroxylase genes (TPH1 and TPH2) to the formation of hyperprolactinemia against the background of antipsychotic therapy of schizophrenia. We conducted a molecular genetic study of 446 schizophrenic patients receiving antipsychotic therapy. For each patient, the Positive and Negative Syndromes Scale (PANSS), the Side Effectiveness Rating Scale (UKU) were filled in a modified version of the standardized description card for a patient with schizophrenia. DNA was isolated by the standard phenol-chloroform method. Genotyping was carried out according to several polymorphic variants of the TPH1 (rs1800532, rs7933505, rs684302) and TPH2 (rs7305115, rs4290270, rs1386494, rs1487278) genes by the method of real-time digital polymerase chain reaction (PCR) and PCR Real Time. The prolactin concentration was determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Patients were divided into groups with hyperprolactinemia and no side effect on the grounds of serum prolactin levels. Additionally groups of patients taking haloperidol and risperidone as basic therapy were selected. In the group of patients with normal and elevated levels, there were no statistically significant differences in the frequencies of genotypes and alleles of the studied polymorphisms. A statistically significant association of the C allele ($\chi^2 = 6.6$; $p = 0.01$) and the CT genotype ($\chi^2 = 7.9$; $p = 0.016$) of the TPH2 gene rs1487278 polymorphism with the development of hyperprolactinemia in patients taking haloperidol was shown. Along with this, the frequencies of occurrence of the T allele in the same patients indicated their protective effect.

Key words: schizophrenia, pharmacogenetics, hyperprolactinemia, catechol-O-methyltransferase, antipsychotics, single nucleotide polymorphisms.

Актуальность

Основной группой психофармакологических средств, применяемых для лечения шизофрении, являются антипсихотические препараты (нейролептики) [1]. Одним из наиболее распространённых побочных эффектов антипсихотиков является гиперпролактинемия [2] – повышение уровня содержания пролактина в сыворотке крови выше референсных значений. Данный побочный эффект чаще встречается при использовании высокоэффективных, типичных антипсихотических средств (в 40–80 % случаев) [3,4], однако некоторые атипичные антипсихотические препараты, такие как рисперидон, также способны существенно повышать уровень пролактина [3,5,6].

В основе патогенеза шизофрении, помимо дофаминергической системы, также существенную роль играет серотониновая [7]. Кроме того, большинство антипсихотических препаратов оказывают влияние на метаболизм серотонина. Поэтому в области фармакогенетики внимание сосредоточено на изучении генов ферментов метаболизма серотонина – триптофангидроксилазы типов 1 и 2 (TPH1 и TPH2). Продукты этих генов являются членами семейства ароматических аминокислотных гидроксилаз. Кодированные белки катализируют первую и лимитирующую скорость стадию в биосинтезе серотонина.

Цель исследования – изучить вклад полиморфных вариантов гена катехол-О-метилтрансферазы в формирование гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии шизофрении.

Материал и методы

После получения информированного согласия было обследовано 446 пациентов (средний возраст $41,5 \pm 13,4$ года) с диагнозом шизофрении в соответствии с диагностическими критериями МКБ-10 (F20). Клиническая симптоматика оценивалась по шкале позитивных и негативных синдромов (Positive and Negative Syndrome Scale – PANSS), шкале оценки побочного действия (Udvalg for Kliniske Undersogelser Scale – UKU), на всех пациентов заполнялся модифицированный вариант карты стандартизированного описания больного шизофренией. ДНК выделялась стандартным фенол-хлороформным методом.

Генотипирование по полиморфным вариантам генов *TPH1* (rs1800532, rs7933505, rs684302) и *TPH2* (rs7305115, rs4290270, rs1386494, rs1487278) проводилось методом цифровой полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПЦР в реальном времени на амплификаторах StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, США) и QuantStudio™ 3D Digital PCR System Life Technologies (Applied Biosystems) с использованием наборов TaqMan Validated SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, США). Концентрацию пролактина определяли методом твёрдофазного 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.

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы SPSS 23.0. Распределение частот генотипов и аллелей проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия χ^2 .

Результаты

Исходя из полученных данных о содержании гормона пролактина в сыворотке крови, все пациенты с шизофренией были разделены на две группы: с гиперпролактинемией и с нормальной концентрацией пролактина.

В результате сравнения частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов *TPH1* и *TPH2* между группами пациентов с гиперпролактинемией и пациентов с нормальным уровнем пролактина не было выявлено статистически значимых различий.

Дополнительно были выделены группы пациентов, принимающих галоперидол и рisperидон в качестве базовой терапии, и разделены по уровню пролактина аналогичным образом. Была выявлена ассоциация полиморфного варианта *rs1487278* гена *TPH2* с уровнем сывороточного пролактина в группе больных, проходящих лечение галоперидолом (табл. 1).

Генотип СТ ($\chi^2=7,9$; $p=0,016$) данного полиморфизма преобладал у пациентов с повышенным уровнем пролактина (OR 2,04; 95 % CI: 1,04 – 4,00).

Также в этой группе статистически значимо чаще ($\chi^2=6,6$; $p=0,01$) встречался аллель С (OR 1,79; 95 % CI: 1,13 – 2,83), в то время как аллель Т был в большей степени присущ представителям группы с нормальным уровнем пролактина (OR 0,85; 95 % CI: 0,75 – 0,96).

Выводы

Исследование показало, что генотип СТ и аллельный вариант С полиморфного варианта *rs1487278* гена *TPH2* ассоциированы с развитием гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии галоперидолом, в то время как аллельный вариант Т того же полиморфизма обладает протективным эффектом.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-29-06035 «Новые подходы к фармакогенетике антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией».

Таблица 1

Сравнение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта *rs1487278* гена *TPH2* в группах пациентов с гиперпролактинемией (ГПРЛ) и без изучаемого побочного эффекта, принимающих галоперидол

Полиморфный вариант			С ГПРЛ (n, %)	Без побочного эффекта (n, %)	OR знач.	95 % CI	F	P
rs1487278	генотипы	TT	37 (48,0)	49 (71,0)	0,97	0,51 – 1,85	7,9	0,016
		CT	36 (46,8)	18 (26,1)	2,04	1,04 – 4,00		
		CC	4 (5,2)	2 (2,9)	0,54	0,09 – 3,07		
	аллели	T	110 (71,4)	116 (84,1)	0,85	0,75 – 0,96	6,6	0,01
		C	44 (28,6)	22 (15,9)	1,79	1,13 – 2,83		

ЛИТЕРАТУРА

1. Мосолов С.Н. Психозы дофаминовой гиперчувствительности на современном этапе антипсихотической фармакотерапии шизофрении: что нужно знать практикующему врачу. Современная терапия психических расстройств. 2018; 4: 41–49.
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: Типография «Иван Фёдоров», 2015. 28 с.
3. Ajmal A., Joffe H., Nachtigall L.B. Psychotropic-induced hyperprolactinemia: a clinical review. Psychosomatics. 2014; 55(1): 29–36.
4. Peuskens J., Pani L., Detraux J., De Hert M. The effects of novel and newly approved antipsychotics on serum prolactin levels: a comprehensive review. CNS Drugs. 2014; 28(5): 421–53.
5. Корнетова Е.Г., Микилев Ф.Ф., Лобачева О.А., Бородюк Ю.Н., Бойко А.С., Семке А.В. Клинические и иммунологические особенности гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией, принимающих рisperидон. Социальная и клиническая психиатрия. 2016; 26(1): 5–11.
6. Melmed S., Casanueva F.F., Hoffman A.R., Kleinberg D.L., Montori V.M., Schlechte J.A., Wass J.A., Endocrine Society. Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2011; 96(2): 273–88.
7. Иванова С.А., Бохан Н.А. Основные нейротрансмиттерные гипотезы шизофрении. Шизофрения: биопсихосоциальная модель и конституционально-биологический подход. Томск: Изд-во ООО «Интегральный Переплет», 2018; 85–104.

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА NOS3 И АНТИПСИХОТИК-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

Н.С. Фаттахов, А.С. Бойко, Д.А. Паршукова

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

Аннотация

Гиперпролактинемия является одним из наиболее частых нейроэндокринных побочных эффектов антипсихотической терапии при шизофрении. В данном исследовании впервые была выявлена достоверная ассоциация полиморфизма T-786C в области промотора гена NOS3 и риском развития антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией.

Ключевые слова: гиперпролактинемия, шизофрения, полиморфизм, ген.

ASSOCIATION STUDY OF NOS3 GENE POLYMORPHISMS AND ANTIPSYCHOTIC-INDUCED HYPERPROLACTINEMIA IN SCHIZOPHRENIA

N.S. Fattakhov, A.S. Boiko, D.A. Parshukova

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

Abstract

Annotation: This study first revealed a significant association between the polymorphic variant T-786C in the promoter region of the NOS3 gene and the development of antipsychotic-induced hyperprolactinemia in schizophrenia patients. Hyperprolactinemia is one of the most frequent neuroendocrine side effects of antipsychotic therapy in schizophrenia.

Key words: hyperprolactinemia, schizophrenia, polymorphism, gene.

Актуальность

Длительная антипсихотическая терапия, которая является основным методом лечения шизофрении, сопровождается различными побочными эффектами, наиболее частыми из которых являются гиперпролактинемия (ГП) и нарушения, входящие в структуру метаболического синдрома [1,2]. Длительно существующая ГП на фоне антипсихотической терапии может не только оказывать влияние на выраженность негативной симптоматики у больных шизофренией, но и способствовать развитию дополнительных соматических заболеваний. Относительно недавно было установлено, что пролактин обладает способностью регулировать сосудистый тонус за счет модулирования активности эндотелиальной NO-синтазы, изоформы фермента, отвечающего за синтез оксида азота [3,4]. Более того, для некоторых полиморфных вариантов в гене NOS3, кодирующем эндотелиальную NO-синтазу, ранее были показаны ассоциации с развитием различных метаболических расстройств как в общей популяции, так и у пациентов с шизофренией [5,6]. Исследование молекулярных механизмов развития ГП, вызываемой приемом антипсихотиков у больных шизофренией, имеет большую значимость в связи с существенным снижением качества жизни таких пациентов, что часто является причиной отказа от терапии.

Цель исследования – изучение ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов T-786C, G894T и C774T гена NOS3 с риском развития ГП у больных шизофренией на фоне антипсихотической терапии.

Материал и методы

Обследовано 170 больных шизофренией (103 мужчины и 67 женщин), проходивших стационарное лечение в отделении эндогенных расстройств клиники НИИ психического

здоровья ТНИМЦ. Все пациенты с шизофренией, включенные в исследование, были обследованы в динамике с использованием клинических, клинико-психопатологических и антропометрических методов. Определение концентрации пролактина в сыворотке крови, взятой утром натощак, проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов PRL Test System (Monobind Inc., США). Содержание нитритов в сыворотке крови было оценено спектрофотометрическим методом, основанным на реакции Грисса. Генотипирование осуществляли методом аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени с использованием амплификатора LightCycler 480 Instrument II («Roche», Швейцария) и коммерческих наборов для ПЦР, разработанных в компании ЗАО «Синтол» (Россия). Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы Statistica 10.0 (StatSoft, Tulsa, США).

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы Statistica 8.0 (США). Проверку соответствия распределения частот аллелей и генотипов равновесию Харди-Вайнберга, а также сравнение частот аллелей и генотипов в выборках проводили с применением критерия хи-квадрат. На основании данных о частотах генотипов в группах больных и здоровых доноров рассчитывали отношение шансов (ОШ). Значения $ОШ > 1$ указывают на возможную положительную ассоциацию аллеля или генотипа с симптомокомплексом.

Результаты

Обнаружено, что частота генотипа ТТ полиморфизма T-786C была статистически значимо ниже в группе больных шизофренией с ГП, чем у пациентов с шизофренией без нее ($P=0,028$). Частота генотипа ТС, напротив, была достоверно выше в группе больных шизофренией с ГП, чем у пациентов с шизофренией без нее ($P=0,019$). Расчет отношения шансов показал, что генотип ТС ассоциирован с повышенным риском развития ГП у больных шизофренией ($ОШ > 1$), а генотип ТТ — с пониженным риском ГП при шизофрении ($ОШ < 1$).

В результате сравнительного анализа содержания нитритов в сыворотке крови у больных шизофренией с ГП и без нее было выявлено повышение сывороточной концентрации нитритов у больных шизофренией при ГП по сравнению с больными шизофренией без ГП ($p=0,02$). Более того, корреляционный анализ позволил выявить сильную положительную корреляционную связь между сывороточными уровнями пролактина и нитритов ($r = 0,7; < 0,05$). Было выявлено, что полиморфные варианты гена *NOS3*, кодирующего фермент эндотелиальную NO-синтазу, протестированные нами ранее на ассоциацию с ГП при шизофрении, не ассоциированы с уровнем пролактина в сыворотке крови у больных шизофренией, получающих антипсихотическую терапию.

Выводы

1. Генотип ТС полиморфного варианта T-786C гена *NOS3* ассоциирован с повышенным риском развития ГП, индуцированной приемом антипсихотиков, у больных шизофренией, в то время как генотип ТТ данного полиморфного варианта ассоциирован с пониженным риском антипсихотик-индуцированной ГП.

2. Статистический анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфизмов G894T и C774T гена *NOS3* показал отсутствие ассоциаций данных вариантов с развитием ГП у больных шизофренией.

3. У больных шизофренией выявлена положительная корреляция содержания пролактина в крови с сывороточными уровнями нитритов.

4. У больных шизофренией не выявлено зависимости концентрации пролактина в крови от генотипов полиморфных вариантов T-786C, G894T и C774T гена *NOS3*.

Работа выполнена в рамках проекта «Разработка технологии прогноза побочных метаболических эффектов антипсихотической терапии при шизофрении на основе изучения роли эндотелиальной синтазы оксида азота» программы Президиума РАН № 1.42 «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий».

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванова С.А., Османова Д.З., Бойко А.С., Пожидаяев И.В., Федоренко О.Ю., Вялова Н.М., Полтавская Е.Г., Тигунцев В.В., Рейдин М.Б., Корнетова Е.Г., Семке А.В. Антипсихотик-индуцированная гиперпролактинемия: фармакогенетические аспекты. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2018; 2(99): 21–27.
2. Alosaimi F.D., Fallata E.O., Abalhassan M., Alhabbad A., Alzain N., Alhaddad B., Alassiry M.Z. Prevalence and risk factors of hyperprolactinemia among patients with various psychiatric diagnoses and medications. Int J Psychiatry Clin Pract. 2018; 22(4): 274–281.
3. Chang A.S., Grant R., Tomita H., Kim H.S., Smithies O., Kakoki M. Prolactin alters blood pressure by modulating the activity of endothelial nitric oxide synthase. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016; 113(44): 12538–12543.
4. Gonzalez C., Rosas-Hernandez H., Jurado-Manzano B., Ramirez-Lee M.A., Salazar-Garcia S., Martinez-Cuevas P.P., Velarde-Salcedo A.J., Morales-Loredo H., Espinosa-Tanguma R., Ali S.F., Rubio R. The prolactin family hormones regulate vascular tone through NO and prostacyclin production in isolated rat aortic rings. Acta Pharmacol Sin. 2015; 36(5): 572–586.

5. Fernandez M.L., Ruiz R., Gonzalez M.A., Ramirez-Lorca R., Couto C., Ramos A., Gutierrez-Tous R., Rivera J.M., Ruiz A., Real L.M., Grilo A. Association of NOS3 gene with metabolic syndrome in hypertensive patients. *Thromb Haemost.* 2004; 92(2): 413–418.
6. Burghardt K., Grove T., Ellingrod V. Endothelial nitric oxide synthetase genetic variants, metabolic syndrome and endothelial function in schizophrenia. *J Psychopharmacol.* 2014; 28(4): 349–356.

ПСИХОЛОГО-ПЕДАГОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОБУЧЕНИЯ СТУДЕНТОВ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Д.И. Фомин, Е.И. Погорелова, О.А. Панина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Воронеж, Россия

Аннотация

Сегодняшняя ситуация со здоровьем молодого поколения в России – это главная стратегическая проблема национальной безопасности [1–3]. Состояние психического и физического здоровья молодого поколения, отношение к своему здоровью, культура здорового образа жизни остаются особо важными проблемами в России в связи с недостаточно благоприятной экологической обстановкой, снижающей возможности иммунной системы, высокими показателями заболеваемости, в том числе сердечно-сосудистыми заболеваниями [4–7]. Современному обществу требуется такое развитие личности студента в процессе образования, которое даст возможность получать знания путем собственной познавательной активности, умения сочетать широкие общие знания с изучением большого количества дисциплин. Всё это влечет большие психологические нагрузки на студентов в процессе обучения в вузе и диктует поиск новых путей коррекции возникающих нарушений.

Ключевые слова: студенты, психическое здоровье, здоровый образ жизни.

PSYCHOLOGICAL AND PEDAGOGICAL ASPECTS OF STUDENT LEARNING IN MODERN CONDITIONS

D.I. Fomin, E.I. Pogorelova, O.A. Panina

Voronezh Medical University named after N.N. Burdenko of the Ministry of Health
of the Russian Federation, Voronezh, Russia

Abstract

The current health situation of the young generation in Russia is the main strategic problem of national security [1–3]. The state of mental and physical health of the young generation, attitude to their health, the culture of a healthy lifestyle remains especially important in Russia, because there is an insufficiently favorable ecological situation that reduces the capabilities of the immune system, high incidence rates, including cardiovascular diseases [4–7]. Modern society requires such a development of the student's personality in the educational process, which will enable high demand for knowledge through their own cognitive activity, the ability to combine broad general knowledge with the ability to comprehend a large number of disciplines. All this entails great psychological burdens on students in the process of studying at a university and dictates the search for new ways to correct violations that arise.

Key words: students, mental health, healthy lifestyle.

Актуальность

В настоящее время в современной российской науке одним из актуальных предметов исследования является здоровье человека [8]. В современном мире постоянно существует угроза психическому здоровью человека. В связи с этим в последнее десятилетие активно развивается направление исследования психического здоровья человека. Высокая загруженность на работе, транспортные проблемы, возрастающие требования, предъявляемые к профессионализму работающих, конкуренция, агрессивная подача окружающего мира средствами массовой информации – все эти факторы негативно влияют даже на самых стойких и

психически уравновешенных людей. Молодое поколение, обучающееся в высшем учебном заведении в настоящее время, является особой группой, которая подвержена воздействию как вышеперечисленных, так и специфических факторов, связанных с процессами обучения и особенностями выбранной профессии.

Сравнительно недавно в зарубежной, а затем и в отечественной литературе появилось понятие «эмоциональное выгорание», которое изначально рассматривалось как аспект профессиональной деформации и определялось как состояние изнеможения, истощения с ощущением собственной бесполезности.

Синдром эмоционального выгорания – это реакция организма, возникающая вследствие продолжительного воздействия психотравмирующего фактора. В результате такого воздействия первоначально возникает сильное эмоциональное возбуждение, которое вызывает, прежде всего, активацию высших вегетативных центров, в том числе эрготропных ядер гипоталамуса, в целом активирует симпатическую нервную систему. Это повышает функциональные возможности сердечно-сосудистой и дыхательной системы, скелетных мышц. Одновременно происходит повышение активности трофотропных ядер гипоталамуса, что увеличивает активность парасимпатической системы и тем самым обеспечивает высокие возможности восстановительных процессов, направленных на сохранение гомеостаза в организме. При дальнейшем воздействии стрессоров происходит выброс адреналина и норадреналина, в результате чего повышается артериальное давление, увеличивается сердечный выброс, снижается кровоток в неработающих мышцах и органах, возрастает уровень свободных жирных кислот, триглицеридов, холестерина, глюкозы. Если стрессор продолжает оказывать повреждающее воздействие, происходит повышение продукции кортизола, гидрокортизона и других глюкокортикоидов. Глюкокортикоиды вызывают значительное повышение энергетических запасов, в том числе глюкозы, и свободных жирных кислот. Однако чрезмерное выделение глюкокортикоидов приводит одновременно и к побочным нежелательным эффектам: значительно снижается интенсивность иммунных процессов в организме, возрастает риск образования язв желудка, патологии бронхолегочной системы, развития патологии сердечно-сосудистой системы и т.д. [9–12].

Появление синдрома эмоционального выгорания, встречающееся на этапе обучения в вузе, диктует необходимость разработки мер по предотвращению и устранению данных проявлений и повышению защиты организма от действия стрессовых факторов [13–16].

Цель – провести сравнительный анализ уровня психической напряженности студентов в два временных периода: после каникул и перед сессией, а также оценить влияние уровня психической напряженности на работоспособность.

Материал и методы

В исследовании принимали участие 98 студентов четвертого курса. Для анализа использовали шкалу психологического стресса PSM-25 и корректурную пробу Бурдона.

Результаты и обсуждение

На основании анализа полученных интегральных показателей психической напряженности испытуемых было выделено 5 групп студентов:

1 группа – 11 студентов (13 %) в течение семестра находились в состоянии психологической адаптированности к рабочим нагрузкам (низкий уровень стресса), в конце семестра их уровень стресса увеличился на 22 %, оставаясь при этом на нижней ступени шкалы;

2 группа – 17 студентов (20 %) в начале семестра находились в состоянии психологической адаптированности к рабочим нагрузкам (низкий уровень стресса), в конце семестра их уровень стресса повысился на 55 %, перейдя на среднюю степень шкалы;

3 группа – 41 студент (48 %) в течение семестра испытывали средний уровень стресса, при этом между двумя тестированиями показатель изменился незначительно – в среднем повысился на 7 %;

4 группа – 10 студентов (12 %) в начале семестра испытывали средний уровень стресса, который к концу семестра повысился на 27 %, перейдя на высшую ступень шкалы;

5 группа – 7 % студентов (6 человек) и после летнего отдыха, и во время зачетной сессии испытывали высокий уровень стресса, что свидетельствует о состоянии дезадаптации и психического дискомфорта, необходимости применения широкого спектра средств и методов для снижения нервно-психической напряженности, психической нагрузки, изменения стиля мышления.

Для изучения особенностей активного внимания использовали корректурную пробу Бурдона. Из 86 человек 63 % испытуемых первой группы продемонстрировали низкую устойчивость внимания: задание было выполнено в среднем на 75 % во время первого тести-

рования и на 70 % – во время второго. Во второй группе 58 % студентов проявили высокую устойчивость внимания – показатели выполнения заданий в среднем на 24 % выше нормы, но при этом разница между двумя тестированиями составила 19 % в сторону снижения. В третьей группе у 29 % студентов была отмечена высокая устойчивость внимания во время обоих испытаний, у 21 % – результат ухудшился и не достиг нормы. У 72 % испытуемых четвертой группы количество правильно выполненных заданий уменьшилось на 25 %, а у студентов пятой группы – в два раза.

Выводы

Результаты проведенного исследования показали, что в предэкзаменационный период показатель психического напряжения у студентов повышается в среднем на 24 %. У студентов, не испытывающих в это время переживаний (первая группа исследования), не происходит мобилизация и активация организма, что проявляется снижением внимания и, как результат, снижением успеваемости студентов. Студенты пятой условной группы исследования и большая часть (73 %) студентов четвертой группы, напротив, испытывают большое психическое напряжение, что является не столько следствием чрезмерного воздействия стрессоров, сколько неправильным результатом их когнитивной интерпретации. Состояние этих студентов, как показало исследование, также негативно сказывается на их работоспособности, и у них возникают сложности, связанные с накоплением знаний, необходимых для будущей профессиональной деятельности. Все это указывает на необходимость проведения специальных корректирующих мероприятий, которые должны быть согласованы с психотерапевтом или медицинским психологом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Толмачёва А.С., Сухарева Е.А., Панина О.А., Вертей В.С., Сергеева В.С., Степаненко А.В. Факторы, влияющие на состояние здоровья учащихся общеобразовательных школ: Материалы III межвузовской научно-практической конференции «Гигиенические и экологические аспекты профилактики заболеваемости на региональном уровне». 2018. С. 76–79.
2. Шелякина П.А., Волков А.В., Малеев Ю.В., Панина О.А. Изучение факторов риска и оценка риска сердечно-сосудистых заболеваний среди различных групп населения: Материалы XX Всероссийской студенческой научно-практической конференции Нижневартковского государственного университета. 2018; 47–49.
3. Русинов П.С., Шульга М.А., Панина О.А., Леднёв С.А. Здоровьесберегающие технологии в школе. Современные проблемы подростковой медицины и репродуктивного здоровья молодежи, 2018. С. 204–212.
4. Погорелова Е.И., Почивалов А.В., Панина О.А. Особенности иммунокорректирующей терапии в детском возрасте. Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств. Материалы 7-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2018». Воронежский государственный университет, 2018. С. 554–557.
5. Шевцов М.В., Шелякина П.А., Панина О.А., Шестоперстова Л.А., Хачикян Н.С., Хачикян А.С. Экологический компонент профессиональной компетенции как фактор повышения качества обучения студентов в медицинском вузе. Гигиенические и экологические аспекты профилактики заболеваемости на региональном уровне: Материалы III межвузовской научно-практической конференции. 2018. С. 56–61.
6. Шелякина П.А., Волков А.В., Малеев Ю.В., Панина О.А. Изучение факторов риска и оценка риска сердечно-сосудистых заболеваний среди различных групп населения. XX Всероссийская студенческая научно-практическая конференция Нижневартковского государственного университета: сборник статей. 2018. С. 47–49.
7. Шелякина П.А., Маргарян А.Р., Сергеева В.С., Панина О.А. Распространенность факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний у студентов. Молодежный инновационный вестник. 2018; 7(51): 101–102.
8. Литвиненко О.В., Шульга М.А., Бавыкин Д.В. Экологический компонент обучения в школе как основа формирования здорового образа жизни у подростков. Современные проблемы подростковой медицины и репродуктивного здоровья молодежи. Кротинские чтения: Сборник трудов 2-й Всероссийской научно-практической конференции. 2018. С. 195–203.
9. Почивалов А.В., Панина О.А., Погорелова Е.И. Эффективность наблюдения детей с заболеваниями органов дыхания в пульмонологическом центре. Прикладные информационные аспекты медицины. 2016; 19(4): 239–243.
10. Панина О.А. Особенности течения бронхиальной астмы у детей по данным клинических наблюдений. Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2016; 62.
11. Погорелова Е.И., Почивалов А.В., Звягин А.А., Панина О.А. Особенности местного иммунитета у детей с рекуррентными респираторными инфекциями на фоне атопического дерматита. Прикладные информационные аспекты медицины. 2017; 20(3): 105–109.
12. Панина О.А., Шульга М.А. Клинико-лабораторные особенности острых ларинготрахеитов у детей. Журнал инфектологии. 2018; 10(S4-1): 113.
13. Панина О.А. Роль экологического компонента профессиональной компетенции у студентов-медиков и пути его формирования. Медико-биологические и педагогические основы адаптации, спортивной деятельности и здорового образа жизни: сборник научных статей IV Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием. 2015. С. 568–573.
14. Бавыкина И.А., Бавыкин Д.В., Звягин А.А. Значение общекультурного развития, как фактора профессионального становления будущего врача. Современное состояние психологии и педагогики: сборник статей Международной научно-практической конференции. 2015. С. 33–35.
15. Панина О.А., Солунина М.А., Краснопольская А.М., Маховая Л.В., Исаева В.А. Роль инновационных образовательных технологий в обучении студентов медицинских вузов. Медицинское образование и профессиональное развитие. 2012; 3(9): 96–97.
16. Кособуцкая С.А., Крючкова А.В., Панина О.А., Полетаева И.А., Кондусова Ю.В. Роль пищевого поведения в формировании здорового образа жизни. Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. 2019; 77: 35–39.

ОБОСНОВАННОСТЬ ДИАГНОЗА УМЕРЕННАЯ УМСТВЕННАЯ ОТСТАЛОСТЬ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ В ПСИХОНЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ИНТЕРНАТАХ

Ю.В. Шапошникова, А.И. Косогова

КГБУЗ «Красноярский краевой психоневрологический диспансер №1», г. Красноярск, Россия

Аннотация

В данной работе рассмотрены проблемы гипердиагностики умеренной умственной отсталости в Красноярском крае у детей и подростков, находящихся в психоневрологических интернатах. Ранее диагноз умственная отсталость выставлялся на основании клинического осмотра, трудностей в усвоении образовательной программы. Выявление данного диагноза усиливается с началом обучения в школе, возникают сложности при усвоении учебной программы и нарушение социальной адаптации в школьной ситуации. Большинство детского населения с диагнозом умственная отсталость проживает в сельской местности, в социально неблагоприятных условиях, в силу данных причин дети не имеют возможности получить достаточный уровень знаний, имеют логопедические нарушения, в связи с возникшими сложностями имеют низкую учебную мотивацию. Во время проведения диспансеризации у детей-сирот, детей из психоневрологических интернатов в ходе клинического осмотра было заподозрено, что у части детей уровень интеллектуального развития не соответствует диагнозу умеренная умственная отсталость. В ходе дальнейшего клинко-патопсихологического обследования и определения уровня интеллектуального развития адаптированной стандартизированной методикой Векслера выявлено, что у части детей по результатам тестирования уровень интеллектуального развития находился в диапазоне легкой умственной отсталости ($IQ = 57-70$), диагноз умеренная умственная отсталость был изменен. Это может быть связано с тем, что дети, поступившие в психоневрологический интернат, находились в неблагоприятных социально-бытовых, санитарно-гигиенических условиях, имела место социально-педагогическая запущенность. В ходе пребывания в условиях интерната часть детей показывала более высокие результаты в интеллектуальной деятельности по сравнению со сверстниками, имеющими диагноз умеренная умственная отсталость. Сделаны выводы, что при выставлении данного диагноза должна быть проведена полноценная диагностика с учетом анамнестических данных, клинической картины, социально-бытовых, социально-гигиенических условий проживания детей. Для более достоверного определения уровня интеллектуального развития необходимо использовать адаптированные стандартизированные методики Векслера или Равена.

Ключевые слова: умственная отсталость, диагностика, психоневрологический интернат, интеллект, тест Векслера.

VALIDITY OF THE DIAGNOSIS OF MODERATE MENTAL RETARDATION IN CHILDREN AND ADOLESCENTS IN PSYCHONEUROLOGICAL BOARDING SCHOOLS

Yu.V. Shaposhnikova, A.I. Kosogova

KGBUZ «Krasnoyarsk regional psychoneurological dispensary No. 1», Krasnoyarsk, Russia

Abstract

This paper deals with the problems of hyperdiagnosis of moderate mental retardation in children and adolescents who are in psychoneurological boarding schools in the Krasnoyarsk region. Previously, the diagnosis of mental retardation was made on the basis of clinical examination, difficulties in learning the educational program. Identification of this diagnosis increases with the start of school, there are difficulties in learning the curriculum and violation of social adaptation in the school situation. The majority of children with a diagnosis of "Mental retardation" live in rural areas, in socially unfavorable conditions. For these reasons, they are not able to obtain a sufficient level of knowledge, have speech therapy disorders, and have low educational motivation due to the difficulties encountered. During the medical examination of orphans and children from psychoneurological boarding schools, during the clinical examination, it was suspected that some of the children's level of intellectual development does not correspond to the diagnosis of "Moderate mental retardation". In the course of further clinical and pathopsychological examination and determination of the level of intellectual development using the adapted standardized Wexler method, some children's intellectual

development level was in the range of mild mental retardation (IQ=57-70), the diagnosis of "Moderate mental retardation" was changed. This may be due to the fact that children those who were admitted to a psychoneurological boarding school were in unfavorable social and living, sanitary and hygienic conditions, and there was a social and pedagogical neglect. During their stay in a boarding school, some children showed higher results in intellectual activity compared to their peers who were diagnosed with "Moderate mental retardation". It is concluded that when making this diagnosis, a full-fledged diagnosis should be carried out, taking into account the anamnestic data, the clinical picture, taking into account the social and household, social and hygienic living conditions of children. For more reliable determination of the level of intellectual development, it is necessary to use adapted standardized methods of Wexler or Raven.

Key words: mental retardation, diagnostics, psychoneurological boarding school, intelligence, Wexler test.

Актуальность

Проблема умственной отсталости актуальна в настоящее время. «По данным Всемирной организации здравоохранения, а также ряда отечественных и зарубежных авторов, показатели распространенности умственной отсталости в популяции колеблются в пределах от 1 % до 3 % населения. В регионах, где имеет место воздействие экопатогенных факторов, а также наблюдаются изолированные социальные группы, распространенность данной патологии может достигать 7 %» [1]. «Выявление резко усиливается с началом обучения в школе, достигая пика в 10–15 лет, после чего постепенно снижается до 1 % в популяции. К подростковому возрасту спад диагностики связан с улучшением навыков адаптации, в некоторых случаях – с компенсацией временной задержки интеллектуального развития (например, из-за семейно-бытовой запущенности) и с менее интенсивным отслеживанием когнитивного дефицита. Умеренные и тяжелые формы расстройства равномерны во всех социальных слоях общества, тогда как легкие формы значительно доминируют в малообеспеченных семьях, в которых количество таких детей достигает 10–30 %. При социокультурно-обусловленной семейно-бытовой запущенности, недостаточности питания и несоблюдении санитарно-гигиенических норм частота расстройства повышается настолько, насколько это оказывается возможным» [2–4]. По официальным статистическим данным на 2018 год, распространенность диагноза умственная отсталость среди детского населения Российской Федерации от 0 до 14 лет составляет 667,0 (на 100 тыс. населения), среди подростков 17–18 лет – 1817,0 (на 100 тыс. населения). В Красноярском крае данный показатель равен соответственно 575,4 (на 100 тыс. населения) у детей и 1017, 5 (на 100 тыс. населения) среди подростков.

Цель исследования – проанализировать нарушения интеллектуальной сферы и социальной адаптации у детей и подростков с ранее выставленным диагнозом умеренная умственная отсталость, проживающих в психоневрологическом интернате.

Материал и методы

Во время проведения диспансеризации детей-сирот, оказавшихся в трудной жизненной ситуации, воспитанников психоневрологического интерната, по итогам клинического осмотра выявлены дети с диагнозом умеренная умственная отсталость, которые показывали более высокий уровень развития. Дальнейшее исследование проводилось на базе детского диспансерного отделения КГБУЗ «Красноярский краевой психоневрологический диспансер № 1» в течение 2019 года. Было осмотрено 30 детей и подростков (20 мальчиков – 66,7 %; 10 девочек – 33,3 %) в возрасте от 10 до 17 лет (средний возраст 12,7±2) с диагнозом умеренная умственная отсталость (F 71). Все дети, находящиеся в психоневрологическом интернате, поступили из неблагополучных семей, где росли в условиях социально-педагогической запущенности, неблагоприятных санитарно-гигиенических условиях. Они обучались по адаптированной образовательной программе для детей с умеренной умственной отсталостью. Диагноз был выставлен ранее на основании клинического обследования: дети не справлялись с программой общеобразовательной школы, находились в социально-неблагоприятных условиях, определение уровня интеллектуального развития адаптированной стандартизированной методикой Векслера (детский вариант) не проводилось (не являлось обязательным, не было включено в критерии оценки качества до 2017 года). Во время проведения исследования с целью диагностики использовались: расширенные критерии Мировой классификации болезней 10 пересмотра, изучение анамнестических данных, стандартизированная адаптированная методика Векслера (детский вариант), клинические методы обследования: интерпретации пословиц и метафор, тестовые задания на простые аналогии, исключение, сравнение и обобщение понятий, чтение, счет, тесты «сюжетные картинки», уровень общей осведомленности, уровень социальной адаптации у детей и подростков.

Результаты

В ходе обследования из 30 детей и подростков с диагнозом умеренная умственная отсталость при определении уровня интеллектуального развития по адаптированной стандартизированной методике Векслера (детский вариант) результаты у 2 детей (6,7 %) не соответствовали диапазону умственной отсталости (IQ выше 75). Во время диагностической беседы они показывали более высокий уровень знаний, умений, навыков. Дети были социально адаптированы. У 17 детей (56,7 %) результаты соответствовали диапазону уровня легкой умственной отсталости (IQ от 57 до 70). При клиническом осмотре выявлено, что у них сформированы навыки чтения и письма, навыки счета. Отмечалась слабость мыслительной деятельности, трудности в образовании абстрактных понятий. Самообслуживание сформировано по возрасту. С адаптированной образовательной программой для детей с умеренной умственной отсталостью справлялись на высоком уровне. Дополнительно занимались в вокально-хореографических, театральных кружках, спортивных секциях. У 9 детей (30 %) результаты соответствовали диапазону умеренной умственной отсталости (IQ от 35 до 46). При осмотре выявлялся низкий словарный запас, аграмматичная речь, понимание и использование речи было ограничено. Отмечалась низкая социальная адаптация, с программой обучения справлялись слабо. Во время осмотра двоих детей (6,7 %) возникли предположения о возможном нарушении слуха, в связи с чем достоверное определение уровня интеллектуального развития не представлялось возможным, им было рекомендовано дообследование у сурдолога. Таким образом, после размещения детей в психоневрологический интернат в ходе адаптации, регулярного посещения образовательного учреждения, нахождении в благоприятных санитарно-гигиенических и социально-бытовых условиях у части детей наблюдается изменение клинической картины, социальная реабилитация. Однако в силу того что дети обучались по адаптированной образовательной программе для детей с умеренной умственной отсталостью, запас знаний и представлений об окружающем оставался сниженным, несмотря на более высокий уровень интеллектуального развития.

Выводы

В психоневрологических интернатах дети, оказавшиеся в неблагоприятных социальных условиях, показывали картину, клинически схожую с умеренной умственной отсталостью при первичном осмотре. Ранее диагноз умственная отсталость выставлялся на основании клинического обследования. В 2017 г. вступил в силу приказ № 203 Министерства здравоохранения РФ «Об утверждении критериев оценки качества медицинской помощи», согласно которому диагностические критерии качества специализированной медицинской помощи при умственной отсталости изменились, обязательным стало обследование по методике Векслера или Равена. После обследования детей по методике Векслера появилась возможность более достоверно определить уровень интеллектуального развития. Перед принятием решения о размещении ребенка в психоневрологический интернат должны быть проведены необходимые диагностические мероприятия. Дети и подростки, попавшие в неблагоприятные социально-бытовые условия, перед выставлением диагноза умственная отсталость должны проходить как клинико-патопсихологическое обследование с учетом анамнестических данных, так и определение уровня интеллектуального развития по адаптированной стандартизированной методике Векслера. Благодаря этому удастся избежать гипердиагностики умственной отсталости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Макаров И.В. Умственная отсталость у детей и подростков. Клинические рекомендации (протокол лечения). ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский психоневрологический институт им. В. М. Бехтерева» Минздрава России; Российское общество психиатров, секция детской психиатрии. 2015. С. 3.
2. Александровский Ю.А., Незнанов Н.Г. Психиатрия. Национальное руководство/ 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. С. 679.
3. Исаев Д.Н. Умственная отсталость у детей и подростков: Руководство. СПб.: Речь, 2003. 391 с.
4. Сухомина Н.К. Умственная отсталость. Психиатрия. Справочник практического врача. М.: МЕДпресс-информ, 2006. С. 360–377.

ИССЛЕДОВАНИЕ МАНИФЕСТНОЙ СИМПТОМАТИКИ В РАМКАХ ПЕРВОГО ПРИСТУПА ШИЗОФРЕНИИ, СПРОВОЦИРОВАННОГО ПРИЕМОМ НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ПСИХОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

О.С. Юков

КГБУЗ «Красноярский краевой психоневрологический диспансер № 1», г. Красноярск, Россия
ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, г. Красноярск, Россия

Аннотация

Проведено исследование преобладающей симптоматики, развивающейся у пациентов с манифест-спровоцированным приступом параноидной шизофрении, ассоциированной употреблением новых потенциально опасных психоактивных веществ. Известно, что развитие шизофрении полиэтиологично. Множество имеющихся гипотез освещают возможные причины манифеста процессуального заболевания, однако к единому мнению современная наука, и в том числе психиатрия, пока не пришли. Галлюцинаторно-бредовая симптоматика представлена множеством психосенсорных расстройств. Шизофренические симптомы – в виде психических автоматизмов, разорванности мышления, бреда преследования и отношения, слуховых галлюцинаций, деперсонализационных расстройств, апатических нарушений, деменции с псевдопаралитическим синдромом. Часто, минуя стадии закона Маньяна, происходит парафренизация бредовых идей с включениями кататонического и гебефреноподобного возбуждения. Продолжительность затяжных психозов составляет в среднем до 2 месяцев. 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 между психиатрами и наркологами возникают спорные вопросы о генезе психоза, а также о медицинской сортировке пациентов.

Ключевые слова: шизофрения, новые потенциально опасные психоактивные вещества, психоз, бред, галлюцинации.

A STUDY OF THE DOMINANT SYMPTOMS OF A MANIFEST ATTACK OF SCHIZOPHRENIA, PROVOKED BY THE INTAKE OF NEW POTENTIALLY DANGEROUS PSYCHOACTIVE SUBSTANCES

O.S. Yukov

Krasnoyarsk Regional Psychoneurological Dispensary № 1, Krasnoyarsk, Russia
Krasnoyarsk State Medical University named after prof.V.F. Voyno-Yasensky, Krasnoyarsk, Russia

Abstract

A study of the prevailing symptoms that develops in patients with a manifested episode of paranoid schizophrenia associated with the use of new potentially dangerous psychoactive substances has been carried out. It is known that the development of schizophrenia is polyetiological. Many of the available hypotheses illuminate the possible causes of the manifestation of a procedural disease, but modern science, including psychiatry, has not yet come to a consensus. Hallucinatory-delusional symptoms are represented by a mass of psychosensory disorders. Schizophrenic symptoms are presented in the form of mental automatisms, torn thinking, delusions of persecution and attitude, auditory hallucinations, depersonalization disorders, apathic disorders, dementia with pseudoparalytic syndrome. Often, bypassing the stages of Manyan's law, paraphrenization of delusional ideas occurs with the inclusion of catatonic and hebefren-like excitement. The duration of protracted psychoses is on average up to 2 months. Such conditions require urgent medical measures and hospitalization in a neuropsychiatric hospital, since it is extremely difficult to differentiate the exacerbation of endogenous disease and exogenous-toxic psychosis at the stages of primary medical care, especially when the narcological history is denied. Therefore, quite often controversial questions arise between psychiatrists and narcologists about the genesis of psychosis, as well as the medical sorting of patients.

Key words: schizophrenia, new potentially dangerous psychoactive substances, psychosis, hallucinations.

Актуальность

За последние 20 лет синтетические наркотики (катионы, каннабимиметики и т.д.) доминируют на наркорынках многих стран и оказывают значительное пагубное воздействие на состояние здоровья населения. Распространение и употребление их в России после 2009 года стало приобретать угрожающие масштабы, чему способствовало длительное сохранение легального статуса этих веществ. Тенденция к увеличению числа интоксикационных психозов характерна для России в целом. Так, Е. А. Кошкина с соавт., анализируя оказание наркологической помощи населению Российской Федерации в 2012 году, отмечают, что за период с 2009 по 2012 год отмечается рост госпитализации больных психозами, связанными с употреблением наркотических и психотропных веществ: увеличилось как их абсолютное число (в 2,8 раза), так и относительный показатель (с 0,55 на 100 тыс. населения в 2009 г. до 1,5 в 2015 г.). Авторы полагают, что увеличение этого показателя может свидетельствовать об изменении структуры употребления наркотиков или появлении новых ПАВ с выраженным влиянием на психическую сферу человека, приводящим к развитию психозов [1]. Проводимые клинические исследования последствий приема новых психоактивных веществ немногочисленны. Употребление каннабиса и амфетамина может спровоцировать манифест шизофрении, видоизменяет клиническую картину заболевания и утяжеляет его течение. В случае «двойного диагноза» патопластике подвергаются как клиническая картина синдрома зависимости, так и течение шизофренического процесса [2]. Зарубежные исследователи обнаружили, что употребление каннабиса имело специфическую связь с последующим развитием шизофрении [3]. Согласно одному из исследований, среди взрослых, у которых диагностирован первый эпизод психоза, распространенность злоупотребления психоактивными веществами достигла 37 % [4]. В то же время некоторые исследователи отрицают наличие особенностей протекания синдрома зависимости от ПАВ у больных шизофренией [5]. Актуальность проблемы изучения и дифференциальной диагностики психотических расстройств, возникающих у лиц, употребляющих данные наркотики, уже давно не ограничивается лишь наркологией. Несмотря на то, что официальные данные статистики по психозам в связи с употреблением наркотиков крайне ограничены, врачи-клиницисты продолжают регистрировать данную патологию. Сочетание ряда моментов значительно усложняет диагностический поиск, вследствие взаимного искажения особенностей клинической картины, что требует от врача особых подходов к терапии таких состояний. Современные исследователи в своих научных работах делают выводы, что проблема коморбидности процессуального заболевания и употребление наркотиков в одинаковой степени актуальна для всех стран мира и затрагивает все группы населения вне зависимости от социальных, культуральных или иных особенностей. 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, несомненно, определяют актуальность проблемы сочетания психической патологии с употреблением психически активных веществ как чрезвычайно высокую [6]. Кроме основной проблемы этого злоупотребления – формирования наркотической зависимости, отмечены и другие последствия; в ряде случаев по причине передозировки либо индивидуальной повышенной чувствительности интоксикация каннабиноидами приводит к развитию тяжёлых психических расстройств и заболеваний [7]. За психиатрической помощью все чаще обращаются пациенты, не являющиеся наркозависимыми, но при этом «экспериментирующие» с наркотиками, у которых развивается преходящая или стойкая шизофреноформная симптоматика. На всех этапах оказания специализированной помощи (от скорой медицинской помощи до круглосуточного стационара) отмечается тенденция сокрытия пациентами и их родственниками фактов употребления наркотиков, что значительно затрудняет распознавание генеза наблюдаемых психотических расстройств и зачастую приводит к диагностическим заблуждениям, а также к негативным социальным последствиям.

Цель работы – выявить преобладающую манифестную симптоматику при первом приступе шизофрении, спровоцированном приемом новых потенциально опасных наркотиков и шизофреноформных психозах на фоне употребления психоактивных веществ.

Материал и методы

Исследование проводилось на базе стационара «Красноярского краевого психоневрологического диспансера №1» в 2012–2019 гг. Обследован 71 пациент мужского пола, страдающий параноидной шизофренией с коморбидной наркологической патологией, а также лица, госпитализированные с шизофреноформными психозами на фоне употребления психоактивных веществ. Средний возраст составил 26 ± 10 лет, длительность заболевания

от 1 до 5 лет. Все исследуемые больные проходили лечение в психиатрическом стационаре, длительность которого составила от 21 до 75 дней. Пациенты были разделены на три группы. Первая группа (20 человек) – с установленным диагнозом шизофрении, спровоцированная приемом ПАВ, вторая группа (21 человек) – с острым шизофреноформным расстройством на фоне употребления ПАВ, третья группа (31 человек) – с диагнозом шизофрении. В качестве основных методов исследования использовались клиничко-психопатологический; клиничко-анамнестический; клиничко-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 проводились в соответствии с диагностическими критериями МКБ-10. За основу взят принцип единства симптоматологии и общих тенденций течения шизофренического процесса. Всем обследуемым проводилось исследование анализа мочи на содержание психоактивных веществ в химико-токсикологическом отделе клиничко-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)».

Результаты и обсуждение

Прием новых психоактивных веществ зачастую вызывает полиморфные психотические расстройства или может закончиться летальным исходом. Психотические расстройства вследствие приема новых потенциально опасных психоактивных веществ нередко принимают необратимый характер и представляют серьезные проблемы медицинского и социального характера. Одним из последствий употребления данных наркотиков являются манифест-спровоцированные приступы шизофрении. Опасность состоит в том, что для инициации шизофренического процесса достаточно однократного употребления наркотика. Имеются данные, что нередко манифестные психозы, спровоцированные употреблением психоактивных веществ, возникают в виде реакций, характерных экзогенному типу, но в дальнейшем приобретают эндоформную окраску, непрерывно-прогредиентное течение, переходящее в необратимое исходное состояние [8]. При клиническом опросе выявляется, что пациенты, принимающие синтетические наркотики, в основном не знают, какое вещество и в какой дозе они употребляли, а используют «наркосленг» в качестве объяснения. И достоверное определение «действующего» вещества возможно лишь методом иммунохроматографического анализа мочи на наркотики. По результатам исследования выявлено преобладание галлюцинаторной и бредовой манифестной симптоматики, в то время как кататонно-гебефреническая, психопатоподобная представлены не значимо. В первой группе у 18 из 20 человек (90 % случаев) выявлено развитие параноидной симптоматики, галлюцинаторная, ассоциированная с началом употребления синтетических наркотиков, обнаружена у 2 из 20 человек (10 %). Вместе с тем отмечались сопутствующий маниакальный аффект у 9 из 20 человек (45 %), кататонические включения у 3 из 20 человек (15 %) и гебефренические у 1 из 20 человека (5 %). Во второй группе обнаружено преобладание галлюцинаторной симптоматики у 14 из 21 человека (67 % случаев), параноидная диагностирована у 3 из 21 человека (14 %), маниакальная у 3 из 21 человека (14 %), кататоническая у 1 из 21 человека (5 %). В третьей группе параноидная симптоматика преобладала у 27 из 31 человека (87 %), галлюцинаторная у 3 из 31 человека (6 %), кататоническая у 3 из 31 человека (6 %). По данным показателей можно судить, что употребление «дизайнерских» наркотиков способствует развитию эндогенного процесса с манифестом параноидной симптоматики и стойкими нарушениями процессов мышления. В свою очередь, галлюцинаторные расстройства преобладают во второй группе. Средний стаж употребления наркотиков в первой группе составил 6 ± 6 лет, во второй группе – 10 ± 9 лет, в третью группу были отобраны пациенты, не употребляющие психоактивные вещества. Установлено, что у всех исследуемых пациентов, ранее употреблявших наркотики растительного происхождения, острых психотических состояний, требующих неотложной медицинской помощи, не наблюдалось. Также следует отметить, что во второй группе развития шизофреноформных психотических приступов на фоне употребления наркотиков «нового поколения» отмечается не сразу, а лишь спустя несколько лет. По полученным данным, этот период составляет от 1 до 5 лет (в среднем 2,5 года или 3 ± 2 года).

Выводы

Таким образом, по данным исследования диагностируемых групп пациентов, можно утверждать, что вследствие приема новых потенциально опасных психоактивных веществ

обнаруживается преобладание манифестации параноидной симптоматики и стойких нарушений процессов мышления, что является одним из пусковых механизмов развития шизофрении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кошкина Е.А., Киржанова В.В., Гусева О.И., Григорова Н.И., Муганцева Л.А. Оказание наркологической помощи населению Российской Федерации в 2012 г. Вопросы наркологии. 2013; 4: 3–18.
2. Афанасьева А.В. Особенности употребления психоактивных веществ больными шизофренией и его влияние на течение шизофренического процесса (Обзор литературы). Український вісник психоневрології. 2011; 19(3): 82–85.
3. Arseneault L., Cannon M., Poulton R., Murray R., Caspi A., Moffitt T.E. Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study. BMJ. 2002 Nov 23; 325(7374):1212–3. doi: 10.1136/bmj.325.7374.1212.
4. Cantwell R., Brewin J., Glazebrook C., Dalkin T., Fox R., Medley I., Harrison G. Prevalence of substance misuse in first-episode psychosis. Br J Psychiatry. 1999 Feb; 174: 150–33. doi: 10.1192/bjp.174.2.150.
5. Westermeyer J.J., Schneekloth T.D. Course of substance abuse in patients with and without schizophrenia. Am J Addict. 1999 Winter; 8(1): 55–64. doi: 10.1080/105504999306081.
6. Алексеева Д.Н., Ширяев О.Ю., Розозина М.А., Буракова А.В. К вопросу о наркотизации больных шизофренией. Прикладные информационные аспекты медицины. 2016; 19(1): 5–11.
7. Гагин А.Д., Южакова Е.А. Особенности эндогенных психозов, спровоцированных употреблением курительных смесей и каннабиноидов. Тюменский медицинский журнал. 2011; 1: 34–35.
8. Меграбян А.А., Оганесян В.О., Мелик-Пашаян М.А. Роль гашишной интоксикации в клинической картине шизофрении. Алкоголизм и некоторые другие интоксикационные заболевания нервной системы и психической сферы: Материалы пленума Всесоюзного медицинского общества невропатологов и психиатров. Ташкент: Медицина, 1972. С. 99–102.

ФАРМАКОЛОГИЯ И РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА

СИСТЕМАТИЧНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ, У ЖЕНЩИН С ТОНКИМ ЭНДОМЕТРИЕМ, РЕФРАКТЕРНЫМ К СТАНДАРТНОМУ ЛЕЧЕНИЮ

С.Д. Айтымов, М.А. Ахаева, Б.К. Турарова

РГП на ПХВ «Научно-производственный центр трансфузиологии» Министерства Республики Казахстан, г. Нур-Султан, Республика Казахстан

Аннотация

В данном тезисе проведен литературный обзор о применении аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами (далее-PRP) для лечения тонкого эндометрия. Во всех исследованиях был выявлен положительный результат.

Ключевые слова: аутологичная плазма, обогащенная тромбоцитами, тонкий эндометрий, внутриматочная инфузия, колониестимулирующий фактор, эмбрион.

SYSTEMATIC ANALYSIS OF THE EFFICACY AND SAFETY OF PLASMA-RICH PLATELETS IN WOMEN WITH THIN ENDOMETRIUM REFRACTORY TO STANDARD TREATMENT

S.D. Aitymov, M.A. Akhaeva, B.K. Turarova

RSE on REM «Scientific-Production Center of Transfusiology» of the Ministry of Healthcare of the Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan

Abstract

This paper provides a literature review on the use of autologous platelet-rich plasma (hereinafter PRP) for the treatment of thin endometrium. All studies showed a positive result.

Key words: autologous platelet-rich plasma, thin endometrium, intrauterine infusion, colony-stimulating factor, embryo.

Актуальность

Состояние эндометрия является одним из основных факторов при имплантации и беременности. Успешная имплантация эмбриона требует соответствующего эмбрионального развития, совпадающего с рецептивным эндометрием. Тонкий эндометрий приводит к отмене цикла и незапланированной криоконсервации эмбрионов. Для лечения тонкого эндометрия используются экзогенный эстроген, низкие дозы аспирина, витамин Е, влагилищный цитрат силденафил, электроакупунктура и колониестимулирующий фактор гранулоцитов (далее – G-CSF). Однако ряд женщин с тонким эндометрием остаются невосприимчивыми к данным видам терапии, вследствие чего развивается рефрактерный тонкий эндометрий (далее – РТЭ). Одной из альтернатив лечения является применение PRP.

Цель исследования – провести анализ клинической эффективности и безопасности применения PRP при тонком эндометрии, рефрактерном к другим видам лечения.

Материал и методы

Выборка была проведена среди 33 статей по применению PRP в лечении РТЭ и во время цикла переноса эмбрионов. Из них было отобрано пять рандомизированных клинических контролируемых исследований, одно двойное слепое рандомизированное клиническое ис-

следование, одно когортное ретроспективное исследование и одно пилотное исследование. Доклинические исследования и тематические статьи были исключены.

Обсуждение

Во всех исследованиях отмечается значительное увеличение толщины эндометрия после внутриматочных инфузий PRP. Успешных имплантаций эмбрионов было больше в группах с применением PRP, чем в контрольных [1]. Ни в одном исследовании не было отмечено побочных эффектов после применения инфузий PRP. Объем препарата PRP для инфузий, использованный многими исследователями, составлял 0,5–1 мл. Эндометрий орошали не более двух раз, промежутки между инфузиями составлял 48 или 72 ч. Причем рост эндометрия чаще наблюдался после повторной инфузии. Более значительный рост эндометрия наблюдался после инфузий PRP, чем после применения G-CSF. Также опытным методом было исключено воздействие эффекта плацебо при инфузиях PRP [2]. К сожалению, не все авторы предоставляют в своих статьях полную информацию о точной концентрации тромбоцитов и других форменных элементах периферической крови в препарате PRP. Процедура не стандартизирована. Нет установленных рекомендаций по применению. Не выявлены противопоказания к проведению терапии.

Выводы

Внутриматочные инфузии аутологичного PRP показывают высокую эффективность и безопасность применения в лечении РТЭ. Но ряд вопросов остается не раскрытым. Необходимо проведение новых развернутых клинических исследований для определения более точных рекомендаций к применению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Eftekhar M., Neghab N., Naghshineh E., Khani P. Can autologous platelet rich plasma expand endometrial thickness and improve pregnancy rate during frozen-thawed embryo transfer cycle? A randomized clinical trial. Taiwan J. Obstet Gynecol. 2018 Dec; 57(6): 810–813. doi: 10.1016/j.tjog.2018.10.007.
2. Nazari L., Salehpour S., Hoseini S., Zadehmodarres S., Azargashb E. Effects of autologous platelet-rich plasma on endometrial expansion in patients undergoing frozen-thawed embryo transfer: A double-blind RCT. Int J. Reprod Biomed (Yazd). 2019 Jul 29; 17(6): 443–448. doi: 10.18502/ijrm.v17i6.4816.

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В КОРРЕКЦИИ СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХЕ

Ш.-А.С. Аль-Кубайси, Н.С. Шейранов, А.А. Афонькин, М.В. Ширманкина, Е.А. Калабкин

ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Саранск, Россия

Аннотация

Обследованы 54 больных механической желтухой (МЖ) и 15 здоровых лиц. Выделены 2 группы: I группа (n=27) – больные МЖ, получившие в раннем послеоперационном периоде стандартное комплексное лечение, II группа (n=27) – пациенты МЖ, терапия которых включала и Ремаксол. Для оценки состояния системы гемостаза использовали тромбоэластографию (ТЭГ). Включение Ремаксолола в комплексную терапию на ранних стадиях заболевания приводит к существенной коррекции гемостатических нарушений.

Ключевые слова: Ремаксол, механическая желтуха, гемостаз.

METABOLIC THERAPY IN THE CORRECTION OF THE STATE OF THE HEMOSTATIC SYSTEM IN OBSTRUCTIVE JAUNDICE

Sh.-A.S. Al-Kubaysi, N.S. Sheyranov, A.A. Afonkin, M.V. Shirmankina, E.A. Kalabkin

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «National Research Ogarev Mordovia State University», Saransk, Russia

Abstract

In this study had examined 54 patients with mechanical jaundice (MJ) and 15 healthy individuals. The patients were divided in 2 groups: I (n=27) – patients with MJ who received complex standard treatment, II (n=27) – MJ patients who got Remaxol additionally the main treatment. Thromboelastography (TEG) was used to assess the state of the hemostatic system. The Remaxol inclusion therapy via complex treatment in the early stages of the disease leads to a significant correction of hemostatic disorders.

Key words: remaxol; mechanical jaundice; hemostasis.

Актуальность

Механическая желтуха является актуальной проблемой среди патологии неотложной хирургии как за рубежом, так и в России [1]. Основными причинами развития МЖ являются холедохолитиаз, стенозы и / или стриктуры желчных протоков, стеноз большого сосочка двенадцатиперстной кишки, воспаление печеночно-двенадцатиперстной связки и панкреатит [2]. Нарушение желчного пассажа в двенадцатиперстную кишку вызывает расстройство пищеварительного процесса в виде нарушения всасывания липидов и жирорастворимых витаминов. Дефицит витамина К ведет к снижению синтеза в печени всех факторов протромбинового комплекса (протромбина, проконвертина, фактора Кристмаса, фактора Стюарта–Прауэра, протеина С и протеина S), и, как следствие, развиваются гипокоагуляция и гипофибриногенемия [3]. Возникает синтетическая и детоксикационная функциональная недостаточность печени, что приводит к накоплению высокотоксичных веществ как в печени, так и в крови [4]. Отечественный препарат Ремаксол обладает гепатопротекторным эффектом, антиоксидантной и антигипоксантами активностью, антиферментным и детоксицирующим действием [5].

Цель исследования – оценить эффективность метаболической терапии на примере использования Ремаксолола в коррекции состояния системы гемостаза у больных механической желтухой.

Материал и методы

Обследованы 54 больных механической желтухой, пациенты рандомизированы по полу, возрасту, выраженности заболевания и разделены на 2 группы: I группа (контроля, сравнения, n=27) – больные МЖ, которые получили комплексное лечение, возраст составил 53,4±5,2 года, мужчин было 18 (66,7 %), женщин – 9 (33,3 %); II группа (исследуемая, n=27) – пациенты с МЖ, которые получили Ремаксол дополнительно в стандартную терапию, возраст – 49,1±4,6 года, мужчин – 20 (74,07 %), женщин – 7 (25,93 %). В качестве нормы обследованы здоровые лица (n=15) обоих полов в возрасте 21–55 лет. МЖ у больных была обусловлена холедохолитиазом – у 34 (62,96 %), рубцовой структурой терминального отдела общего желчного протока – 10 (18,52 %), хроническим панкреатитом – 10 (18,52 %). Все больные оперированы. В раннем послеоперационном периоде пациентам проводилась терапия, включающая инфузионный, антибактериальный, спазмолитический и другие компоненты. Больным второй группы дополнительно в лечение включали Ремаксол ежедневно в виде внутривенной капельной инфузии в объеме 400,0 мл в течение 6 сут. При этом общий объем инфузий уменьшали на 400,0 мл. Критерии включения в настоящую работу: наличие клинико-лабораторно-инструментальных данных, позволяющих диагностировать МЖ; длительность болезни не менее 7 сут; состояние системы гемостаза при поступлении оценивается как гипокоагулемическое и гипофибринолитическое. Оценку состояния коагуляционно-литической системы крови производили при помощи тромбозластографа. Исследование состояния системы гемостаза у исследуемых пациентов проводилось в течение 6 сут после первого введения препарата, который применен сразу же после хирургического вмешательства. Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью программ Excel 7.0 и Statistica 7.0.

Результаты

При оценке степени тяжести заболевания с помощью шкалы АРАСНЕ-II оказалось, что количество баллов у больных первой группы составило 13,46±0,32, а у второй – 13,66±0,75. Установлено, что у больных механической желтухой диагностированы существенные коагуляционно-литические нарушения в виде гипокоагулемии и гипофибринолиза. Так, показатель R (реактивное время), который определяет период свертывания крови и характеризует 1–2-ю фазу свертывания, у больных первой группы превышал норму на всех этапах наблюдения на 210,73; 173,25; 135,21; 93,0; 59,69 и 41,0 % (p<0,05) соответственно. Повышенные значения параметра R указывает на снижение активности коагуляционного компонента

свертывающей системы крови. Установлено, что первое применение Ремаксолола больным исследуемой группы снижало R на 12,18 % ($p < 0,05$) (при этом он превосходил значения нормы на 172,8 % ($p < 0,05$)). В последующие сутки исследования уровень R у исследуемых больных был ниже контроля на 13,2–29,48 % ($p < 0,05$). Однако величина этого параметра была выше нормы лишь до пятых суток наблюдения на 135,2–12,61 % ($p < 0,05$) (рис. 1).

Таким образом, применение Ремаксолола больным МЖ приводит к восстановлению процесса коагуляции и времени образования кровяного сгустка, что является немаловажным для предотвращения гипокоагуляционных осложнений. Время образования сгустка (K) – время коагуляции, которое характеризует 3-ю фазу свертывания крови. Данный показатель возрастал в контрольной группе по сравнению с нормой на всех сроках на 150,92; 130,06; 92,63; 66,25; 52,76 и 32,28 % ($p < 0,05$) соответственно. Время коагуляции у больных второй группы было удлинено относительно значения нормы в первые 5 сут на 130,06; 88,34; 67,48; 39,26 и 12,88 % ($p < 0,05$) соответственно. К последним суткам динамического наблюдения параметр K приближался к норме. По сравнению с контролем время образования сгустка у больных исследуемой группы со вторых суток исследования было укорочено на 18,13 % ($p < 0,05$), а на 6-е сут – на 46,81 % ($p < 0,05$). Сокращение времени образования сгустка у больных МЖ с раннего периода применения Ремаксолола указывает на его гемостаз-корректирующий эффект и как следствие восстановление активности тромбоцитов и десятого фактора свертывания крови.

Изменение кинетики образования сгустка (α -угол), характеризующей уровень фибриногена в плазме, у больных первой группы определялось в виде уменьшения образования фибриногена уже в ранние сроки наблюдения. В целом величина α -угла на всех этапах периода контроля была снижена по сравнению со значениями нормы на 37,11–22,5 % ($p < 0,05$). В исследуемой группе α -угол в первые 4 сут был ниже нормы на 30,5; 26,1; 21,37 и 15,41 % ($p < 0,05$) соответственно. К пятым суткам динамического наблюдения этот показатель был в пределах нормы (рис. 2).

Отметим, что кинетика образования сгустка у больных данной группы достоверно превышала значения контроля на 1, 5 и 6-е сут на 10,51; 11,45 и 11,1 % ($p < 0,05$) соответственно. Максимальная амплитуда (МА) – показатель, характеризующий физические качества сгустка (эластичность) – соответствует III стадии свертывания крови; в контрольной группе была снижена относительно нормы на всех сроках наблюдения на 37,62; 30,61; 25,49; 15,8; 12,91 и 12,5 % ($p < 0,05$) соответственно. На фоне применения Ремаксолола величина максимальной амплитуды в первые 4 сут была также ниже нормы на 23,35–10,36 % ($p < 0,05$), а к 5-м и 6-м сут исследования приближалась к ней. При этом параметр МА у больных второй группы достоверно превосходил контроль на 2, 3 и 5-е сут на 10,46; 10,6 и 10,7 % ($p < 0,05$) соответственно. Расчётный процент лизиса (EPL) характеризует скорость процесса фибринолиза – в контрольной группе в первые 4 сут не определялся. На 5-е и 6-е сут данный параметр был снижен по сравнению со значениями нормы на 87,01 и 74,02 % ($p < 0,05$) соответственно. Показатель EPL у больных механической желтухой, получавших Ремаксол дополнительно к терапии, в первые 5 сут был также ниже значения нормы на 77,92; 62,3; 44,15; 29,2 и 11,68 % ($p < 0,05$) соответственно. К 6-м сут данный параметр приближался к норме. При этом у исследуемых пациентов расчётный процент лизиса превышал контроль на всех этапах периода наблюдения на 42,0–161,6 % ($p < 0,05$) соответственно. Коагуляционный индекс (CI) характеризует коагуляционный потенциал крови в целом – у больных первой группы был максимально удлинён по сравнению с нормой на первые сутки на 337,4 % ($p < 0,05$). Проведённое традиционное лечение способствовало снижению уровня данного параметра, но даже к 6-м сут его значение оставалось выше нормы: на 3-е сут – на 279,5 %, на 4-е – на 239,4 %, на 5-е – на 202,7 % и на 6-е сут – на 163,2 % ($p < 0,05$). У исследуемых пациентов на фоне применения Ремаксолола уровень CI в плазме крови превосходил норму в первые 5 сут на 306,8; 258,5; 180,2; 123,1 и 57,1 % ($p < 0,05$) соответственно, а к 6-м сут был в пределах нормы. При этом коагуляционный потенциал в данной группе на фоне применения Ремаксолола был укорочен по сравнению с контролем со вторых суток исследования и в последующие до конца исследования на 26,16–48,08 % ($p < 0,05$).

Выводы

Таким образом, при механической желтухе регистрируются значительные коагуляционно-литические нарушения в виде гипокоагуляции и снижения фибринолитической активности крови. Эти изменения могут явиться основой для развития в раннем послеоперационном периоде геморрагических осложнений. Применение Ремаксолола приводит к существенной модуляции исследованных гемостатических показателей. Особенно значим его гемостазре-

гулирующий эффект, который, по всей видимости, связан с его гепатопротекторной, антиоксидантной и антигипоксантами способностью.

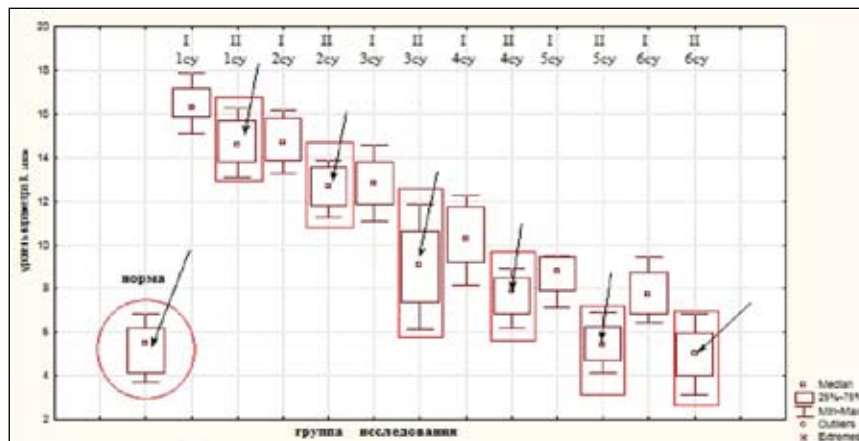


Рис. 1. Динамика параметра R у лиц исследования: I – первая группа, II – вторая группа. Су – сутки

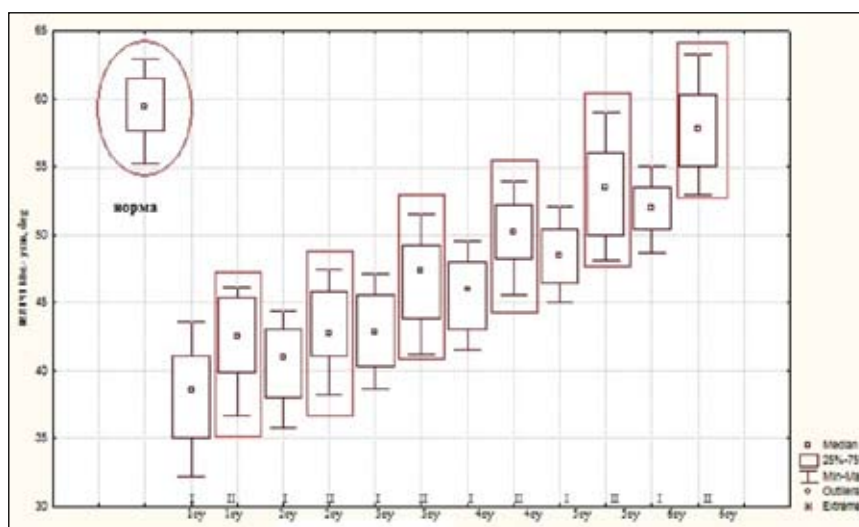


Рис. 2. Динамика величины α -угла у лиц исследования:
I – больные первой группы, II – больные второй группы. Су – сутки

ЛИТЕРАТУРА

1. Тарасенко С.В., Зайцев О.В., Тюленев Д.О., Юдин В.А., Копейкин А.А., Натальский А.А., Богомолов А.Ю., Кузнецова А.С. Распространенность осложненных форм желчнокаменной болезни. Наука молодых. Eruditio Juvenium. 2018; 6(2): 218–224.
3. Винник Ю.С., Пахомова Р.А., Кочетова Л.В., Воронова Е.А., Козлов В.В., Кириченко А.К. Предикторы печеночной недостаточности при механической желтухе. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2018; 3: 37–41.
4. Fargo M.V., Grogan S.P., Saguil A. Evaluation of jaundice in adults. American family physician. 2017; 95(3): 164–168.
5. Long Y., Weidong M., Weifeng Y. Anesthesia for patients with obstructive jaundice (review article). Journal of anesthesia and perioperative medicine. 2018; 5: 149–160.
6. Власов А.П., Аль-Кубайси Ш.С., Власова Т.И., Муратова Т.А., Морозова М.М., Романов А.С., Чегин С.В. Тромбоэластография в оценке гемостазкорректирующих эффектов ремасола при остром тяжелом панкреатите. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018; 149(1): 74–79.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОВМЕЩЕНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОБРАБОТКА МР-ТОМОГРАФИИ С ПАРАМАГНИТНЫМ КОНТРАСТНЫМ УСИЛЕНИЕМ И ОФЭКТ С ^{99m}Tc -ТЕХНЕТРИЛОМ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ВЫЖИВАЕМОСТИ У ЛИЦ С ОПУХОЛЕВЫМИ ПОРАЖЕНИЯМИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ И ГРУДНОЙ КЛЕТКИ

В.Ю. Бабилов

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины
им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, г. Томск, Россия,
ООО ПЭТ-Технолоджи, г. Томск, Россия

Аннотация

Исследовалась возможность одновременного и совмещенного использования МРТ с парамагнитным контрастным усилением (ПМКУ) и ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом в прогнозировании выживаемости пациентов с раком легкого ($n=15$) и с глиальными опухолями головного мозга ($n=17$). После хирургического удаления, адъювантной химиотерапии и лучевого лечения в случае одновременного снижения спустя месяц индекса «Опухоль / Здоровая ткань» менее 1,15 для ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом и менее 1,19 для МРТ с ПМКУ последующий срок безрецидивной выживаемости составил более 2 лет как для рака легкого, так и для глиом и астроцитом мозга. При индексе «Опухоль / Здоровая ткань» $>1,25$ для ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом и $>1,35$ для МРТ с ПМКУ срок выживаемости составил менее года. При нормализации картины ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом и длительном повышении для МРТ с ПМКУ срок выживаемости составлял также более 2 лет. Таким образом, совмещенные изображения МРТ с ПМКУ и ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом и сочетанная оценка поглощения рфп и парамагнитных контрастов в ходе лечения таких больных обладают прогностическим значением и важны для оценки тактики.

Ключевые слова: МРТ с парамагнитным контрастным усилением, ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом, прогноз выживаемости, метастазирование, рак легкого, опухоли мозга.

SPECT IN SURVIVAL PROGNOSIS OF BRAIN AND CHEST TUMORS

V.Yu. Babikov

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research
Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia,
PET-technology LLC, Tomsk, Russia

Abstract

We have studied the possibility of use of fused images obtained from combination of contrast-enhanced MRI (CE-MRI) and SPECT with ^{99m}Tc -MIBI (Technetyle) for prediction of survival of patients with lung cancer ($n=15$) and also of persons with brain tumors ($n=17$). It has been shown that in a month after surgical removal adjuvant chemotherapy and external gamma-irradiation the concomitant decrease of index "Tumor/Normal tissue" below 1,15 for SPECT with ^{99m}Tc -MIBI Technetyle and below 1,19 for CE-MRI predicts further recidiv-free survival over two years for both lung cancer and glial cerebral tumors. In persons with "Tumor/Normal tissue" ratio over 1,25 for SPECT with ^{99m}Tc -Technetyle and $>1,35$ for CE-MRI the survival time was in everybody below a year. In persons with pattern of SPECT with ^{99m}Tc -Technetyle reversed after treatment to normal but long-time elevation of contrast uptake in CE-MRI the survival time was also over 2 years. Thus the fusion of images of CE-MRI and SPECT with ^{99m}Tc -Technetyle in patients with various malignant tumors is of prognostic value and setup the values of uptake indexes to be achieved for better survival of patients.

Key words: Contrast-enhanced MRI, ^{99m}Tc -MIBI SPECT, survival prognosis, metastases, lung cancer, brain tumors.

Актуальность

Сочетанное использование биологически и фармакокинетически различных диагностических препаратов для всесторонней одновременной оценки состояния злокачественных новообразований в динамике комплексной противоопухолевой терапии представляет собой сегодня одно из важнейших направлений совершенствования фармакологически и патофизиологически обоснованного контроля процесса лечения в онкологии [1].

Контрастные препараты для парамагнитного контрастного усиления при МРТ (парамагнитные контрастные средства – ПМКС) на основе линейных и циклических полиацетатных комплексов гадолиния представляют собой маркеры повреждения гистогематического барьера в опухолях [2], тогда как наиболее широко используемый для рутинной визуализации опухолей в однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) ^{99m}Tc -метоксиизобутил-изонитрил (^{99m}Tc -МИБИ, ^{99m}Tc -Технетрил) по своим фармакокинетическим свойствам является маркером опухолевого кровотока [3]. И повреждение гистогематического барьера в опухолевой системе микроциркуляции, и уровень опухолевого кровотока являются факторами, тесно связанными с агрессивностью опухоли, определяющей прогноз развития опухолевого процесса и выживания пациента. В рутинной практике адекватным фармакокинетически обоснованным отражением уровня поглощения тканью опухоли гадолиниевых ПМКС при МРТ и ^{99m}Tc -Технетрила при ОФЭКТ является индекс соотношения интенсивностей для соответствующих регионов – «Опухоль / Здоровая ткань». В качестве выделяемой зоны здоровой ткани при этом используют анатомически симметричный опухолевому регион непораженной здоровой ткани. Прогностическое значение МРТ с ПМКС и ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом важно в первую очередь у пациентов, получающих комплексную химио- и радиотерапию, когда томовизуализация становится порой единственной возможностью оценки опухолевого процесса.

Цель исследования – оценить в сравнительном аспекте, как соотносятся показатели МРТ с ПМКС и ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом с прогнозом выживаемости у лиц с такими различными опухолевыми поражениями, как глиальные опухоли мозга и рак легкого.

Материал и методы

В исследование вошли 15 пациентов с раком легкого стадий $T_{1-3}N_{0-2}M_{0-1}$ и 17 пациентов с глиальными опухолями головного мозга (11 пациентов с глиомами 2–4-й степени аномалии и 6 – с глиобластомами). Из 15 лиц с раком легкого у девяти было выполнено хирургическое вмешательство (три человека с лобэктомиями, шесть – с билобэктомиями) и у шести в связи с первичным выявлением распространенного рака легкого проводилось комплексное химиолучевое лечение без удаления первичного новообразования. Пациенты проходили лечение в специализированных онкологических учреждениях Томска (НИИ онкологии ТНИМЦ РАН, Областной онкологический диспансер), Новосибирска (Центр Мешалкина), Кемерово и Барнаула и обследовались после проведения соответствующего лечения на амбулаторном этапе. У всех 17 пациентов с глиальными опухолями головного мозга после выполнения нейрохирургического этапа и удаления опухоли проводилась также химиотерапия темозоломидом.

ОФЭКТ головного мозга с ^{99m}Tc -Технетрилом выполнялась на одно- и двухдетекторных гамма-камерах спустя 12–15 мин после введения 540–720 МБк радиофармпрепарата (полученного с помощью мечения элюатом из молибденового генератора производства ВО «Изо-топ» стандартного набора для мечения «Технетрил» производства НПФ «Диамед», Москва) с записью 32–64 планарных проекций на 360 градусов оборота детектора с набором более 50 000 импульсов в матрицу 64×64 на проекцию с последующей реконструкцией методом обратных проекций срезов в аксиальных, фронтальных и сагиттальных плоскостях, выделением очагов патологической аккумуляции рфп и расчетом индексов «Очаг / Здоровая ткань».

МРТ с ПМКС выполнялась на МР-томографах с напряженностью магнитного поля 0,2Т и 1,5Т в T1-взв. спин-эхо режиме до и спустя 10–12 мин после введения гадолиниевых 0,5М ПМКС (Оптимарк, Омнискан, Магневист, Дотарем) из расчета 2 мл 0,5М раствора на 10 кг массы тела пациента с последующим выделением зон патологической опухолевой аккумуляции ПМКС и расчетом индексов «Опухоль / Здоровая ткань».

Результаты и обсуждение

Оказалось, прогностическое значение показателей ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом и МРТ с ПМКС сходно для биологически достаточно различных опухолей – рака легкого и злокачественных глиом. Из общего количества обследованных после хирургического удаления и / или адъювантной химиотерапии и лучевого лечения срок выживаемости составил более 2 лет у 8 из 15 пациентов с раком легкого и у 9 из 17 с глиальными опухолями.

При этом у 6 пациентов с раком легкого и у 7 пациентов с глиальными опухолями со сроком выживаемости более 2 лет был отмечен уровень индекса «Очаг / Здоровая ткань» менее 1,15 для ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом (в среднем $1,09 \pm 0,07$ для рака легкого и $1,09 \pm 0,08$ для глиальных новообразований) и менее 1,19 для МРТ с ПМКУ (в среднем $1,12 \pm 0,09$ для рака легкого и $1,10 \pm 0,08$ для глиом).

При индексе «Очаг / Здоровая ткань» $>1,25$ для ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом и $>1,31$ для МРТ с ПМКУ (таких было 7 из 15 пациентов с раком легкого и 8 – с глиальными опухолями головного мозга) срок выживаемости составил менее года.

При нормализации картины ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом и сохраняющемся длительном повышении для МРТ с ПМКУ (таких было по двое среди пациентов с раком легкого и с глиомами) срок выживаемости составлял также более 2 лет. Типичные клинические примеры сочетанного использования ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом и МРТ с ПМКУ представлены на рис. 1 и 2.

Очевидно, что такая информация может и должна использоваться не только для констатации прогноза жизни пациента, но и для контроля эффективности терапии и достижения благоприятных значений индексов «Очаг / Здоровая ткань».

Заключение

Таким образом, совмещенные изображения МРТ с ПМКУ и ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом, и сочетанная оценка поглощения рфп и парамагнитных контрастов в ходе лечения таких больных обладают прогностическим значением и важны для оценки тактики, поскольку задают величины индекса «Очаг / Здоровая ткань», определяющие прогноз жизни пациента. Отсутствие признаков патологического опухолевого кровотока в области удаленной опухоли по данным ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом является основным благоприятным признаком выживаемости сроком более 2 лет при комплексной противоопухолевой химиотерапии. Необходимы дальнейшие исследования для уточнения контрольно-диагностического и прогностического значения ОФЭКТ и МРТ при химио- и радиотерапии.

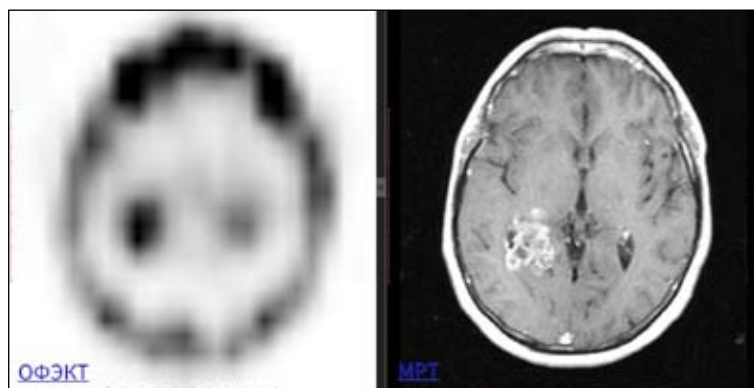


Рис. 1. Типичный пример случая с прогрессирующим ростом эпендимоглиомы заднего рога правого бокового желудочка мозга на фоне наружной лучевой терапии и химиотерапии темозоламидом, при величине индекса «Очаг / Здоровая ткань» более 1,4 как для ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом, так и для МРТ с ПМКУ

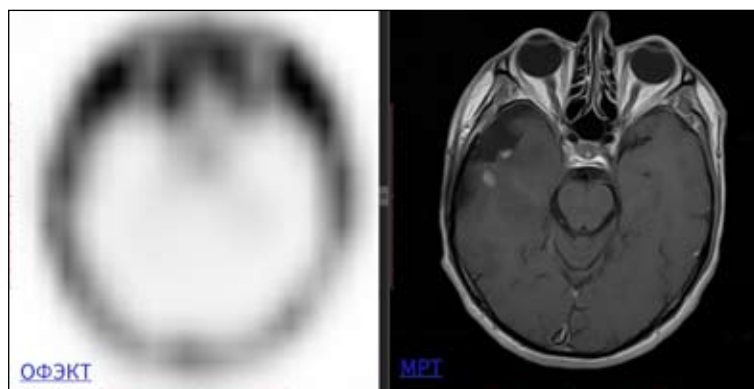


Рис. 2. Типичный пример пациента с картиной предположительного рецидива – продолженного опухолевого роста при МРТ с ПМКС, после удаления и химиотерапии темозоламидом а также гамма-терапии низкодифференцированной глиомы височной области правостороннего полушария, но с безрецидивной картиной при ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом, на котором очевидно отсутствие накопления рфп в области усиленного поглощения ПМКС. (Спустя год после этого исследования продуктивно работает по специальности, связанной с высокоинтенсивным интеллектуальным трудом, совершенно счастлив в семейной жизни)

ЛИТЕРАТУРА

1. Шимановский Н.Л., Епинетов М.А., Мельников М.Я. Молекулярная и нанофармакология. М.: Физико-математическая литература, 2009. 624 с.
2. Панов В.О., Шимановский Н.Л. Диагностическая эффективность и безопасность макроциклических гадолиний – содержащих магнитно-резонансных контрастных средств. Вестник рентгенологии и радиологии. 2017; 98(3): 159–166.
3. *Usov W.Y., Riannel Y.E., Slonimskaya E.M., Velichko S.A., Kalashnikov S.D., Mihailovic J.M., Scopinaro F.* Quantification of breast cancer blood flow in absolute units using Gjedde-Rutland-Patlak analysis of ^{99m}Tc-MIBI uptake. Nuclear Medicine Review. 1999; 2(1): 4–12.

ИЗУЧЕНИЕ КАРДИОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ ИММОБИЛИЗИРОВАННЫХ СУБТИЛИЗИНОВ

Г.И. Байкалов

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Новосибирск, Россия,
ФГБНУ НИИКЭЛ – филиал ФИЦ ИЦиГ СО РАН, лаборатория фармакологического
моделирования и скрининга биоактивных молекул, г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Представлены материалы по экспериментальному изучению кардиотропного действия лекарственного препарата на основе иммобилизованных субтилизинов. Действие препарата изучали на модели изолированного сердца крысы по Лангендорфу. В каждом случае регистрировали частоту сердечных сокращений (ЧСС) и давление, развиваемое левым желудочком (ДЛЖ). Установлено, что иммобилизованные субтилизины оказывают кардиотропное действие на изолированное сердце крысы. Кардиотропное действие иммобилизованных субтилизинов проявлялось в увеличении силы сокращения левого желудочка и снижении частоты сердечных сокращений. Результаты свидетельствуют, что иммобилизованные субтилизины обладают положительным инотропным и отрицательным хронотропным действием.

Ключевые слова: иммобилизованные субтилизины, изолированное сердце, кардиотропное действие, частота сердечных сокращений, давление, развиваемое левым желудочком.

STUDY OF THE CARDIOTROPIC EFFECT OF IMMOBILIZED SUBTILISINS

G.I. Baykalov

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia, Novosibirsk, Russia,
Federal State Budgetary Scientific Institution NIIKEL – Federal Research Center, Branch of the Institute
of Cytology and Genetics SB RAS, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive
Molecules, Novosibirsk, Russia

Abstract

The materials are presented on experimental study of the cardiotropic effect of the drug based on immobilized subtilisins. The effect of the drug was studied on a model of isolated rat heart according to Langendorff. In each case the heart rate (HR) and pressure developed by the left ventricle (LVP) were recorded. It is found that immobilized subtilisins offer a cardiotropic effect on isolated rat heart. The cardiotropic effect of immobilized subtilisins was manifested in the increase of the left ventricular contraction force and a decrease in a heart rate. The results indicate that immobilized subtilisins have positive inotropic and negative chronotropic effect.

Key words: immobilized subtilisins, isolated heart, cardiotropic effect, heart rate, left ventricular pressure.

Актуальность

В настоящее время болезни системы кровообращения являются чрезвычайно важной проблемой и занимают первое место в структуре причин смерти во всем мире. Наибольший процент среди них занимает ишемическая болезнь сердца, включающая стенокардию,

инфаркт миокарда и внезапную сердечную смерть. Вследствие этого актуальным направлением является поиск эффективных фармакологических препаратов для коррекции и лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Возможность клинического использования субтилизинов изучается довольно активно в последние годы, и исследования показывают их эффективность не только для лечения тромбозов, но и для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний [1, 2]. В литературе практически отсутствуют данные о влиянии субтилизинов на работу сердца. Для экспериментальных исследований в области кардиологии существуют различные модели. Одной из актуальных и уникальных является модель перфузии изолированного сердца крысы по Лангендорфу. Данная модель позволяет детально исследовать и изучать физиологические и биохимические процессы в сердце, а также внешние воздействия на него в условиях отсутствия нейрогенных и гуморальных факторов [3–6].

Цель исследования – изучить влияние иммобилизованных субтилизинов на частоту сердечных сокращений и давление, развиваемое левым желудочком, на модели изолированного по Лангендорфу сердца крысы.

Материал и методы

Эксперименты проведены на крысах-самцах Wistar массой 250–300 г. За час до опыта животным внутрибрюшинно вводили гепарин (500 ЕД на крысу). После декапитации сердце быстро извлекали и помещали в емкость с перфузионным раствором при $t=0$ °C. В аорту вводили канюлю, которую подсоединяли к перфузионной системе. Перфузию проводили через коронарные сосуды под постоянным давлением 60 мм рт. ст. В качестве перфузата использовался модифицированный буфер Кребса–Хензеляйта, содержащий (в mM): NaCl – 118, KCl – 4,7, CaCl_2 – 3, MgSO_4 – 1,2, KH_2PO_4 – 1,2, NaHCO_3 – 25, ЭДТА- Na_2 – 0,5, глюкозу –

5 при насыщении карбогеном (95 % O_2 и 5 % CO_2) и постоянном контроле pH (7,4), температура раствора – 37,5 °C. Для регистрации давления, развиваемого левым желудочком, в левом предсердии за ушком делали разрез, затем через него вводили латексный баллончик, впоследствии заполненный перфузионным раствором до необходимого объема и соединенный с цифровым датчиком давления. Баллончик вводили сначала в полость предсердия, а затем через митральный клапан в полость левого желудочка (ЛЖ). Регистрировали частоту и скорость сокращения. Количество животных в исследуемой группе составило 7 особей. Каждое выделенное сердце работало не менее 15 мин без рециркуляции перфузионного раствора до установления постоянных показателей амплитуды и частоты сокращений. Затем в перфузионный раствор вносили исследуемый компонент, и сердце работало в режиме без рециркуляции в течение 40 мин. В работе представлены данные, полученные на 5, 10, 20, 30, 40-й мин перфузии в присутствии исследуемого препарата. Исследуемый препарат иммобилизованных субтилизинов представляет собой фармацевтическую субстанцию лекарственного препарата Тромбовазим (производитель АО СЦФБ, г. Новосибирск, Россия). Препарат добавляли в перфузионный раствор 4 концентрациях: 150, 300, 600 и 1 200 ЕД/л. Исходные (фоновые) показатели функционирования сердца крысы различались между собой, поэтому изменения под влиянием изучаемого препарата оценивали в процентах по отношению к исходным показателям – «Контроль». Полученные данные подвергали статистическому анализу с использованием программы StatPlus 2009 Professional (США). Статистическую значимость полученных результатов оценивали с помощью t-критерия Стьюдента для связанных выборок (до введения и после введения исследуемого препарата) при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

При добавлении в перфузионный раствор исследуемого препарата в концентрации 150 ЕД/л наблюдалось плавное снижение частоты сердечных сокращений. Показатель ЧСС достоверно снижался начиная с 30-й мин перфузии и к 40-й мин составил 5 % по отношению к исходным данным. В свою очередь, в присутствии субтилизинов достоверно увеличивался показатель давления, развиваемого левым желудочком. Можно отметить, что уже на 5-й мин перфузии данный показатель вырос на 10 %, а на 20-й мин был на 30 % выше по сравнению с исходными величинами. Однако к 40-й мин перфузии он имел тенденцию к снижению и составил 115 % относительно контроля. При добавлении исследуемого препарата в концентрации 300 ЕД/л показатель ЧСС достоверно снижался начиная с 20-й мин перфузии и к 40-й мин составил 10 % по отношению к контролю. При перфузии иммобилизованными субтилизинами достоверно увеличивался показатель давления, развиваемого левым желудочком. Данный показатель вырос на 15 % уже на 5-й мин перфузии, а на 20-й мин был на

30 % выше по сравнению с исходными величинами. Однако к 40-й мин перфузии он имел тенденцию к снижению и составил 125 % относительно контроля. При добавлении исследуемого препарата в концентрации 600 ЕД/л отмечалось достоверное снижение показателя ЧСС, и к 30-й мин он составил 10 % по отношению к исходным данным. Отмечалось увеличение давления, развиваемого левым желудочком. Данный показатель вырос на 10 % уже на 5-й мин перфузии, а на 20-й мин был на 20 % выше по сравнению с контролем. Однако к 40-й мин перфузии он имел тенденцию к снижению и составил 115 % относительно контроля.

При добавлении исследуемого препарата в концентрации 1 200 ЕД/л достоверно снижался показатель ЧСС, и к 40-й мин он составил 10 % по отношению к контролю. Показатель ДЛЖ достоверно увеличивался и на 5-й мин перфузии вырос на 15 %, а на 30-й мин был на 25 % выше по отношению к контролю.

Выводы

Проведенные эксперименты указывают на то, что иммобилизованные субтилизины увеличивают силу сокращения левого желудочка и снижают частоту сердечных сокращений. Эти обстоятельства представляют научно-практический интерес, поскольку комбинация положительного инотропного и отрицательного хронотропного эффектов устанавливает более экономный режим работы сердца. Таким образом, иммобилизованные субтилизины обладают кардиотропным действием. Механизм кардиотропного действия иммобилизованных субтилизинов требует дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Кинит Д.Н., Кихтенко Н.В. Химические и фармакологические свойства субтилизинов. Сибирский научный медицинский журнал. 2016; 36(3):13–22.
2. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Кинит Д.Н., Кихтенко Н.В. Таргетная фармакодинамика субтилизинов. Сибирский научный медицинский журнал. 2016; 36(4): 15–24.
3. Минасян С.М., Галагудза М.М., Сонин Д.Л., Боброва Е.А., Зверев Д.А., Королев Д.В., Дмитриев Ю.В., Васильева М.С., Григорова Ю.Н., Власов Т.Д. Методика перфузии изолированного сердца крысы. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2009; 8(4): 54–59.
4. Merin R.G. The isolated heart preparation. British Journal of Anesthesia. 1988; 60(8)1: 28–34.
5. Sutherland F.J. Mouse isolated perfused heart: characteristics and cautions. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. 2003; 30(11): 867–878.
6. Sutherland F.J. The isolated blood and perfusion fluid perfused heart. Pharmacological Research. 2000; 41(6): 613–627.

ВЛИЯНИЕ БЕНЗОДИАЗЕПИНОВ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА С ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ ПО ДАННЫМ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Д.А. Белинская, П.А. Воронина, А.А. Баталова

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН,
г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Методами молекулярного моделирования изучена возможность модуляции бензодиазепинами связывающей и каталитической активности сывороточного альбумина человека по отношению к параоксону. Показано, что диазепам и мидазолам ингибируют псевдоэстеразную активность альбумина по отношению к параоксону за счет конкуренции за связывание с сайтом Садлоу II. Мидазолам, в отличие от диазепама, увеличивает связывающую активность сайта Садлоу I по отношению к параоксону. Выдвинуто предположение, что это различие обусловлено большими стерическими размерами мидазолама по сравнению с диазепамом.

Ключевые слова: сывороточный альбумин человека, фосфорорганические соединения, диазепам, мидазолам, молекулярное моделирование.

THE EFFECT OF BENZODIAZEPINES ON THE HUMAN SERUM ALBUMIN INTERACTION WITH ORGANOPHOSPHATES ACCORDING TO MOLECULAR MODELING DATA

D.A. Belinskaia, P.A. Voronina, A.A. Batalova

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

Abstract

The possibility of modulation of the binding and catalytic activity of human serum albumin towards paraoxon by benzodiazepines has been studied using molecular modeling methods. Diazepam and midazolam have been shown to inhibit the pseudo-esterase activity of albumin towards paraoxon by competing for binding to the Sudlow II site. Midazolam but not diazepam increases the binding activity of the Sudlow I site towards paraoxon. It has been suggested that this difference is determined by a larger steric size of midazolam compared to diazepam.

Key words: human serum albumin, organophosphates, diazepam, midazolam, molecular modeling.

Актуальность

Несмотря на успехи, достигнутые в последнее время в терапии отравлений фосфорорганическими соединениями (ФОС), острые отравления обычно протекают с преобладанием тяжелых форм холинэргического криза. Даже в случае выживания у пострадавших может возникнуть отставленная патология: так называемый «промежуточный синдром», дистальная (периферическая) сенсорномоторная аксонопатия, симптомы вегетативных изменений сердечно-сосудистой системы и т. д. [1]. Одна из актуальных задач клинической токсикологии – разработка терапии, направленной на стехиометрическую и / или каталитическую детоксикацию ФОС в кровеносном русле, которая предотвратит попадание яда в нервно-мышечные и нейрональные синапсы и поможет избежать необратимых последствий отравления. Установлено, что мажорный белок крови альбумин может участвовать в детоксикации ФОС посредством их связывания и / или гидролиза [2–4]. Выявлены два основных сайта гидролитической активности белка. Сайт Садлоу I с каталитическим аминокислотным остатком Tyr150 отвечает за истинно эстеразную активность альбумина (связывание субстрата с активным центром альбумина с последующим распадом комплекса на фермент и продукт), сайт Садлоу II с каталитическим аминокислотным остатком Tyr411 – за псевдоэстеразную (необратимое связывание субстрата с ферментом). Трехмерная структура альбумина достаточно лабильна, и при взаимодействии с разными веществами имеют место кооперативность и аллостерическая модуляция, присущие мультимерным белкам. Бензодиазепины, применяемые при отравлении ФОС в качестве противосудорожных средств, с высокой эффективностью связываются с альбумином в сайте Садлоу II [5]. Но влияние этого ряда соединений на конформацию белка и на его связывающие и каталитические свойства по отношению к ФОС до конца не изучено.

Цель исследования – на примере параоксона методами молекулярного моделирования изучить влияние бензодиазепинов диазепама и мидазолама на взаимодействие сывороточного альбумина человека (ЧСА) с ФОС.

Материал и методы

В качестве трехмерной модели ЧСА использовали данные рентгеноструктурного анализа молекулы ЧСА со связанной в сайте Садлоу II молекулой диазепама из базы данных белковых структур, код структуры 2bxf [5]. Трехмерные модели лигандов строили с помощью программы HyperChem 8.0.8 [6]. Докинг лигандов в центры связывания альбумина проводили с помощью онлайн-версии программного пакета Rosetta [7]. Конформационные изменения во времени комплексов ЧСА с лигандами рассчитывали методом молекулярной динамики с помощью программного пакета Gromacs 2018.1 [8]. Время симуляции конформационных изменений комплексов методом молекулярной динамики (длина траектории) составило 20 нс с шагом интегрирования 0,002 пс. Оценку свободной энергии связывания лигандов с альбумином проводили методом, сочетающим использование молекулярной механики и решение уравнения Пуассона–Больцмана (molecular mechanics – Poisson Boltzmann surface area,

ММ-PBSA) с помощью модуля *g_mmpbsa* [9], встроенного в программный пакет Gromacs. Продуктивность фермент-субстратного комплекса оценивали по расстоянию между атомом фосфора параоксона и гидроксильным атомом кислорода каталитического тирозина Tyr150 (distP-O). Для того чтобы могла произойти нуклеофильная атака атома кислорода гидроксильной группы каталитического тирозина на атом фосфора параоксона, значение distP-O не должно превышать 0,4 нм. Более подробно параметры вычислительных экспериментов описаны в наших предыдущих работах [10].

Результаты

Методом молекулярного докинга были получены комплексы ЧСА с параоксоном в сайте Садлоу I и диазепамом или мидазоламом в сайте Садлоу II: ЧСА-параоксон, ЧСА-диазепам, ЧСА-мидазолам, ЧСА-параоксон-диазепам, ЧСА-параоксон-мидазолам. Полученные комплексы ЧСА с параоксоном удовлетворяют критерию продуктивности: значение distP-O в них составляет 0,38 нм. Результат молекулярного докинга диазепама в сайт Садлоу II ЧСА совпал с данными рентгеноструктурного анализа [5]. Согласно полученным нами данным, мидазолам также связывается с ЧСА в схожей с диазепамом конформации.

На следующем этапе конформационные изменения комплексов были изучены методом молекулярной динамики. По полученным траекториям были рассчитаны зависимости значений distP-O от времени. Продуктивные комплексы сайта Садлоу I ЧСА с параоксоном нестабильны независимо от того, связан ли диазепам или мидазолам в сайте Садлоу II: во всех фермент-субстратных комплексах параоксон за несколько пикосекунд удаляется от каталитического тирозина, и затем на протяжении всего периода симуляции значение distP-O не опускается ниже 0,5 нм. Таким образом, связывание бензодиазепинов в сайте Садлоу II ЧСА, по всей видимости, не влияет на вероятность псевдоэстеразной реакции в сайте Садлоу I.

Мы проанализировали конформацию параоксона в сайте Садлоу I в отсутствие и в присутствии бензодиазепинов в сайте Садлоу II (рис. 1). Анализ положения молекулы параоксона в конечных точках траекторий показал, что как в случае свободного сайта Садлоу II, так и в присутствии диазепама в этом сайте молекула параоксона имеет схожую конформацию внутри сайта Садлоу I (рис. 1, А, 1, Б). В этих комплексах молекула параоксона вытянута вдоль полости сайта, нитрогруппа располагается вблизи входа в сайт, ограниченного аминокислотными остатками Lys195, Lys199, Arg218, Arg222 и Glu292. В присутствии мидазолама в сайте Садлоу II молекула параоксона лежит на дне сайта Садлоу I, отделенная от поверхности белка остовом фрагмента полипептидной цепи, состоящим из аминокислотных остатков Ala291-Glu292-Val293. Более того, в случае присутствия мидазолама аминокислотные остатки Lys195, Lys199, Arg218, Arg222 и Glu292 сближаются, закрывая вход в сайт Садлоу I (рис. 1, В). Что касается конформации бензодиазепинов, положение молекул диазепама и мидазолама в сайте Садлоу II не изменяется на протяжении всех 20 нс симуляции независимо от того, свободен ли сайт Садлоу I или в нём связан параоксон.

Далее мы оценили значения свободных энергий образования исследуемых белок-лигандных комплексов (ΔG). Значения ΔG для диазепама составили $-30,0 \pm 2,8$ ккал/моль в отсутствие параоксона и $-30,7 \pm 1,9$ ккал/моль в присутствии параоксона в сайте Садлоу I, для мидазолама $-31,8 \pm 2,2$ и $-32,3 \pm 2,4$ ккал/моль соответственно. Таким образом, связывание ФОС в сайте Садлоу I практически не влияет на связывающую способность альбумина по отношению к бензодиазепинам. Этот результат согласуется с нашими предыдущими данными: связывающая активность сайта Садлоу II альбуминов разных видов слабо подвержена аллостерической модуляции. Согласно полученным нами данным, значение ΔG для параоксона в сайте Садлоу II составляет $-25,2 \pm 2,8$ ккал/моль [10]. Таким образом, мидазолам и диазепам связываются с сайтом Садлоу II более эффективно, чем параоксон. Как уже было отмечено выше, сайт Садлоу II отвечает за псевдоэстеразную активность альбумина. Поэтому за счет более эффективного связывания с этим сайтом бензодиазепины могут ингибировать псевдоэстеразную активность альбумина по отношению к параоксону. Этот вывод подтверждают наши эксперименты *in vitro* по определению влияния диазепама на скорость гидролиза нетоксичного аналога параоксона *n*-нитрофенилацетата. Для параоксона значения ΔG составили $-21,7 \pm 2,5$ ккал/моль в отсутствие бензодиазепинов, $-22,0 \pm 2,4$ в присутствии диазепама и $-24,3 \pm 2,6$ в присутствии мидазолама. То есть связывание диазепама практически не влияет на связывающую активность сайта Садлоу I по отношению к параоксону, а связывание мидазолама несколько усиливает её. Основной вклад в эту разницу вносит энергия сил Ван-дер-Ваальса. Анализ вклада различных аминокислот в энергию взаимодействия альбумин-параоксон выявил, что в присутствии мидазолама возрастает

вклад аминокислотного остатка Glu292. Это согласуется с результатами конформационного анализа, указывающего на близкий контакт молекулы параоксона с фрагментом полипептидной цепи Ala291-Glu292-Val293. Интересно отметить, что диазепам и мидазолам, согласно экспериментам *in vivo*, оказывают разный эффект на выживаемость крыс при отравлении параоксоном [11].

Выводы

Бензодиазепины, согласно полученным нами данным, не влияют на эстеразную активность альбумина к параоксону и ингибируют псевдоэстеразную активность за счет конкурентного связывания в сайте Садлоу II. Диазепам и мидазолам по-разному влияют на связывающую активность сайта Садлоу I: диазепам не влияет на аффинность сайта к параоксону, а мидазолам способствует более прочному связыванию параоксона в сайте Садлоу I. Мы полагаем, что такая разница может быть обусловлена тем, что за счёт больших стерических размеров мидазолам сильнее влияет на конформацию молекулы альбумина.

Работа выполнена в рамках государственного задания № АААА-А18-118012290142-9 при поддержке РФФИ (проект №18-015-00304).

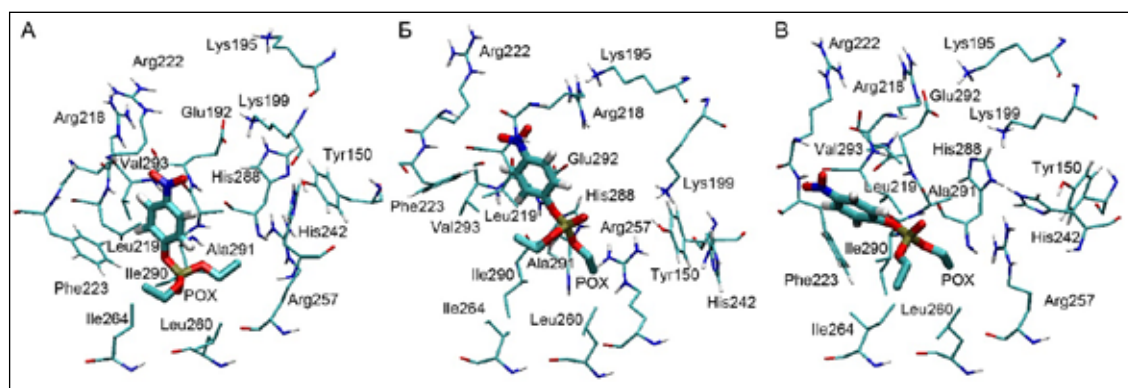


Рис. 1. Конформация параоксона (POX) в сайте Садлоу I сывороточного альбумина человека в отсутствие и в присутствии бензодиазепинов в сайте Садлоу II: А – сайт Садлоу II свободен от лигандов, Б – в сайте Садлоу II связана молекула диазепама, В – в сайте Садлоу II связана молекула мидазолама

ЛИТЕРАТУРА

1. Kaur S., Singh S., Chahal K.S., Prakash A. Potential pharmacological strategies for the improved treatment of organophosphate-induced neurotoxicity. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2014; 92(11): 893–911. doi: 10.1139/cjpp-2014-0113.
2. Sogorb M.A., García-Argüelles S., Carrera V., Vilanova E. Serum albumin is as efficient as paraxonase in the detoxication of paraoxon at toxicologically relevant concentrations. *Chem Res Toxicol.* 2008 Aug; 21(8): 1524–9. doi: 10.1021/tx800075x.
3. Li B., Nachon F., Froment M.T., Verdier L., Debouzy J.C., Brasme B., Gillon E., Schopfer L.M., Lockridge O., Masson P. Binding and hydrolysis of soman by human serum albumin. *Chem Res Toxicol.* 2008 Feb; 21(2): 421–31. doi: 10.1021/tx700339m.
4. Гончаров Н.В., Белинская Д.А., Разыграев А.В., Уколов А.И. О ферментативной активности альбумина. *Биоорганическая химия.* 2015; 41(2): 131–144.
5. Ghuman J., Zunszain P.A., Petitpas I., Bhattacharya A.A., Otagiri M., Curry S. Structural basis of the drug-binding specificity of human serum albumin. *J. Mol. Biol.* 2005; 353(1): 38–52. doi: 10.1016/j.jmb.2005.07.075.
6. Froimowitz M. HyperChem: a software package for computational chemistry and molecular modeling. *Biotechniques.* 1993; 14(6): 1010–1013.
7. Deluca S., Khar K., Meiler J. Fully Flexible Docking of Medium Sized Ligand Libraries with RosettaLigand. *PLoS ONE.* 2015; 10(7): e0132508.
8. Abraham M.J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J.C., Hess B., Lindahl E. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX.* 2015; 1–2: 19–25.
9. Kumari R., Kumar R. Open Source Drug Discovery Consortium, Lynn A. g_mmpbsa a GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations. *J. Chem. Inf. Model.* 2014; 54: 1951–1962.
10. Белинская Д.А., Терпиловский М.А., Баталова А.А., Гончаров Н.В. Влияние степени окисления остатка Cys34 альбумина на взаимодействие белка с параоксоном по данным молекулярного моделирования. *Биоорганическая химия.* 2019; 45(6): 640–649.
11. Krutak-Krol H., Domino E.F. Comparative effect of diazepam and midazolam on paraoxon toxicity in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1985; 81(3Pt1): 545–550.

АНТИДЕПРЕССИВНЫЙ И ХРОНОФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТЫ ЛИТИЙСОДЕРЖАЩЕГО ЭКСТРАКТА ЛАБАЗНИКА ВЯЗОЛИСТНОГО (*FILIPENDULA ULMARIA*)

Т.И. Бердникова¹, О.С. Дорошенко²

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Россия¹,
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», г. Томск, Россия²

Аннотация

В результате проведенного нами исследования установлены антидепрессивные и хронофармакологические свойства литийсодержащего водного экстракта лабазника вязолистного. Они проявились в увеличении времени активного плавания крыс в тесте Порсолта, а также в ускорении перестройки поведенческого и температурного ритмов в период зимнего солнцестояния на свободно текущий режим с затягиванием их периода.

Ключевые слова: литий, лабазник вязолистный, зимнее солнцестояние, биологические ритмы, «открытое поле», тест Порсолта.

ANTIDEPRESSANT AND CHRONOPHARMACOLOGY EFFECTS OF LITHIUM – CONTAINING EXTRACT OF *FILIPENDULA ULMARIA*

T.I. Berdnikova¹, O.S. Doroshenko²

Federal state autonomous educational institution of higher education «National research Tomsk state university», Tomsk, Russia¹,
Federal state budgetary institution «Siberian federal scientific and clinical center of the Federal medical and biological agency», Tomsk, Russia²

Abstract

As a result of our research, we established the antidepressant and chronopharmacological properties of the lithium-containing aqueous extract of *Filipendula ulmaria*. They were manifested in increasing the time of active swimming of rats in the Porsolt test, as well as in accelerating the adjustment of behavioral and temperature rhythms during the winter solstice to a freely current mode with a prolongation of their period.

Key words: lithium, *Filipendula ulmaria*, winter solstice, biological rhythm, «open field», Porsolt test.

Актуальность

Биологические ритмы являются чувствительным индикатором адаптивных возможностей организма. Циркадианная система играет ведущую роль в регуляции цикла «сон–бодрствование» и субъективном ощущении здоровья и благополучия [1]. Между циркадианными нарушениями и некоторыми наиболее характерными клиническими проявлениями депрессии отмечена тесная связь [2]. Одним из возможных объяснений является то, что циркадные часы модулируют биологические реакции на стрессовые факторы окружающей среды. Все это актуализирует восстановление нормальной хронобиологии организма для повышения эффективности антидепрессивной терапии [3]. Литий принадлежит к числу биологически активных микроэлементов, его соли применяются в психиатрии как психотропные средства для профилактики и устранения аффективных расстройств. Соли лития являются первыми фармакологическими средствами, для которых установлен четкий хронобиологический эффект [4]. Известно, что макро- и микроэлементы в растениях находятся в оптимальных соотношениях и образуют комплексные соединения с биологически активными веществами. В результате этого значительно изменяется их функциональная активность, что способствует модуляции их фармакологических свойств, улучшая параметры фармакоки-

нетики лекарственных средств, таких как усвоение, транспорт, биотрансформация [5]. По ранее проведенным исследованиям установлено, что представители некоторых семейств растений способны избирательно накапливать литий в высоких концентрациях [6]. Особое внимание привлекают растения рода *Filipendula* (лабазник) из семейства розоцветных. Разнообразие биологически активных веществ этих видов растений и повышенное содержание лития обуславливает интерес для научных исследований в качестве возобновляемого источника биологически активного вещества с повышенным содержанием лития для разработки эффективных препаратов разнонаправленного действия [7].

Цель исследования – выявление специфической для лития антидепрессивной и хронобиологической активности экстракта лабазника вязолистного (*F. ulmaria*).

Материал и методы

Экстракт получен методом многократной перколяции. Для этого высушенное при комнатной температуре и измельченное сырье лабазника вязолистного настаивали в 16 % спирте этиловом в течение 24 ч с последующей передвижкой и извлечением сырья. Далее жидкий экстракт высушивали при температуре не выше 40 °С, после чего навески сухого экстракта для каждого животного растворяли в очищенной воде. Содержание лития в сухом растительном сырье, а также в экстракте, полученном на его основе, определяли при помощи метода пламенной фотометрии на спектрометре «SOLAAR» серии S. Экспериментальное исследование выполнено на половозрелых самцах крыс линии Wistar массой 200–300 г в период зимнего солнцестояния (свет : темнота = 6 : 18 ч). На период проведения исследования животные содержались при естественном освещении на стандартном пищевом рационе со свободным доступом к воде. Эксперимент проводился в соответствии с международными правилами и нормами обращения с лабораторными животными, не противоречащими Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей (Страсбург, 1986). За две недели до эксперимента животных разделили на 3 экспериментальные группы: № 1 – интактная – не подвергалась никаким манипуляциям, № 2 – контрольная – получала воду очищенную в эквивалентном опытной группе количестве, № 3 – опытная – получала литийсодержащий экстракт лабазника вязолистного. После адаптации к зоосоциальной среде и экспериментальным условиям проводили внутрижелудочное введение исследуемого экстракта на протяжении 9 дней. Дозу водного экстракта лабазника вязолистного рассчитывали в соответствии с содержанием лития в 10 мг/кг официальной соли lithium oxybate. Для оценки седативного, антидепрессивного и хронофармакологического эффектов экстракта лабазника вязолистного использовали наиболее распространенные поведенческие тесты. Ориентировочно-исследовательскую активность крыс изучали в тесте «открытое поле». Замеры проводили каждые 4 ч в течение трех суток подряд. При этом регистрировали элементарные двигательные акты: горизонтальную активность, вертикальную активность, норковый компонент, груминг в течение 5 мин. Таким образом, для каждого животного получено по 18 измерений. Для анализа седативного действия экстракта использовали данные, полученные в первый день тестирования. Температуру тела крыс измеряли после каждого замера с помощью ректального электротермометра ПЭМ-1, погружая его датчик в прямую кишку животного.

На 9-е сут через час после введения экстракта осуществляли тестирование на основе классической методики Порсолта. Каждую крысу помещали на 15 мин в сосуд, заполненный водой до отметки на высоте 30 см, температура воды соответствовала 24–25 °С. Фиксировали длительность активного плавания (энергичные движения всеми лапами с активным перемещением), пассивного плавания (слабые гребки лапами, необходимые для поддержания тела на плаву) и иммобилизации (полная неподвижность). Из эксперимента животных выводили декапитацией под эфирным наркозом, затем извлекали мозг, сердце, почки и собирали кровь для последующего определения содержания в них лития методом пламенной фотометрии. Статистическая обработка данных проводилась в программе StatSoft Statistica 10. Обработку результатов, полученных в тесте Порсолта, проводили с помощью непараметрического теста Манна–Уитни. Обработку результатов, полученных в тесте «открытое поле», проводили методом однофакторного дисперсионного анализа. Статистическую обработку первичных хронограмм проводили методами однофакторного дисперсионного анализа, спектрального и косинор-анализа.

Результаты

В нашем исследовании с помощью метода пламенной фотометрии установлено высокое содержание лития в жидком экстракте лабазника вязолистного, которое составило $90 \pm 6,9$ мг/кг. В тесте Порсолта отмечалось изменение плавательного поведения в опытной группе

животных. Зарегистрировано статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение длительности активного плавания на 67,5 % относительно контрольной группы и снижение длительности состояния иммобилизации на 41,1 %. Полученные результаты свидетельствуют о способности экстракта лабазника вязолистного снижать депрессивноподобное состояние у экспериментальных животных. В тесте «открытое поле» экстракт лабазника вязолистного демонстрировал выраженный седативный эффект, который отмечался как статистически значимый ($p < 0,05$). При этом понижалась локомоторная активность животных опытной группы в виде уменьшения числа пересеченных квадратов, исследованных норок, вертикальных стоек. Анализ хронофармакологического экспериментального материала позволил сделать вывод, что литийсодержащий экстракт лабазника вязолистного обладает выраженным ритмомодулирующим свойством. В период зимнего солнцестояния он способствовал синхронизации ритмов регистрируемых показателей двигательной активности и температуры тела между собой. Кроме того, экстракт лабазника вязолистного демонстрировал специфическое для лития затягивание периодов циркадных ритмов температуры тела и двигательной активности, что сопровождалось появлением циркадных гармоник с доминирующим 25-часовым ритмом. Кроме того, он способствовал ускорению перестройки ритмов на эндогенный режим.

Вывод

Таким образом, представленные выше экспериментальные данные демонстрируют выраженный антидепрессивный, хронобиологический, а также седативный эффекты литийсодержащего экстракта лабазника вязолистного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барыльник Ю.Б., Филиппова Н.В. Современные подходы к синхронизации циркадианных ритмов при депрессии. Журнал неврологии и психиатрии. 2014; 11: 124–128.
2. Eric J.N. Neurobiology of Depression. Biochemical Pharmacology. 2015; 101–111.
3. Sachar E.J., Baron M. The biology of affective disorders. Annu. Rev. Neurosci. 1979; 505–17. doi: 10.1146/annurev.ne.02.030179.002445.
4. Замощина Т.А. Влияние экстракта лабазника на ритмическую организацию суточной динамики температуры тела и поведенческой активности крыс. Вестник Томского государственного университета. Биология. 2018; 44: 32–25.
5. Отмахов В.И. Аналитическое сопровождение получения литийсодержащих растительных экстрактов ритмомодулирующего действия. Вестник Томского государственного университета. Химия. 2016; 2(4): 35–44.
6. Краснов Е.А., Авдеева Е.Ю. Химический состав растений рода *Filipendula* (Обзор). Химия растительного сырья. 2012; 4: 5–12.
7. Гудкова Н.Ю. О перспективах интродукции представителей рода лабазник в качестве источников лекарственного сырья. Сельскохозяйственная биология. 2012; 5: 73–79.

ВЛИЯНИЕ ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА НА АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ СВЕТОВЫХ ДЕСИНХРОЗОВ И ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

А.А. Гостюхина¹, В.В. Ярцев^{1,2,3}, А.В. Проколова^{1,3}

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», г. Северск, Россия¹,
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ Российской Федерации, г. Томск, Россия²,
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Россия³

Аннотация

Известно, что десинхронизация и физическая нагрузка до состояния утомления являются мощными стрессорными факторами для организма. Несмотря на наличие разнообразных способов и средств, ускоряющих процессы перестройки и восстановления нормальной жизнедеятельности в подобных ситуациях, поиск новых направлений решения данной проблемы остаётся актуальным. Перспективным средством в данном отношении является этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС) или Мексидол – известное фармакологическое средство с широким спектром действия и показаниями к применению. Цель данного исследования – изучение влияния ЭМГПС на адаптивные реакции крыс после световой или темновой депривации и физической нагрузки. Исследование выполнено на 70 половозрелых крысах-самцах породы Wistar, разделённых на 7 групп. Для индукции экспериментального десинхронизма животные опытных групп в течение 10 сут содержались при искусственном ярком освещении либо

полном затемнении. Физическое переутомление формировали методикой принудительного плавания крыс до полного утомления в собственной модификации. ЭМГПС вводили внутримышечно в дозе 10 мг/кг после развития десинхроноза и отмены деприваций с 1-го по 5-й день плавательного теста за 30 мин до его предъявления. Контрольным животным в аналогичных условиях вводили физиологический раствор. В конце эксперимента у животных оценивали поведенческую активность тестом «открытое поле», стандартными методами определяли уровень лактата и кортикостерона в сыворотке крови и проводили гистологический анализ надпочечников. Выявлено, что ЭМГПС повышал работоспособность крыс в плавательном тесте как в естественных условиях освещения, так и при световых десинхронозах, способствуя формированию перекрестной адаптации к физической нагрузке в естественных условиях освещения и пролонгируя это состояние в условиях десинхронозов. При этом психофизиологическое состояние животных при изучаемых нагрузках не изменялось. Анализ уровня кортикостерона в сыворотке крови и состояния адренкортикоцитов надпочечников крыс выявил противострессорный эффект ЭМГПС, выраженность которого зависела от фазы стресса и характера депривации.

Ключевые слова: световой десинхроноз, плавательный тест, мексидол, работоспособность, лактат, кортикостерон, надпочечники.

THE EFFECT OF ETHYL METHYLHYDROXYPYRIDINE SUCCINATE ON ADAPTIVE REACTIONS IN LABORATORY RATS UNDER CONDITIONS OF LIGHT DESYNCHRONOSIS AND PHYSICAL ACTIVITY

A.A. Gostyukhina¹, V.V. Yartsev^{1,2,3}, A.V. Prokopova^{1,3}

Siberian Federal science-clinical center of Federal medicobio-logical agency, Tomsk, Russia¹,
Federal State budgetary educational institution of Higher Education «Siberian State Medical University»,
Tomsk, Russia²,
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia³

Abstract

It is known that desynchronosis and exercise to the state of fatigue are powerful stressors for the body. Despite the presence of various methods and means that accelerate the processes of restructuring and restoring normal life in such situations, the search for new directions for solving this problem remains relevant. A promising tool in this regard is ethylmethylhydroxypyridine succinate (EMHPS) or Mexidol, a well-known pharmacological agent with a wide spectrum of action and indications for use. The purpose of this study is to study the effect of EMHPS on adaptive responses of rats after light or dark deprivation and physical activity. The study was performed on 70 sexually mature Wistar male rats, divided into 7 groups. For the induction of experimental desynchronosis, the animals of the experimental groups were kept for 10 days under artificial bright light or complete dimming. Physical overfatigue was formed by the method of forced swimming of rats to complete fatigue in their own modification. EMHPS was administered intramuscularly at a dose of 10 mg / kg after the development of desynchronosis and the abolition of deprivation from 1 to 5 days of the swimming test 30 minutes before it was presented. At the end of the experiment, the animals were assessed for their behavioral activity using the open field test, standard methods were used to determine the level of lactate and corticosterone in the blood serum and histological analysis of the adrenal glands was performed. It was found that EMHPS increased the efficiency of rats in the swimming test, both in natural lighting conditions and under light desynchronosis, contributing to the formation of cross-adaptation to physical activity in natural lighting conditions and prolonging this state under desynchronosis conditions. In this case, the psychophysiological state of the animals under the studied loads did not change. An analysis of the level of corticosterone in the blood serum and the state of rat adrenal corticocytes revealed the anti-stress effect of EMHPS, the severity of which depended on the phase of stress and the nature of deprivation.

Key words: light desynchronosis, swimming test, mexidol, working capacity, lactate, corticosterone, adrenal glands.

Актуальность

Этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС) – синтетический препарат с широким спектром действия и показаниями к применению, создание и внедрение которого в клиническую практику является несомненным достижением отечественной фарминдустрии [1]. Это эффективный антиоксидант, антигипоксикант, ноотроп, анксиолитик, церебро- и кардиопротектор с антиагрегантными, антиатеросклеротическими, антистрессорными и

противосудорожными свойствами [1]. Кроме того, как актопротектор препарат используется в различных видах спортивной деятельности человека для повышения работоспособности и адаптивных возможностей [2]. Известно, что десинхроноз и физическая нагрузка до состояния утомления являются мощными стрессирующими факторами для организма, которые могут сопровождаться астеническим синдромом, нарушением сна, повышенной утомляемостью, снижением работоспособности, возникновением патологических процессов [3]. В настоящее время разработаны способы и средства, ускоряющие процессы перестройки и восстановления нормальной жизнедеятельности в подобных ситуациях. Однако поиск новых направлений решения данной проблемы продолжает оставаться актуальным.

Цель исследования – изучение влияния этилметилгидроксипиридина сукцината на адаптивные реакции крыс после световой или темновой деприваций и физической нагрузки.

Материал и методы

Исследование выполнено на 70 половозрелых крысах-самцах породы Wistar массой 220–250 г, содержащихся в стандартных условиях вивария на обычном рационе со свободным доступом к воде и пище. Все процедуры с животными выполнялись в соответствии с международными правилами и нормами [4]. Для индукции экспериментального десинхроноза животные опытных групп в течение 10 сут круглосуточно находились при искусственном ярком освещении 150 LX либо полном затемнении 2–3 LX. Моделью физической нагрузки выбрана методика принудительного плавания крыс до полного утомления в собственной модификации [5]. Плавательный тест проводился во всех группах животных параллельно в одно и то же время суток (с 10.00 до 11.00 ч) в течение 5 дней подряд сразу после помещения животных из депривированных условий освещения в естественные. ЭМГПС в виде препарата «Мексидол» («Фармасофт», Россия) вводили внутримышечно в дозе 10 мг/кг. Для этого заводской 5 % раствор ЭМГПС разводили до 1 %, чтобы точно дозировать выбранную дозу из расчета 0,1 мл разведенного раствора на 100 г массы тела животного. После формирования десинхроноза и отмены световой или темновой деприваций препарат вводили с 1-й по 5-й день плавательного теста с нагрузкой за 30 мин до его предъявления. Контрольным животным в аналогичных условиях вводили 0,9 % раствор хлорида натрия в соответствующем объеме. Животные случайным образом были разделены на 7 групп по 10 особей. Три группы находились в естественных условиях освещения. Одна из них была интактная (группа 0) и не подвергалась никаким воздействиям. Животные 1-й и 2-й групп подвергались физической нагрузке. Кроме того, крысы 1-й группы получали физиологический раствор, животные 2-й группы – ЭМГПС. Крысы 3-й и 4-й групп находились в условиях темновой депривации, крысы 5-й и 6-й групп – световой депривации до предъявления физической нагрузки и получали либо физиологический раствор (3-я и 5-я группы), либо ЭМГПС (4-я и 6-я группы). После завершения плавательного теста животных оценивали поведенческую активность тестом «открытое поле» [6] и выводили из эксперимента одномоментным декапитированием под CO₂-наркозом [4]. У декапитированных животных собирали кровь для получения сыворотки с целью определения уровня лактата и кортикостерона. Лактат в сыворотке крови крыс (ммоль/л) определяли с использованием набора реагентов для колориметрического анализа («Ольвекс диагностикум», Россия) и биохимического анализатора Biochem SA (Hightechnology, США) при длине волны 500 нм. Уровень кортикостерона в сыворотке крови оценивали с помощью набора реагентов для иммуноферментного анализа (IBL, Германия) и микропланшетного фотометра STAR FAX 303 PLUS (США) при длине волны 450 нм.

Гистологический анализ надпочечников проводили по стандартной методике [7]. У животных после выведения извлекали левый надпочечник и фиксировали в 10 % забуференном формалине, обезживали в растворах этанола возрастающей крепости, просветляли в бутаноле и заключали в парафин (LabPoint, Россия). Срезы толщиной 5–7 мкм изготавливали на ротационном микротоме RMD-3000 (MTPoint, Россия), окрашивали гематоксилином Майера и эозином. Микроскопию препаратов, изготовление снимков и измерения осуществляли с использованием системы из микроскопа Axio Lab A1, камеры AxioCam ERc 5s и программного обеспечения ZEN 2012 (Zeiss, Германия). На серийных микрофотоснимках измеряли максимальный (А) и минимальный (В) диаметры ядер для 30 клеток пучковой зоны коры надпочечника, а затем рассчитывали объем ядра по общепринятой формуле [8]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft, США). В зависимости от характера распределения, который оценивали критерием Шапиро–Уилка, для сравнений независимых выборок использовали *t*-критерий Стьюдента или критерий Манна–Уитни и критерий Вилкоксона для зависимых рядов данных. Для описания вариационных рядов рассчитывали медиану (Me) и квартили (Q1 – 25 %; Q3 – 75 %). При проверке статистических гипотез принимали уровень статистической значимости менее 5 % ($p < 0,05$).

Результаты

Установлено, что препарат на фоне обоих десинхронозов продемонстрировал себя как стрессопротектор и актопротектор одинаково эффективно. Он пролонгировал состояние тренированности и резистентности к физической нагрузке, сохраняя работоспособность в плавательном тесте на высоком уровне. При этом уровень лактата не изменялся. Более того, препарат предупреждал подъем лактата при световой депривации. Очевидно, активируя энергетику клетки и утилизацию лактата, ЭМГПС быстро восстанавливал метаболизм в мышечной, нервной и других тканях и нормализовал как аэробные, так и анаэробные процессы в них. При этом психофизиологическое состояние животных не изменялось. В условиях сочетанных последовательно предъявляемых стрессорных нагрузок ЭМГПС продемонстрировал противострессорные свойства, что выражалось в снижении уровня кортикостерона и уменьшении объема ядер адренкортикоцитов надпочечников. Выраженность стресс-протекторного воздействия препарата зависела от фазы стресса и характера депривации. При естественных условиях освещения и после световой депривации, когда животные находились в фазе стресса, близкой к тревоге, эффект препарата проявлялся выраженнее, чем после темновой депривации в условиях развивающегося истощения. Тем не менее даже в последнем случае он показал себя как средство, предупреждающее истощение у животных и срыв адаптации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронина Т.А., Капица Е.А., Иванова Е.А. Сравнительное исследование влияния мексидола и милдроната на физическую работоспособность в эксперименте. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2017; 4(117): 71–74. doi: 10.17116/jnevro20171174171-74.
2. Фудин Н.А., Хадарцев А.А., Несмеянов А.А. Возможности активации митохондриальной активности у спортсменов мексидолом. Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015; 2: 2–8. doi: 10.12737/11204.
3. Арушанян Э.Б., Батурич В.А., Ованесов К.Б. Основы хрономедицины и хронофармакологии. Ставрополь: СтГМУ, 2016. 147 с.
4. ГОСТ Р-53434–2009. Принципы надлежащей лабораторной практики. М.: Стандартинформ, 2010.
5. Гостюхина А.А., Зайцев К.В., Замошина Т.А., Светлик М.В., Жукова О.Б., Абдуллина Н.Г., Зайцев А.А., Воробьев В.А. Способ моделирования физического переутомления у крыс в условиях десинхронозов. Патент № 2617206, заяв. 11.08.2015; опубл. 21.04.2017, бюл. № 12.
6. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа, 1991. 400 с.
7. Exbrayat J.M. Classical methods of visualization. Histochemical and cytochemical methods of visualization. Boca Raton, London, New York: CRC Press Taylor and Francis Group, 2013: 3–58.
8. Кириллов О.И., Хасина Э.И., Дуркина В.Б. Влияние стресса на постнатальный рост массы тела и надпочечников крыс. Онтогенез. 2003; 34(5): 371–376.

ОТДАЛЕННЫЕ ГОНАДОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ МЕТОТРЕКСАТА НА СПЕРМАТОГЕННЫЕ КЛЕТКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

В.А. Григорьева, С.И. Камалова

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины
имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В экспериментальном исследовании изучено состояние мужской репродуктивной системы крыс в отдаленные сроки после курсового введения метотрексата в терапевтической дозе. Установлено, что массовые коэффициенты семенника и эпидидимиса, общее количество сперматозоидов не отличались от таковых у интактных животных. При этом наблюдалось статистически значимое снижение подвижности спермиев и увеличение количества их патологических форм. В то же время при скрещивании исследуемых самцов с интактными самками не выявлено снижения индекса фертильности. Судя по показателям постимплантационной смертности, введение метотрексата самцам не приводило к появлению доминантных летальных мутаций (ДЛМ) в мужских половых клетках. Однако оценка мутагенности, проведенная на мышах в тесте ДНК-комет после курсового введения метотрексата в терапевтической дозе, показала, что мужские половые клетки животных экспериментальной группы характеризовались повышенным содержанием ДНК-разрывов.

Ключевые слова: метотрексат, крысы-самцы, отдаленные гонадотоксические эффекты, плодовитость, сперматогенез, ДНК-повреждения.

LONG-TERM GONADOTOXIC EFFECTS OF METHOTREXATE ON SPERMATOGENIC CELLS IN EXPERIMENTAL ANIMALS

V.A. Grigorieva, S.I. Kamalova

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

In an experimental study, the condition of the male reproductive system of rats was studied at a long time after a course of methotrexate in a therapeutic dose. It was found that the mass coefficients of the testis and epididymis, the total number of spermatozoa did not differ from those in intact animals. At the same time, a statistically significant decrease in sperm motility and an increase in the number of their pathological forms were observed. At the same time, when the males studied were crossed with intact females, there was no decrease in the fertility index. Judging by the rates of post-implantation mortality, administration of methotrexate to males did not lead to the appearance of dominant lethal mutations (DLM) in male germ cells. However, an assessment of mutagenicity performed in mice in a DNA-comet test after a course of methotrexate at a therapeutic dose showed that male reproductive cells of animals of the experimental group were characterized by an increased content of DNA breaks.

Key words: methotrexate, male rats, long-term gonadotoxic effects, fecundity, spermatogenesis, DNA damage.

Актуальность

Метотрексат (МТХ), используемый в клинической практике не одно десятилетие, известен прежде всего как цитостатический препарат из группы антиметаболитов, антогонистов фолиевой кислоты. Механизм его противоопухолевого действия связан с ингибированием синтеза пуриновых нуклеотидов и тимидилата в результате необратимого связывания с дигидрофолатредуктазой, что препятствует восстановлению дигидрофолата в активный тетрагидрофолат. В то же время метотрексат является представителем нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), терапевтический эффект которого связан не с ингибированием синтеза простагландинов, как у классических НПВП, а со стимуляцией высвобождения аденозина в очаге воспаления. Благодаря своим противовоспалительным свойствам он широко применяется для лечения целого спектра различных заболеваний [1]. Метотрексат занимает центральное место в комбинированной терапии ревматоидного артрита и используется при лечении болезни Крона, рассеянного склероза, псориаза, псориатического артрита [2]. Хорошо известно, что метотрексат является высокотоксичным соединением. К настоящему времени изучено побочное действие этого препарата на систему крови, ЖКТ, печень, нервную систему. Установлено также, что он оказывает, как и все цитостатические средства, прямое повреждающее действие на созревающие гаметы. Препарат обладает мутагенным эффектом, в том числе и на мужские половые клетки [3]. В настоящее время метотрексат широко применяется у мужчин репродуктивного возраста. Обнадёживающие результаты его использования позволяют пациентам надеяться на полные длительные ремиссии. В связи с этим актуальным является изучение возможных отдалённых негативных последствий его применения. Это касается прежде всего состояния воспроизводящей функции, которое существенно определяет качество жизни [3]. Имеющиеся в литературе данные об отдалённых эффектах метотрексата на формирующиеся мужские половые клетки являются малочисленными [4]. Между тем этот вопрос требует тщательного рассмотрения, так как нельзя исключить инициации необратимой стерильности в связи с возможным повреждением стволовых сперматогониальных клеток. Кроме того, в силу способности цитостатических препаратов повреждать систему репарации ДНК они могут вызывать длительно сохраняющиеся мутагенные эффекты.

Материал и методы

Морфофункциональная оценка состояния сперматогенеза проведена на 20 аутобредных (сток SD) крысах-самцах массой тела 250–350 г 2,5-месячного возраста. Животные были рандомизированы на 2 группы (по 10 особей в каждой). Самцы экспериментальной группы (опыт) получали метотрексат (Ebeve Pharma, Австрия) подкожно четырёхкратно, с недельными интервалами в дозе 1 мг/кг. Вторая группа представляла собой интактных животных (фон). Через 48 дней после заключительного введения (48 дней – длительность сперматогенеза у

крыс) проводили скрещивание исследуемых животных с интактными самками в течение 10 сут (длительность двух эстральных циклов) в соотношении 1:2. Всех крыс-самок вскрывали, устанавливали факт беременности, у беременных определяли показатели эмбриональной гибели (постимплантационной смертности). По окончании подсадки проводили эвтаназию крыс-самцов (в CO₂-камере), извлекали и взвешивали семенник и эпидидимис. Хвостовую часть придатка семенника гомогенизировали и подсчитывали общее количество половых клеток на придаток семенника (ОКС), количество подвижных и патологических форм [5].

Процент ДНК-повреждений в мужских половых клетках исследовали методом ДНК-комет [6]. С этой целью использовали 10 половозрелых мышей-самцов линии C57BL. Половине животных вводили метотрексат (Ebeve Pharma, Австрия) подкожно четырехкратно, с недельными интервалами в дозе 2,2 мг/кг. Через 48 дней после эвтаназии извлекали семенник, помещали его в физиологический раствор и гомогенизировали. Гель-электрофорез изолированных клеток проводили в щелочной версии в соответствии с рекомендациями [2, 6]. Препараты окрашивали флуоресцирующим красителем SYBR Green I (Sigma-Aldrich, США) (1:10 000 в ТЕ-буфере с 50 % глицерином) в течение 20 мин в темноте. Анализ проводился на флуоресцентном микроскопе (Микромед 3 Люм, Россия), совмещенном с цифровой камерой высокого разрешения, при увеличении x200. Полученные с микропрепаратов изображения ДНК-комет фотографировались и анализировались с использованием программного обеспечения CometD. В качестве показателя поврежденности ДНК было использовано процентное содержание ДНК в хвосте (% ДНК в хвосте). С каждого микропрепарата было проанализировано 100 клеток. Статистическую обработку полученных экспериментальных данных, касающихся состояния репродуктивной функции, проводили с использованием U-критерия Манна–Уитни и углового преобразования Фишера. Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Статистическая обработка результатов, полученных методом ДНК-комет, включала в себя дисперсионный анализ с использованием критерия Краскела–Уоллиса с последующим применением q^2 -критерия Даннета.

Результаты

Изучение интегральных показателей воспроизводящей функции показало, что в отдаленные сроки после введения метотрексата способность к зачатию крыс-самцов находилась на уровне фоновых значений (75 % – у интактных животных, 85 % – в экспериментальной группе, $p \geq 0,05$).

Массовые коэффициенты семенника и эпидидимиса, а также общее количество мужских половых клеток, приходящихся на придаток семенника, в сравниваемых группах оказались сходными (таблица). Анализ подвижности сперматозоидов показал ее снижение у животных, получавших метотрексат. При подсчете процента патологических форм спермиев установлено, что их число оказалось повышенным (на 28 %) по сравнению с таковым у животных интактной группы (см. таблицу). При сравнении показателей постимплантационной смертности у интактных крыс-самок (ДЛМ), скрещенных с исследуемыми самками экспериментальной группы, установлено, что они статистически значимо не отличались от таковых при скрещивании интактных животных друг с другом. В связи с этим нельзя исключить, что метотрексат при повторных курсах может индуцировать образование доминантных летальных мутаций в мужских гаметах (см. таблицу).

При подсчете ДНК-разрывов в клетках семенников методом ДНК-комет установлено, что спонтанный уровень ДНК-повреждений в половых клетках контрольной группы животных составил $2,07 \pm 0,13$. При сравнении данного показателя с таковым у крыс, получавших метотрексат, выявлено, что на фоне введения цитостатического средства он статистически значимо возрастал более чем в 2 раза и составил $4,4 \pm 0,28$ ($p \leq 0,01$).

Таким образом, в отдаленные сроки после курсового введения терапевтической дозы метотрексата крысам-самцам репродуктивного возраста животные сохраняют способность к зачатию. Продуктивность сперматогенеза соответствует таковой у интактных животных, из чего следует, что метотрексат не приводит к гибели стволовых сперматогониальных клеток. Препарат не индуцировал образования цитогенетических нарушений в ДНК-спермиях, ведущих к гибели эмбриона (ДЛМ). В то же время сперматозоиды обладают рядом признаков, характеризующих их функциональную неполноценность (снижение подвижности, повышение количества патологических форм, увеличение ДНК-разрывов). Это может иметь негативные последствия при ante- и постнатальном развитии потомства.

Выводы

В отдаленные сроки после введения метотрексата крысам-самцам (воздействие на стволовые сперматогенные клетки) их способность к оплодотворению и зачатию не снижается. Продуктивность сперматогенеза и способность крыс-самцов к оплодотворению находятся в пределах нормальных значений.

Мужские половые клетки животных (в отдаленные сроки после введения метотрексата) характеризуются снижением подвижности, увеличением числа патологических форм и повышенным уровнем разрывов ДНК.

Препарат не приводит к снижению фертильности экспериментальных животных и возрастанию постимплантационной гибели у скрещенных с ними крыс-самок.

Таблица

Морфо-функциональное состояние сперматогенеза крыс через 48 дней после окончания курсового введения метотрексата

Группа	Массовый коэффициент, мг/кг		ОКС, млн	Количество подвижных форм сперматозоидов, %	Количество патологических форм сперматозоидов, %	Доминантные летальные мутации, #
	эпидидимиса	яичка				
Фон	0,67±0,03	4,28±0,15	123,22±5,86	75,81±3,41	15,83±1,08	13,25±5,03
MTX	0,79±0,03	4,11±0,18	112,86±4,06	64,52±4,07*	20,30±1,51*	4,57±1,85

Примечание. * – различия статистически значимы по сравнению с фоном, $p \leq 0,05$; # – постимплантационная смертность у самок, скрещенных с исследуемыми самцами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Насонов Е.Л. Противовоспалительная терапия ревматических болезней. М.: ООО «М-СИТИ», 1996. 345 с.
2. Manalo I.F., Gilbert K.E., Wu J.J. Subcutaneous methotrexate for symptomatic control of severe recalcitrant psoriasis: safety, efficacy, and patient acceptability. *Psoriasis (Auckl)*. 2015; 5(5): 65–70.
3. Gutierrez J.C., Hwang K. The toxicity of methotrexate in male fertility and paternal teratogenicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2017; 13(1): 51–58.
4. Weber-Schoendorfer C., Hoeltzenbein M., Wacker E. No evidence for an increased risk of adverse pregnancy outcome after paternal low-dose methotrexate: an observational cohort study. *Rheumatology*. 2014; 53: 757–763.
5. Дурнев А.Д., Смольникова Н.М., Скосырева, Немова Е.П., Соломина А.С., Шреде О.В., Гуськова Т.А., Верстакова О.Л., Сябаев Р.Д. Методические рекомендации по доклиническому изучению репродуктивной токсичности новых лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2013: 80–93.
6. Дурнев А.Д., Меркулов В.А., Жанатаев А.К., Никитина В.А., Воронина Е.С., Середенин С.Б. Методические рекомендации по оценке ДНК-повреждений методом щелочного гель-электрофореза отдельных клеток в фармакологических исследованиях. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2013: 115–128.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ПЛОДОВ РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*SORBUS AUCUPARIA L.*) НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИМИОТЕРАПИИ У МЫШЕЙ С КАРЦИНОМОЙ ЛЕГКИХ ЛЬЮИС С ИНДУЦИРОВАННЫМ АНЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Г.В. Гришкова¹, О.Ю. Рыбалкина^{2,3}, Е.П. Федорова², А.В. Ульрих²,
Н.В. Исайкина³

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,
Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ,
г. Томск, Россия³

Аннотация

Представлены результаты изучения влияния экстракта плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia L.*) на эффективность цитостатической терапии у мышей с карциномой легких Льюис (LLC) с сопутствующим анемическим синдромом. Показано, что назначение растительного экстракта привело к повышению противометастатического действия доксорубина, что выражалось в снижении количе-

ства и площади метастазов в легких животных с опухолью. Кроме того, наблюдалось восстановление эритроидного ростка кроветворения, угнетенного цитостатиком.

Ключевые слова: антоцианы, карцинома легких Льюис, доксорубин, анемический синдром, *Sorbus aucuparia* L.

STUDY OF THE EFFECT OF MOUNTAIN ASH FRUIT EXTRACT ON CHEMOTHERAPY EFFICACY IN MICE WITH LEWIS LUNG CARCINOMA WITH CONCOMITANT INDUCED ANEMIC SYNDROME

G.V. Grishkova¹, O.Y. Rybalkina^{2,3}, E.P. Fedorova², A.V. Ulrich², N.V. Isaykina³

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,
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia³

Abstract

The present review describes study of the effect of mountain ash fruit extract on the effectiveness of cytostatic therapy in mice with Lewis lung carcinoma with concomitant anemic syndrome. It was shown that the administration of the plant extract led to an increase in the anti-metastatic effect of doxorubicin, which was expressed in a decrease in the number and areas of metastases in lungs of animals with a tumor. In addition, there was a restoration of erythroid lineage of hemapoiesis, which was inhibited by cytostatic.

Key words: anthocyanins, Lewis lung carcinoma, doxorubicin, anemic syndrome, *Sorbus aucuparia* L.

Актуальность

Онкологические заболевания остаются одними из социально значимых патологий в современном мире. Согласно данным Американского онкологического сообщества, около 1 700 случаев злокачественных образований регистрируется ежедневно, а к 2025 г. число пациентов с онкологическими заболеваниями превысит 20 млн [1]. Основным методом лечения злокачественных новообразований является цитостатическая терапия, которая наряду со значительной эффективностью имеет ряд существенных недостатков [2]. Так, использование высокодозовой химиотерапии в клинической практике часто ограничивается развитием анемического синдрома. Анемический синдром – состояние, характеризующееся снижением содержания в крови эритроцитов, гемоглобина и гематокрита. Анемия, возникающая на фоне основного заболевания и цитостатического лечения, ухудшает общее состояние онкологических пациентов. Перспективным направлением в онкофармакологии является разработка новых лекарственных соединений, способных корректировать токсическое действие цитостатических препаратов и повышать их эффективность. Особое внимание уделяется препаратам растительного происхождения, которые имеют широкий спектр фармакологической активности и не обладают токсическим действием [3]. В настоящее время особый интерес представляют антоциансодержащие растения, в частности, рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.). В литературе известно противоопухолевое, реологическое и иммуномодулирующее действие этой группы соединений. В ранее проведенных экспериментах отмечено повышение противометастатического действия циклофосфана у мышей с LLC с помощью экстракта плодов рябины обыкновенной (*S. aucuparia* L.) [4]. Это явилось основанием для исследования действия растительного экстракта при проведении химиотерапии цитостатиком другого механизма действия – доксорубином.

Цель исследования – изучить влияние экстракта плодов рябины обыкновенной (*S. aucuparia* L.) на эффективность лечения доксорубином мышей с LLC с индуцированным анемическим синдромом.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на 110 мышах-самках линии C57Bl/6 (массой 22–25 г). Трансплантацию LLC проводили гомогенатом опухолевой ткани по 1×10^6 опухолевых клеток в объеме 0,1 мл стерильного физиологического раствора в мышцу левой задней лапы

животного-реципиента. В исследованиях использовали доксорубин под торговым названием Адрибластин быстрорастворимый, выпускаемый промышленностью (Phzer, США). Согласно прилагаемой инструкции препарат растворяли стерильным физиологическим раствором из ампул заводской фасовки и вводили внутривентриально животным с LLC на 10-е сут после перевивки опухоли в дозе 6 мг/кг. Экстракт плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) был получен на кафедре фармакогнозии с курсами ботаники и экологии СибГМУ методом динамической дробной мацерации. Экстракт деалкоголизировали на водяной бане и вводили мышам с опухолью внутривентриально в дозе 5 мл/кг ежедневно в течение 9 сут через 24 ч после инъекции доксорубина. На 12, 15, 17, 20-е сут после трансплантации LLC определяли объем первичного опухолевого узла. Показатели периферической крови (общее количество эритроцитов, ретикулоцитов, содержание гемоглобина и уровень гематокрита), костного мозга (общее количество миелокариоцитов, миелограммы) определяли на 3, 5, 7, 10-е сут после введения цитостатика стандартными гематологическими методами. Забой животных осуществлялся на 20-е сут, производили ревизию внутренних органов и подсчет метастазов в легких. Эффективность проведенного лечения оценивали по противоопухолевому и противометастатическому действию препаратов [5]. Оценку корректирующего действия растительного экстракта в отношении эритроидного ростка кроветворения, угнетенного доксорубином, проводили согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств (2012) [6]. Достоверность различий независимых выборок оценивалась с помощью непараметрического критерия Вилкоксона–Манна–Уитни. Различия считали достоверными при достигнутом уровне значимости $p \leq 0,05$. Достоверность различий между качественными признаками проверялась при помощи точного теста Фишера. Различия считали достоверными при $p < 0,05$ [7].

Результаты

Показано, что однократное внутривентриальное введение доксорубина в дозе 6 мг/кг животным с LLC приводит к снижению массы первичного опухолевого узла в 1,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с таковым показателем в контрольной группе. Кроме того, при использовании цитостатика наблюдалось достоверное уменьшение количества метастазов в легких в 1,9 раза и их площади – в 2,1 раза. Добавление экстракта плодов рябины обыкновенной (*S. aucuparia* L.) в дозе 5 мл/кг в схему лечения доксорубином не изменило ингибирующего влияния цитостатика на рост первичной опухоли, однако существенно повысило его противометастатическое действие. Выявлено достоверное уменьшение количества и площади метастазов по сравнению с этими показателями у получавших монокимиотерапию животных.

При измерении объема опухоли в динамике у животных с LLC обнаружено, что использование доксорубина однократно внутривентриально в дозе 6 мг/кг оказало ингибирующее действие на процесс развития первичного опухолевого узла. Добавление в схему химиотерапии экстракта плодов рябины обыкновенной (*S. aucuparia* L.) в дозе 5 мл/кг не приводило к повышению противоопухолевой активности цитостатика.

При оценке реакции гемопоэза показано, что на фоне развития LLC у животных наблюдалось угнетение костномозгового кроветворения. Введение доксорубина приводило к развитию депрессии костномозгового кроветворения, в основном, за счет снижения клеток эритроидного ростка, что соответствует литературным данным [8]. Включение экстракта плодов рябины обыкновенной (*S. aucuparia* L.) в схему химиотерапии оказало стимулирующее действие в отношении гемопоэза. Так, на протяжении всего эксперимента наблюдалось повышение общей клеточности костного мозга по сравнению с таковым показателем в группе монокимиотерапии. Анализ миелограмм показал, что растительный экстракт стимулирует в основном процесс восстановления эритроидного ростка кроветворения. Так, содержание эритроидных клеток в костном мозге в группе мышей, получавших доксорубин и растительный экстракт, на 3, 5, 10-е сут превосходило таковые значения в группе монокимиотерапии, достигая максимума на 5-е сут эксперимента.

Отражением состояния костномозгового кроветворения явилась картина периферической крови. Так, на фоне развития LLC в крови животных наблюдалось достоверное снижение количества ретикулоцитов на 17-е, 20-е сут после перевивки опухоли в 1,4 и 2,6 раза соответственно относительно показателя у здоровых животных. В эти же сроки эксперимента отмечено уменьшение количества эритроцитов и падение уровня гемоглобина и гематокрита в периферической крови животных с опухолью. На 3–7-е сут после введения доксорубина динамика содержания ретикулоцитов характеризовалась развитием ретикулоцитопении с последующим восстановлением к 10-м сут исследования у животных с LLC, получавших только доксорубин. Курсовое применение экстракта плодов рябины обыкновенной (*S.*

ausciparia L.) в дозе 5 мг/кг оказало стимулирующий эффект на клетки красной крови. Так, на 3, 5 и 10-е сут после инъекции цитостатика количество ретикулоцитов у мышей, получавших растительный экстракт, оказалось выше в 1,5 ($p<0,05$), 1,4 ($p<0,01$) и 1,3 ($p<0,01$) раза соответственно относительно показателей в группе монокимиотерапии. На эти сроки исследования включение экстракта плодов рябины обыкновенной в схему химиотерапии приводило к достоверному увеличению содержания общего количества эритроцитов в периферической крови животных с LLC.

Выводы

Наряду с повышением противометастатической активности цитостатической терапии, выявлено эритропоэзстимулирующее действие экстракта плодов рябины обыкновенной в условиях доксорубин-индуцированного анемического синдрома у мышей с карциномой легких Льюис.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gezici S., Şekeroğlu N. Current perspectives in the application of medicinal plants against cancer: novel therapeutic agents. *Anticancer Agents Med Chem.* 2019; 19(1): 101–111. doi: 10.2174/1871520619666181224121004.
2. Бозуи Т.А. Современные подходы к повышению эффективности противоопухолевой терапии путем индивидуальной оптимизации лечения и избирательного снижения побочных токсических проявлений цитостатиков. *Антибиотики и химиотерапия.* 2000; 45(1): 32–38.
3. Королева И.А., Копи М.В., Шаплыгин Л.В. Профилактика и коррекция нейтропении и анемии, вызванных противоопухолевой химиотерапией. *Клиническая онкогематология.* 2012; 5(3): 246–254.
4. Исайкина Н.В., Калинин Г.И., Разина Т.Г., Зуева Е.П., Рыбалкина О.Ю., Ульрих А.В., Федорова Е.П., Шилова А.Б. Плоды рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) как источник средства для повышения эффективности химиотерапии опухолей. *Химия растительного сырья.* 2017; 4: 165–173.
5. Софьина З.П. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. М.: Медицина, 1980. 296 с.
6. Миронов А.Н., Бутанян Н.Д. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
7. Гмурман В.Е. Теория вероятностей и математическая статистика: учеб. пособие для вузов. М.: Высшая школа, 2003. 479 с.
8. Lai-Tiong F., Brami C., Dubroeuq O., Scotte F., Cure H., Jovenin N. Management of anemia and iron deficiency in a cancer center in France. *Supportive Care in Cancer.* 2016; 24(3): 1091–1096. doi: 10.1007/s00520-015-2877-4.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ У КРЫС ПРИ АЛЛОКСАН-ИНДУЦИРОВАННОМ ДИАБЕТЕ И ЕГО КОРРЕКЦИИ КЛЕТКАМИ КОСТНОГО МОЗГА

О.С. Дорошенко¹, А.В. Прокопова^{2,1}, А.А. Гостюхина¹

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», г. Северск, Россия¹,
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Россия²

Аннотация

Сахарный диабет является социально значимым заболеванием. По данным ВОЗ, сегодня насчитывается 422 млн больных, а к 2030 г. диабет станет 7-й причиной смерти во всем мире. Эксперимент выполняли на 34 половозрелых самцах крыс линии Wistar. Животных разделяли на 3 группы: интактная (без воздействия), контрольная (моделировали диабет и внутрибрюшинно вводили культуральную среду DMEM F12 («ПанЭко», Россия) на 3, 7 и 14-е сут), опытная (моделировали диабет и внутрибрюшинно вводили суспензию клеток костного мозга на 3, 7 и 14-е сут). Диабет моделировали однократным введением раствора моногидрата аллоксана в дозе 17 мг на 100 г массы тела животного. Коррекцию данной патологии проводили с помощью введения суспензии аутологичных клеток костного мозга, которые выделяли из бедренной кости животных в количестве 1×10^6 , объем растворов – 2,5 мл. При моделировании экспериментального диабета у животных выявлено резкое повышение уровня глюкозы как в цельной крови, так и в сыворотке по отношению к интактным животным. Значимых изменений активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы, концентрации триглицеридов по сравнению с интактными животными обнаружено не было. После коррекции данной патологии клетками костного мозга показано статистически значимое уменьшение уровня глюкозы относительно контрольных животных. Данный показатель у крыс находился в пределах нормы и соответствовал уровню интактных животных. Также показано увеличение уровня общего холестерина у животных опытной группы.

Ключевые слова: диабет I типа, клеточные технологии, сахарный диабет, биохимический анализ.

BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD SERUM IN RATS WITH ALLOXAN-INDUCED DIABETES AND ITS CORRECTION BY BONE MARROW CELLS

O.S. Doroshenko¹, A.V. Prokopova^{1,2}, A.A. Gostyukhina¹

Siberian federal scientific and clinical center of the Federal medical and biological agency, Seversk, Russia¹,
National research Tomsk state university, Tomsk, Russia²

Abstract

Diabetes mellitus is a socially significant disease. According to who, there are 422 million patients today, and by 2030, diabetes will become the 7th cause of death worldwide. The experiment was performed on 34 sexually Mature male Wistar rats. The animals were divided into 3 groups: intact (without exposure), control (diabetes was simulated and culture media DMEM F12 (Paneco, Russia) was administered intraperitoneally on the 3rd, 7th, and 14th days), and experimental (diabetes was simulated and bone marrow cell suspension was administered intraperitoneally on the 3rd, 7th, and 14th days). Diabetes was modeled by a single injection of a solution of alloxan monohydrate at a dose of 17 mg per 100 g of animal weight. Correction of this pathology was performed by introducing a suspension of autologous bone marrow cells, which were isolated from the femur of animals in an amount of 1×10^6 , the volume of solutions-2.5 ml. When modeling experimental diabetes in animals, a sharp increase in glucose levels in both whole blood and serum was detected in relation to intact animals. No significant changes in alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activity and triglyceride concentrations were found in comparison with intact animals. After correction of this pathology by bone marrow cells, a statistically significant decrease in glucose levels relative to control animals was shown. This indicator in rats was within the normal range and corresponded to the level of intact animals. It also shows an increase in total cholesterol in the experimental group of animals.

Key words: type I diabetes, cell technologies, diabetes, biochemical analysis.

Введение

Заболеваемость сахарным диабетом на земном шаре удваивается каждые 10–15 лет, приобретая характер инфекционной эпидемии. Осложнениями сахарного диабета являются микроангиопатия и макроангиопатия (поражение мелких и крупных сосудов), диабетическая нефропатия и нейропатия, синдром диабетической стопы, ишемическая болезнь сердца, связанная с атеросклерозом артерий. Постоянное увеличение расходов, связанных с этим заболеванием, является тяжелым бременем для здравоохранения [1]. Для лечения сахарного диабета I типа используется инсулинотерапия, что чревато развитием инсулинорезистенции, проявлением аллергических реакций и липодистрофий. Данный метод не в состоянии предотвратить прогрессирование осложнений сахарного диабета [2]. Одним из актуальных направлений лечения разных заболеваний, в том числе сахарного диабета как I, так и II типа, является использование клеточной терапии, которая предполагает использование стволовых клеток, в том числе клеток костного мозга [3]. К настоящему времени экспериментально доказаны иммуномодулирующие свойства мезенхимальных стволовых клеток, что делает его целесообразным при лечении аутоиммунных заболеваний [4].

Цель работы – оценить некоторые биохимические показатели крови лабораторных крыс при моделировании аллоксан-индуцированного сахарного диабета и его коррекции аутологичными клетками костного мозга.

Материал и методы

Экспериментальное исследование проведено на 34 половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 220–260 г. Все процедуры с животными выполнялись в соответствии с международными правилами и нормами [5]. Животных разделяли на 3 группы: интактная (без воздействия), контрольная (с моделью сахарного диабета и введением культуральной среды) и опытная (с моделью сахарного диабета и его коррекцией клетками костного мозга). Животные содержались при естественном освещении, все процедуры с животными проводились в утренние часы. Моделирование сахарного диабета I типа у крыс проводили с помощью однократного внутрибрюшинного введения моногидрата аллоксана (Sigma, США) из расчета 17 мг на 100 г массы тела животного. Выделение и культивирование клеток костного мозга производили по стандартной методике [6]. Суспензию клеток животным вводили

внутрибрюшинно на 3, 7 и 14-е сут. Животным контрольной группы аналогично вводили культуральную среду DMEM F12 («ПанЭко», Россия). После эксперимента животных декапитировали под CO_2 -наркозом и собирали кровь для дальнейшего биохимического анализа. Биохимический анализ сыворотки крови крыс проводили с помощью наборов реагентов Ольвекс Диагностикум (Россия) на полуавтоматическом анализаторе Biochem SA «High Technology» (США). Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft, США). При обработке результатов установлено, что исследуемые признаки не подчиняются закону нормального распределения, поэтому результаты представлены в виде $M \pm m$.

Результаты

В ходе работы исследованы следующие биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных животных: глюкоза, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), общий холестерин, триглицериды. Измерение концентрации глюкозы цельной крови с помощью глюкометра показало, что у контрольной и опытной групп уровень глюкозы после введения аллоксана по сравнению с интактной увеличивался в 1-е и 3-и сут, что подтверждает моделирование аллоксанового диабета. Уровень глюкозы в сыворотке крови интактных крыс составлял 7,05 ммоль/л (таблица). У контрольных животных данный показатель статистически значимо увеличивался и составлял 22,15 ммоль/л. Известно, что аллоксан, реагируя с мембранами β -клеток поджелудочной железы, разрушает их, что способствует прекращению выработки инсулина. Этим и можно объяснить резкое увеличение уровня глюкозы в сыворотке крови животных.

При коррекции сахарного диабета клетками костного мозга (опытная группа) наблюдалось статистически значимое понижение исследуемого показателя, по отношению к контролю (11,56 ммоль/л). Относительно интактной группы статистически значимых различий выявлено не было (см. таблицу). В ряде исследований описано, что после трансплантации клеток костного мозга непосредственно в поджелудочную железу отмечали увеличение количества островков Лангерганса в 2–7 раз по сравнению с животными без воздействия [7]. Кроме того, как уже было показано на моделях инфаркта миокарда [8], внутривенная трансплантация мезенхимальных стволовых клеток активирует ангиогенез в ишемизированной ткани и предотвращает развитие фиброза. Такое влияние стволовых клеток может способствовать сохранению структуры островков Лангерганса во время воспаления, вызванного гибелью β -клеток, и нормализации уровня глюкозы. Холестерин и триглицериды являются независимыми факторами риска развития атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний. При исследовании уровня общего холестерина выявлено, что введение клеток костного мозга приводит к достоверному увеличению данного показателя в сыворотке крови опытных животных по отношению к контрольной и интактной группам, что можно объяснить специфическим действием данных клеток (см. таблицу). Показано, что уровни триглицеридов у всех изучаемых групп животных не изменялись по сравнению с интактной (см. таблицу). Аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ) (лабораторные показатели, которые характеризуют функциональное состояние печени) достоверно не изменялись по сравнению с интактной группой, что говорит об отсутствии нарушений печени (см. таблицу). Проведенное исследование подтвердило повреждающий эффект модели аллоксанового диабета. При этом полученные результаты могут считаться положительной оценкой применения аутологичных клеток костного мозга при экспериментальном сахарном диабете. По ряду биохимических показателей, таких как активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы, уровень триглицеридов, статистически значимых изменений не выявлено. Однако при коррекции данной патологии выявлено статистически значимое увеличение уровня общего холестерина, что может говорить о специфическом действии клеток костного мозга на организм животных.

Таблица

Исследуемые показатели сыворотки крови крыс ($X \pm m$)

Группы животных	Глюкоза, ммоль/л	Активность АЛТ, Ед/л	Активность АСТ, Ед/л	Общий холестерин, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л
Интактная	$7,05 \pm 1,1$	$58,54 \pm 24,68$	$145,22 \pm 29,17$	$1,56 \pm 0,52$	$0,92 \pm 0,31$
Контрольная	$22,15 \pm 15,56$ $p < 0,05$	$55,95 \pm 18,91$	$146,71 \pm 39,01$	$1,53 \pm 0,34$	$1,48 \pm 0,66$
Опытная	$11,56 \pm 8,1$ $p_1 < 0,05$	$61,33 \pm 17,6$	$111,64 \pm 81,75$	$2,1 \pm 0,43$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	$1,28 \pm 0,33$

Примечание. Полученные результаты представлены в виде средней ($X \pm m$); p – уровень статистической значимости по отношению к интактной группе; p_1 – уровень статистической значимости по отношению к контрольной группе.

АЛТ – аланинаминотрансфераза, АСТ – аспартатаминотрансфераза.

ПОИСК СОЕДИНЕНИЙ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ФАРМАКОТЕРАПИИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

О.И. Дунаева

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины
имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Научная проблема, на решение которой нацелена работа, – поиск новых подходов в фармакотерапии артериальной гипертензии. В настоящее время артериальная гипертензия (АГ) остается ведущей причиной смертности во всем мире. Несмотря на большое количество препаратов с различными механизмами действия и существующие различные схемы антигипертензивной терапии, стойкий эффект достигается не во всех случаях. Разработка новых антигипертензивных препаратов является актуальной. Исследование сократительной активности выполняли на изолированных сегментах гладких мышц грудного отдела аорты крыс линии Wistar-Kyoto массой 200–250 г в возрасте 15–17 нед ($n=49$). Амплитуда дилататорных ответов на исследуемые соединения оценивалась в процентах от сокращений, вызванных ангиотензином II (АТ II) в концентрации 0,1 мкМ, принимаемых за 100 %. В качестве прототипа использовали лозартан, оценивая его антагонистическую активность на ангиотензиновые рецепторы типа AT_1 в концентрации 10^{-5} М. Вазоконстрикцию изолированных сегментов вызывали добавлением АТ II, лозартан вызвал уменьшение сокращения до 2,45 %, ответы имели статистически значимые различия. Аналогично установленной методике предынкубации лозартаном исследуемые соединения (А1–А6) добавляли в концентрации 10^{-5} М. Соединения А2 и А3 имели статистически значимые различия ответов при повторном добавлении АТ II по сравнению с группой контроля. Для соединения А2 значение механического напряжения после повторного добавления АТ II составило $46,60 \pm 5,37$ %, соединение А3 вызывало ответ $42,59 \pm 6,80$ %. Различия ответов, по сравнению с предынкубацией сегментов грудного отдела аорты крыс лозартаном, также носили статистически значимый характер.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, ангиотензин II, блокаторы рецепторов ангиотензина II, лозартан, крысы Wistar-Kyoto.

THE SEARCH OF PERSPECTIVE COMPOUNDS FOR ARTERIAL HYPERTENSION PHARMACOTHERAPY

O.I. Dunaeva

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine,
Tomsk National Research Medical Center, Tomsk, Russia

Abstract

The search of new treatment in the pharmacotherapy of arterial hypertension is scientific problem reviewed at this scientific work. At the present time arterial hypertension (AH) stays the leading cause of death at the worldwide. There are a lot of drugs with different mechanisms of action and regimens of the antihypertensive therapy, a persistent effect is not achieve in all cases. The development of new antihypertensive drugs is very actual. The study of contractile activity was performed on isolated segments of the smooth muscles of the thoracic aorta of Wistar-Kyoto rats weighing 200–250 g, aged 15–17 weeks ($n=49$). The amplitude of dilator responses to the studied compounds was estimated as a percentage of the contractions caused by angiotensin II at a concentration of 0.1 μM , taken as 100 %. The antagonistic activity of the research substances and losartan on angiotensin receptors of the AT₁ type was studied at a concentration of 10^{-5} M. The vasoconstriction of isolated segments was caused by the addition of AT II, losartan caused a reduction of contraction by 2.45 %. Compounds A2 and A3 had statistically significant differences in responses with repeated addition of AT II, compared with the control group. For compound A2, the value of mechanical stress after repeated addition of AT II was 46.60 ± 5.37 %, and compound A3 caused a response of 42.59 ± 6.80 %. Differences in responses compared with the preincubation of rat thoracic aortic segments with losartan were also statistically significant.

Key words: arterial hypertension, angiotensin II, angiotensin II receptor blockers, losartan, Wistar-Kyoto rats.

Актуальность

Научная проблема, на решение которой нацелена работа, – поиск новых подходов в фармакотерапии артериальной гипертензии. В настоящее время артериальная гипертензия (АГ) остается ведущей причиной смертности во всем мире [1]. Несмотря на большое количество препаратов с различными механизмами действия и существующие различные схемы антигипертензивной терапии, стойкий эффект достигается не во всех случаях [2]. Известно, что в России благоприятный эффект отмечен лишь у 21,5 % пациентов [3]. Согласно последним Европейским рекомендациям (2018 г.), до 15–20 % пациентов с АГ нуждаются в назначении трех или более различных классов антигипертензивных препаратов для достижения адекватного контроля артериального давления [4]. За последние несколько лет на фармацевтическом рынке появилось очень небольшое количество новых антигипертензивных препаратов. Антигипертензивные препараты обладают некоторыми недостатками: развитие побочных эффектов, малая продолжительность действия, а также отсутствие положительного влияния на реологию крови. Вследствие этого часто возникают осложнения, которые и являются основной причиной смертности людей с повышенным кровяным давлением. Это говорит о том, что существующие препараты не всегда оказываются эффективными. Невысокий уровень комплаенса антигипертензивной терапии тесно связан с побочными реакциями препаратов. Низкой частотой встречаемости нежелательных реакций обладают блокаторы рецепторов ангиотензина, ингибиторы АПФ, антагонисты кальция. Для антигипертензивной терапии, направленной на поддержание целевого артериального давления, показаны препараты длительного действия, с большим периодом полувыведения. Наиболее важное преимущество этих препаратов – их прием 1–2 р./сут, что способствует повышению приверженности пациентов лечению [5]. В этом отношении большой интерес представляют препараты блокаторов рецепторов ангиотензина. Ангиотензин II является важным звеном в патогенезе АГ. Блокаторы рецепторов ангиотензина обладают выраженным антигипертензивным эффектом, большой продолжительностью действия, низкой частотой встречаемости побочных эффектов. Ангиотензиновые рецепторы подтипа AT₁ включены в «перечень биомаркеров для разработки схожих по фармакотерапевтическому действию и улучшенных аналогов инновационных лекарственных препаратов». Таким образом, поиск новых соединений, блокирующих рецепторы подтипа AT₁, представляет интерес в вопросе терапии АГ.

Цель работы – поиск и изучение перспективных соединений, являющихся блокаторами рецепторов подтипа AT₁, для фармакотерапии артериальной гипертензии.

Материал и методы

Объектом исследования служили изолированные сегменты гладких мышц грудного отдела аорты крыс линии Wistar-Kyoto массой 200–250 г в возрасте 15–17 нед ($n=49$). Исследование сократительной активности (механическое напряжение) выполняли на сегментах, применяя метод механографии, который позволяет изучать механическое напряжение в условиях, близких к изометрическим. Амплитуда дилататорных ответов на исследуемые соединения

(возможные блокаторы рецепторов ангиотензина, вычислены *in silico*) оценивалась в процентах от сокращений, вызванных АТ II, в концентрации 0,1 мкМ, принимаемых за 100 %. Анализ данных проводили при помощи программы Statistica 6.0 for Windows фирмы Statsoft. Фактические данные представлены в виде «среднее $\pm$ ошибка среднего» ($X \pm m$).

Результаты

Контрольное сокращение сегментов на воздействие гиперкалиевого раствора (30 мМ KCl) проводили в начале и по завершении каждого эксперимента. Получение сократительных ответов на изолированных сегментах аорты достигалось добавлением АТ II, который оказывает влияние через ангиотензиновые рецепторы типа AT_1 . В качестве прототипа использовали лозартан, оценивая его антагонистическую активность на ангиотензиновые рецепторы типа AT_1 , в концентрации 10^{-5} М. Вазоконстрикторный эффект вызывали добавлением АТ II, после чего проводили предынкубацию лозартаном в течение 30 мин. Повторное добавление АТ II вызывало сокращение, составившее 2,45 % от амплитуды сокращения до инкубации, ответы имели статистически значимые различия. Аналогично установленной методике предынкубации лозартаном исследуемые соединения (А1–А6) в концентрации 10^{-5} М добавлялись за 25–30 мин до повторного добавления АТ II. Соединения А2 и А3 имели статистически значимые различия ответов при повторном добавлении АТ II по сравнению с группой контроля. Для соединения А2 значение механического напряжения после повторного добавления АТ II составило $46,60 \pm 5,37$ %, соединение А3 вызывало ответ $42,59 \pm 6,80$ %. Различия ответов по сравнению с предынкубацией лозартаном также носили статистически значимый характер.

Выводы

Соединения А2 и А3 снижали ответ на повторное добавление ангиотензина II по сравнению с группой контроля и могут быть в дальнейшем исследованы дополнительно, в том числе *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА

1. GBD 2017 Risk Factor Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018 Nov 10; 392(10159): 1923–1994. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32225-6.
2. Морозова Т.Е., Сычев Д.А., Ших Н.В. Фармакогенетические подходы к прогнозированию эффективности и безопасности фармакотерапии артериальной гипертензии. *Лечащий врач*. 2016; 3: 77–81.
3. Шальнова С.А., Баланова Ю.А., Константинов В.В., Тимофеева Т.Н., Иванов В.М., Капустина А.В., Деев А.Д. Артериальная гипертензия: распространенность, осведомленность, прием антигипертензивных препаратов и эффективность лечения среди населения Российской Федерации. *Российский кардиологический журнал*. 2006; 60(4): 45–50.
4. Williams B., Mancia G., Spiering W., Agabiti Rosei E., Azizi M., Burnier M., Clement D.L., Coca A., de Simone G., Dominiczak A., Kahan T., Mahfoud F., Redon J., Ruilope L., Zanchetti A., Kerins M., Kjeldsen S.E., Kreutz R., Laurent S., Lip G.Y.H., McManus R., Narkiewicz K., Ruschitzka F., Schmieder R.E., Shlyakhto E., Tsioufis C., Aboyans V., Desormais I. ESC Scientific Document Group. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2018 Sep 1; 39(33): 3021–3104. doi: 10.1093/eurheartj/ehy339.
5. Задонченко В.С., Щикота А.М., Яльмов А.А., Шехян Г.Г., Тимофеева Н.Ю., Оганезова Л.Г., Терпигорев С.А., Кабанова Т.Г., Никишенков А.М. Алгоритм выбора препарата для лечения артериальной гипертензии. *РМЖ*. 2017; 4: 296–301.

ПРЕИМУЩЕСТВА МЕТОДИКИ РЕГИСТРАЦИИ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОКАЛИЗАЦИЙ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ АНКСИОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ

С.Г. Запекин¹, К.В. Шапошников², Н.И. Суслов^{1,2}, П.В. Кульпин²,
Ю.С. Фёдорова³

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹,
Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Кемерово, Россия²,
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия³

Аннотация

Классические методики, используемые в экспериментальной медицине для выявления психотропной активности лекарственных средств на доклинической стадии исследования на протяжении нескольких десятилетий и являющиеся «стандартом» в исследовательской практике, обладают рядом существенных недостатков. Их использование требует значительных ресурсов при организации эксперимента, а также создает определенные трудности в интерпретации полученных результатов. В связи с этим существует потребность в новых методах для выявления анксиолитического, нейролептического, антидепрессантного и других действий. Одним из таких методов служит регистрация ультразвуковых вокализаций животных. В настоящем исследовании проводилось сравнение чувствительности метода регистрации ультразвуковых сигналов животных по сравнению с методикой «Конфликтная ситуация по Vogel» при выявлении анксиолитического действия феназепама. По результатам проведенного в данном исследовании сравнительного анализа удалось выявить преимущества методики регистрации ультразвуковых сигналов.

Ключевые слова: ультразвуковые вокализации животных, анксиолитический эффект, конфликтная ситуация по Vogel.

THE ADVANTAGES OF RECORDING ULTRASONIC VOCALIZATIONS IN RESEARCH OF ANXIOLYTIC ACTIVITY OF PHARMACOLOGICAL SUBSTANCES

**S.G. Zapekin¹, K.V. Shaposhnikov², N.I. Suslov^{1,2}, P.V. Kulpin²,
Yu. S. Fedorova³**

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹,
Federal State-Funded Educational Institution of Higher Education «Siberian State Medical University» of the Ministry of Health of the Russia, Kemerovo, Russia²,
Federal State-Funded Educational Institution of Higher Education «Kemerovo State Medical University» of the Ministry of Health of the Russia, Tomsk, Russia³

Abstract

To identify the psychotropic activity of drugs at the preclinical stage of the study, there are a number of “classical” pharmacological methods that have been used for several decades and are the “standard” in the academic environment and industry. However, the implementation of these techniques depends on many factors, which significantly increases the resources expended during the organization of the experiment, and also complicates the interpretation of the results. In this regard, there is a need to search for new methods, the use of which allows to detect anxiolytic, antipsychotic, antidepressant and other effects with a greater guarantee. One of these methods is the registration of ultrasonic vocalizations of animals. In this study, we compared the sensitivity of the method for recording ultrasonic animal signals compared to the Vogel Conflict Situation technique in detecting the anxiolytic effect of phenazepam. According to the results of the comparative analysis carried out in this study, it was possible to identify the advantages of the method of recording ultrasonic signals.

Key words: ultrasonic animal vocalizations, anxiolytic effect, Vogel Conflict.

Актуальность

Распространённость и тяжесть психиатрических расстройств демонстрируются многочисленными эпидемиологическими исследованиями. По данным ВОЗ, в 2016 г. психиатрическими нарушениями различного характера страдало до 10 % населения Земли, а к 2024 г. ожидается прирост заболеваемости до 15 %. Эта проблема усугубляется отсутствием значительного прогресса в терапии этих патологий. Кроме того, применяемые психотропные средства имеют индивидуальную вариабельную активность, высокую стоимость, нередко плохо переносятся больными [1–3]. Множество побочных эффектов приводят к несоблюдению предписанной терапии (28–44 % пациентов в течение трёх месяцев самостоятельно бросают приём препарата). Это создает постоянный спрос на создание новых эффективных лекарственных средств с психотропным действием.

Для выявления психотропной активности лекарственных средств на доклинической стадии исследования существует ряд «классических» фармакологических методик, применяющихся уже в течение нескольких десятилетий и являющихся «стандартом» в академической среде и индустрии [4]. В то же время реализация данных методик часто зависит от множества факторов [5–7], что значительно увеличивает затрачиваемые ресурсы при организации эксперимента, а также усложняет интерпретацию полученных результатов. В связи с этим возникает потребность в поиске новых методов, применение которых позволяет выявлять анксиолитическое, нейролептическое, антидепрессантное и другие действия с большей гарантией.

Одним из таких методов служит регистрация ультразвуковых вокализаций животных, применяющаяся в этологических, нейробиологических исследованиях, а также доклинических исследованиях лекарственных средств [8–10].

В настоящем исследовании проводилось изучение преимуществ применения метода регистрации ультразвуковых сигналов животных по сравнению с методикой «Конфликтная ситуация по Vogel».

Цель исследования – сравнительный анализ результатов оценки анксиолитического действия препаратов в условиях методики «Конфликтная ситуация по Vogel» и с помощью регистрации ультразвуковых вокализаций животных на примере анксиолитического действия феназепама.

Материал и методы

Фармакологические исследования выполнены на крысах-самцах линии Wistar. Все животные конвенциональные 1-й категории, получены из отдела экспериментальных биологических моделей НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга РАН Томского НИМЦ, возраст 40–50 дней. Работы в рамках эксперимента осуществляли с 9 до 15 ч дня. Животных содержали в стандартных условиях вивария на обычном рационе кормления в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных целей (Страсбург, 1986).

В качестве объекта исследования использовали лекарственный препарат феназепам в дозировке 1 мг/кг массы тела животного, разведенный в объеме 1 мл воды очищенной. Контрольной группе животных вводили внутривенно воду очищенную в том же объеме. Феназепам и воду вводили однократно в течение четырех дней и за 1 ч до помещения в экспериментальную установку в день эксперимента.

Наличие анксиолитического эффекта оценивали в условиях модели «Конфликтная ситуация по Vogel» в модификации Möller [11]. Данная модель является одной из наиболее эффективных по выявлению анксиолитического действия препаратов. Экспериментальная установка представляла собой камеру размерами 100×60 см с высотой стенки 50 см. Пол камеры состоял из металлических пластин (20×20 см). У одной из стенок камеры располагалась поилка с водой. Металлические пластины пола и поилка были соединены с устройством, генерирующим электрический импульс таким образом, что при касании воды в поилке животное получало удар электрического тока.

Экспериментальная процедура выглядела следующим образом: после 24 ч водной депривации животных по одному помещали в экспериментальную установку на 12 мин, где они находили поилку и могли напиться (процедура выработки условного питьевого рефлекса). После следующего 24-часового периода лишения воды животных снова помещали в ту же камеру еще на 12 мин, в течение которых был предоставлен свободный доступ к воде. Наконец, после ещё одного 24-часового периода лишения воды животных вновь помещали в оперантную камеру для сеанса тестирования.

При этом животным позволялось безнаказанно пить в течение 4 мин. Вслед за этим следовал 8-минутный период, во время которого при каждом эпизоде взятия воды наносился удар током (0,20 мА в течение 2 с). Регистрация и подсчёт компонентов поведенческой активности велись экспериментатором. При этом фиксировалось количество наказуемых взятий воды (попыток питья воды при сопутствующем ударе электрическим током).

Кроме того, во время 4- и 8-минутного периодов производилась регистрация ультразвуковых вокализаций животных с помощью специализированного оборудования (Sonotrack, Metris). Микрофон располагался над экспериментальной установкой на расстоянии 40 см от её пола. Анализ записанных ультразвуковых сигналов производился с помощью программного обеспечения (Sonotrack, Metris). По результатам проведённого анализа были получены данные о количестве, частоте и времени ультразвуковых вокализаций животных. При анализе количества ультразвуковых вокализаций частотный спектр был разделён на два

диапазона: 20–35 и 35–100 кГц. Предыдущие исследования показали, что лекарственные средства группы бензодиазепинов (такие, как алпразолам, золпидем и оксазепам) приводят к снижению спонтанных ультразвуковых вокализаций в диапазоне 35–100 кГц [12], что использовалось в настоящем исследовании как критерий анксиолитической активности.

Для всех данных применена описательная статистика: подсчитаны среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего, которые вместе со значением n (количество вариантов в группе) представлены в итоговых таблицах. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6,0 для MS Excel. Проверка на соответствие выборок нормальному закону распределения проводилась по критерию Шапиро–Уилка. Равенство выборочных средних, имеющих нормальное распределение, проверяли с помощью критерия ANOVA, а имеющих иное распределение – с помощью непараметрического критерия Краскела–Уоллиса. Уровень статистической значимости p отражен в результатах.

Результаты

При исследовании поведения в условиях эксперимента «Конфликтная ситуация по Vogely» животных, получавших феназепам, отсутствовали статистически значимые изменения количества наказуемых взятий воды ($4,8 \pm 1,6$) по сравнению с контрольной группой животных ($2,7 \pm 0,7$), хотя и видна отчетливая тенденция к их увеличению.

При анализе ультразвуковых вокализаций животных было обнаружено снижение общего количества вокализаций в группе крыс, получавших феназепам, по сравнению с контрольной группой. Кроме того, в группе феназепама снижалось количество вокализаций в частотном диапазоне 35–100 кГц при том, что количество вокализаций в диапазоне 20–35 кГц статистически не отличалось от показателей контрольной группы животных, однако имелась тенденция к снижению количества вокализаций в этом частотном диапазоне. Также в группе феназепама снижалась средняя и максимальная продолжительность вокализаций по сравнению с контрольной группой.

Выводы

Анализ результатов продемонстрировал отсутствие влияния феназепама на поведение животных в условиях модели «Конфликтная ситуация по Vogel», но при этом вызывает снижение количества вокализаций в диапазоне 35–100 кГц, а также снижение средней продолжительности ультразвуковых вокализаций, что характерно для анксиолитиков бензодиазепиновой группы [13].

При анализе изменений поведения в условиях «Конфликтной ситуации по Vogel» отмечается тенденция к повышению количества наказуемых взятий воды в 1,8 раза в группе феназепама по сравнению с контрольной группой животных ($4,8 \pm 1,6$ и $2,7 \pm 0,7$ соответственно). В то же время количество вокализаций в частотном диапазоне 35–100 кГц снижается в 7,8 раза ($12,5 \pm 1,8$ в группе феназепама и $1,6 \pm 0,4$ в группе контроля), а средняя продолжительность вокализаций снижается в 4,9 раза в группе феназепама по сравнению с группой контроля ($37,5 \pm 23,3$ и $7,7 \pm 0,8$ соответственно). В совокупности эти данные говорят о большей чувствительности метода регистрации ультразвуковых вокализаций по сравнению с классическими методами, такими как «Конфликтная ситуация по Vogel», – выявления анксиолитических лекарственных средств.

Таблица 1

Характеристика количества и частоты ультразвуковых вокализаций животных в условиях эксперимента «Конфликтная ситуация» по Vogel

Группа	Общее кол-во	Кол-во в диапазоне 20–35 kHz	Кол-во в диапазоне 35–100 kHz	Средняя частота (kHz)	Минимальная частота (kHz)	Максимальная частота (kHz)
Контроль (n=7)	17,3 $\pm 2,2$	4,8 $\pm 2,0$	12,5 $\pm 1,8$	44,9 $\pm 2,1$	31,0 $\pm 1,7$	62,9 $\pm 2,7$
Феназепам (n=7)	2,8 $\pm 0,6^*$	1,2 $\pm 0,4$	1,6 $\pm 0,4^*$	41,5 $\pm 1,0$	33,1 $\pm 1,9$	51,9 $\pm 4,3^*$

Примечание: * - Статистически значимые отличия по критерию Крускала–Уоллиса

ЛИТЕРАТУРА

- Masand P.S. Tolerability and adherence issues in antidepressant therapy. Clin. Ther. 2003; 25: 2289–2304.
- Usala T., Clavenna A., Zuddas A., Bonati M. Randomised controlled trials of selective serotonin reuptake inhibitors in treating depression in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. Eur Neuropsychopharmacol. 2008 Jan; 18(1): 62–73. doi: 10.1016/j.euroneuro.2007.06.001.

2. Young E.A., Kornstein S.G., Marcus S.M., Harvey A.T., Warden D., Wisniewski S.R., Balasubramani G.K., Fava M., Trivedi M.H., John Rush A. Sex differences in response to citalopram: a STAR*D report. *J. Psychiatr Res.* 2009 Feb; 43(5): 503–11. doi: 10.1016/j.jpsychires.2008.07.002.
3. Миронов А.Н. Доклинические исследования лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М., 2012: 197.
4. Millan M.J., Brocco M. The Vogel conflict test: procedural aspects, gamma-aminobutyric acid, glutamate and monoamines. *Eur J. Pharmacol.* 2003 Feb 28; 463(1–3): 67–96. doi: 10.1016/s0014-2999(03)01275-5.
5. Dawson G.R., Tricklebank M.D. Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents. *Trends Pharmacol Sci.* 1995 Feb; 16(2): 33–6. doi: 10.1016/s0165-6147(00)88973-7.
6. Kotlinska J., Liljequist S. The putative AMPA receptor antagonist, LY326325, produces anxiolytic-like effects without altering locomotor activity in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1998 May; 60(1): 119–24. doi: 10.1016/s0091-3057(97)00565-0.
7. Scattoni M.L., Crawley J., Ricceri L. Ultrasonic vocalizations: a tool for behavioural phenotyping of mouse models of neurodevelopmental disorders. *Neurosci Biobehav Rev.* 2009 Apr; 33(4): 508–15. doi: 10.1016/j.neubiorev.2008.08.003.
8. Portfors C.V., Perkel D.J. The role of ultrasonic vocalizations in mouse communication. *Curr Opin Neurobiol.* 2014 Oct; 28: 115–20. doi: 10.1016/j.conb.2014.07.002.
9. Barker D.J., Simmons S.J., West M.O. Ultrasonic Vocalizations as a Measure of Affect in Preclinical Models of Drug Abuse: A Review of Current Findings. *Curr Neuropharmacol.* 2015; 13(2): 193–210. doi: 10.2174/1570159x13999150318113642.
10. Möller C., Sommer W., Thorsell A., Heilig M. Anxiogenic-like action of galanin after intra-amygdala administration in the rat. *Neuropsychopharmacology.* 1999 Oct; 21(4): 507–12. doi: 10.1016/S0893-133X(98)00102-X.
11. de Oliveira Guaita G., Vecchia D.D., Andreatini R., Robinson D.L., Schwarting R.K.W., Da Cunha C. Diazepam blocks 50 kHz ultrasonic vocalizations and stereotypies but not the increase in locomotor activity induced in rats by amphetamine. *Psychopharmacology (Berl).* 2018 Jul; 235(7): 1887–1896. doi: 10.1007/s00213-018-4878-8.
12. Hodgson R.A., Guthrie D.H., Varty G.B. Duration of ultrasonic vocalizations in the isolated rat pup as a behavioral measure: sensitivity to anxiolytic and antidepressant drugs. *Pharmacol Biochem Behav.* 2008 Jan; 88(3): 341–8. doi: 10.1016/j.pbb.2007.09.005.

ВЛИЯНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ, НА БАЛАНС АРГИНИНА В ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГАХ

**А.А. Лигачёва¹, С.В. Кривощёков², К.И. Ровкина², А.В. Зыкова²,
А. Святкина², Д.А. Исаков², В.Э. Мамедова²**

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹,
Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения
Российской Федерации, г. Томск, Россия²

Аннотация

Проведено скрининговое исследование влияния водорастворимых полисахаридов (ПС) ряда высших растений на баланс аргиназы / NO-синтазы перитонеальных макрофагов. Девять из двенадцати исследованных образцов повышали концентрацию оксида азота по сравнению со спонтанным уровнем. Наиболее значимое действие выявлено у ПС ряски трёхдольной и ряски многокорневой. Наименее выраженными свойствами обладали ПС водяники чёрной. NO-активирующие свойства трёх образцов полностью зависели от примеси эндотоксина, о чём свидетельствует полное подавление продукции оксида азота до спонтанного уровня. Все образцы снижали активность аргиназы, наиболее выраженный эффект проявляли ПС болиголова пятнистого и ряски малой.

Ключевые слова: макрофаги, антигенпрезентирующие клетки, растительные полисахариды, оксид азота, аргиназа, полимиксин Б.

THE EFFECT OF WATER-SOLUBLE POLYSACCHARIDES ISOLATED FROM HIGHER PLANTS ON THE BALANCE OF ARGININE IN PERITONEAL MACROPHAGES

**A.A. Ligacheva¹, S.V. Krivoshechekov², K.I. Rovkina², A.V. Zyкова²,
A. Svyatkina², D.A. Isakov², V.E. Mamedova²**

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

A screening study of the effect of water-soluble polysaccharides (PS) of a number of higher plants on the balance of arginase / NO synthase of peritoneal macrophages was carried out. Nine of the twelve studied samples increased the concentration of nitric oxide compared to spontaneous levels. The most significant effect was revealed in PS of *Lemna trisulca* and *Spirodela polyrrhiza*. The least pronounced properties were possessed by PS of *Empetrum nigrum*. The NO-activating properties of the three samples were completely dependent on the LPS endotoxin impurity, as evidenced by the complete suppression of nitric oxide production to a spontaneous level. All samples reduced arginase activity, the most pronounced effect was shown by PS of *Conium maculatum* and *Lemna minor*.

Key words: macrophages, antigen-presenting cells, plant polysaccharides, nitric oxide, arginase, polymyxin B.

Актуальность

Доказано, что полисахариды (ПС) ряда растений обладают иммуномодулирующими свойствами, способствуя развитию Th1- или Th2-зависимого иммунного ответа за счёт взаимодействия с различными рецепторами макрофага (МФ) и способности влиять на поляризацию лимфоцитов через соответствующую активацию антигенпрезентирующих клеток [1–3]. Оксид азота (NO) является важнейшим медиатором воспаления и цитотоксическим фактором, который вырабатывается различными клетками организма, в том числе классически активированными МФ под воздействием инфекционных агентов или провоспалительных цитокинов [4]. При этом вещества растительного происхождения оказывают минимальное количество побочных эффектов, имеют мало противопоказаний, что позволяет применять их в педиатрии, гериатрии и у лиц со сниженной реактивностью иммунной системы при хронических воспалительных заболеваниях.

Цель исследования – изучить влияние ПС, выделенных из кровохлёбки лекарственной (подземной и надземной части), валерианы лекарственной, водяники чёрной, боярышника тёмно-красного, болиголова пятнистого, багульника болотного, крапивы двудомной, люцерны посевной, ряски малой, ряски трёхдольной и ряски многокорневой, на баланс аргиназы / NO-синтазы перитонеальных МФ в качестве первичного маркера скринингового исследования иммуностропных свойств суммы водорастворимых ПС.

Материал и методы

В работе использованы водорастворимые ПС высших растений, выделенные на кафедре химии СибГМУ. Полученные образцы были стандартизованы по содержанию углеводов, белка и нуклеиновых кислот. В экспериментах использовали 200 мышей линий C57BL/6 в возрасте 7–8 нед, полученных из отдела экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга. Зрелые перитонеальные МФ получали из перитонеального экссудата, обработанного антителами специфических к макрофагальным рецепторам Anti-Mouse F4/80 Antibody, с помощью набора EasySep™ Biotin Positive Selection Kit (Stemcell Technologies). МФ инкубировали 48 ч в присутствии эффективных концентраций ПС, подобранных в предварительных экспериментах, или 1 мкг/мл ЛПС (серотип O111:B4). Продукцию оксида азота оценивали по содержанию нитритов в супернатантах при помощи реактива Грейса [5], а активность аргиназы – по методике М. Munder et al., 1998, в нашей модификации [5]. Для определения примеси ЛПС (эндотоксин) ПС обрабатывали антибиотиком полимиксином Б (50 мкг/мл). Статистическую обработку проводили с помощью программного обеспечения Statistica 6.0, используя однофакторный дисперсионный анализ и t-критерий Даннета.

Результаты

Изучение NO-активирующих свойств ПС проводили в нескольких сериях экспериментов (табл. 1). Интактные МФ не продуцировали оксид азота ни в одной из серий. ЛПС – стандартный активатор МФ – вызывал усиление продукции оксида азота в 6,6–34,2 раза. ПС, выделенные из кровохлёбки лекарственной (подземной и надземной части), валерианы лекарственной, не влияли на показатель. Инкубация МФ с ПС водяники чёрной, боярышника тёмно-красного, болиголова пятнистого, багульника болотного, крапивы двудомной, люцерны посевной, ряски малой, ряски трёхдольной и ряски многокорневой приводила к активации продукции нитритов в разной степени: от 1,7 до 25,4 раза по сравнению со спонтанным уровнем. Наиболее значительным действием обладали ПС ряски трёхдольной и ряски многокорневой, усиливая синтез оксида азота в 25,4 и 20,1 раза соответственно. Наименее выраженными свойствами (повышение концентрации нитритов в 1,7 раза) обладали ПС

водяники чёрной. Возрастание содержания оксида азота при культивировании МФ с остальными ПС находилось в пределах 5,7–12,8 раза. По сравнению с ЛПС NO-активирующие свойства ПС были ниже в 1,2 (ПС крапивы двудомной) – 2,7 (ПС ряски малой) раза, кроме ПС люцерны посевной: количество оксида азота в культуре клеток было сравнимо со стандартным активатором МФ. Для оценки степени очистки изучаемых веществ от эндотоксина, который также вызывает усиление продукции оксида азота, были проведены эксперименты с использованием полимиксина Б – блокатора эндотоксина. Как видно из табл. 1, полимиксин Б не оказывал влияния на спонтанную продукцию оксида азота макрофагами. Добавление антибиотика к ЛПС приводило к уменьшению концентрации нитритов в 2,2–24,3 раза в зависимости от серии эксперимента. NO-продуцирующие свойства ПС водяники чёрной, багульника болотного и крапивы двудомной полностью зависели от примеси ЛПС и снижались в 1,4; 8 и 5,3 раза соответственно. ПС боярышника тёмно-красного, болиголова пятнистого, люцерны посевной и трёх видов рясок не содержали эндотоксин. Более того, при добавлении полимиксина Б уровень продукции оксида азота увеличивался в 1,6 раза в культуре с ПС ряски малой, в 1,2 раза в культуре с ПС ряски многокорневой. Антибиотик не влиял на содержание нитритов в культурах клеток с добавлением ПС, которые не оказывали NO-активирующее действие на МФ (ПС кровохлёбки лекарственной, выделенные из подземной и надземной части, и валерианы лекарственной).

В следующих сериях экспериментов было изучено влияние свободных от эндотоксина ПС на баланс NO-синтазы / аргиназы. Интактные МФ, не продуцируя оксид азота, проявляли довольно высокую активность аргиназы (табл. 2). NO-активирующее действие всех исследуемых веществ не отличалось от описанного выше. Все вещества снижали активность аргиназы в разной степени. ЛПС уменьшал активность аргиназы в 5,1 и 3,1 раза в разных сериях. ПС болиголова пятнистого и ряски малой подавляли активность фермента на уровне митогена в 5,9 и 2,7 раза соответственно. Инкубация МФ с ПС боярышника тёмно-красного, ряски трёхдольной и многокорневой люцерны посевной приводила к угнетению активности аргиназы в 3,1; 2,3 и 1,3 раза.

Выводы

Полученные данные говорят о наличии у шести из двенадцати изученных растительных ПС NO-активирующих свойств и позволяют рассматривать их в качестве перспективных объектов для дальнейшего изучения и, в конечном итоге, в качестве лекарственных субстанций для профилактики и терапии хронических воспалительных заболеваний. Наиболее значительным стимулирующим действием в отношении оксида азота обладали ПС ряски трёхдольной и ряски многокорневой. Активность аргиназы наиболее сильно снижали ПС болиголова пятнистого.

Таблица 1

Влияние водорастворимых ПС на активность NO-синтазы перитонеальных макрофагов интактных мышей линии C57BL/6 в отсутствие и в присутствии полимиксина Б ($X \pm m$)

Исследуемое вещество	Концентрация, мкг/мл	Концентрация нитритов, мкМ без полимиксина Б (контроль 2)	Концентрация нитритов, мкМ с полимиксином Б
Контроль 1 – среда	–	2,17±0,13	2,17±0,11
ЛПС	1	37,49±1,18*	17,05±0,74*•
ПС // кровохлёбки лекарственной, надземная часть	100	1,90±0,09*	2,07±0,09*
ПС // кровохлёбки лекарственной, подземная часть	100	2,03±0,12*	2,10±0,15*
ПС валерианы лекарственной	100	2,18±0,15*	2,20±0,18*
ПС водяники чёрной	100	3,69±0,19*•	2,59±0,29*•
ПС багульника болотного	40	18,43±0,34*•	2,31±0,11*•
Контроль 1 – среда	–	2,45±0,15	2,20±0,11
ЛПС	1	29,16±1,51*	10,41±0,61*•
ПС боярышника тёмно-красного	20	20,70±0,69*•	18,26±1,05*•
ПС болиголова пятнистого	20	19,04±0,58*•	19,16±0,82*•
Контроль 1 – среда	–	3,68±0,35	3,24±0,10•
ЛПС	1	24,17±0,76*	4,16±0,08*•
ПС крапивы двудомной	20	20,83±0,86*•	3,91±0,18*•
Контроль 1 – среда	–	4,15±0,60	4,15±0,33
ЛПС	1	38,54±3,51*	24,63±0,71*•

Окончание таблицы 1

ПС люцерны посевной	20	41,62±1,33*	39,69±1,04*
Контроль 1 – среда	–	2,08±0,10	1,53±0,11
ЛПС	1	71,12±1,72*	2,93±0,20*•
ПС ряски малой	20	26,65±0,31*■	43,97±0,23*•■
ПС ряски трёхдольной	20	52,76±0,17*■	57,73±0,71*
ПС ряски многокорневой	20	41,74±1,38*■	51,38±0,36*•■

Примечание. * – различия показателя с контролем 1 (среда) достоверны, $p < 0,05$; • – различия показателя с контролем 2 (без полимиксина) достоверны, $p < 0,05$; ■ – различия показателя с ЛПС достоверны, $p < 0,05$; $n=6$.

Таблица 2

Влияние водорастворимых ПС на активность NO-синтазы и аргиназы перитонеальных макрофагов интактных мышей линии C57BL/6 ($\bar{X} \pm m$)

Исследуемое вещество	Концентрация, мкг/мл	Концентрация нитритов, мкМ	Активность аргиназы, ЕА
Контроль 1 – среда	–	2,44±0,07	34,28±1,21
ЛПС (контроль 2)	1	28,12±0,16*•	6,75±0,83*
ПС боярышника тёмно-красного	20	21,49±0,9403*•	10,77±0,94*•
ПС болиголова пятнистого	20	24,38±0,55*•	5,83±0,70*
Контроль 1 – среда	–	4,66±0,12	61,56±1,79
ЛПС (контроль 2)	1	26,67±0,38*	43,97±1,42*
ПС люцерны посевной	20	20,91±0,42*•	52,17±1,23*•
Контроль 1 – среда	–	1,91±0,08	69,46±1,86
ЛПС (контроль 2)	1	77,45±0,67*	22,48±1,78*
ПС ряски малой	20	51,54±0,36*•	25,51±1,47*
ПС ряски трёхдольной	20	62,80±0,19*•	30,38±2,25*•
ПС ряски многокорневой	20	56,78±0,43*•	52,04±1,99*•

Примечание. * – различия показателя с контролем 1 (среда) достоверны, $p < 0,05$; • – различия показателя с ЛПС достоверны, $p < 0,05$; $n=6$ (нитриты) и $n=12$ (аргиназа).

ЛИТЕРАТУРА

1. 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(7): 6148–6164. doi: 10.3390/molecules16076148.
2. Suzuki F. Effect of lignins and their precursors on nitric oxide, citrulline and asparagine production by mouse macrophage-like Raw 264.7 cells. *Anticancer Res*. 2002; 22(5): 2719–2724.
3. 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 Immun*. 2017; 23(3): 285–295.
4. Сомова Л.М., Плехова Н.Г. Оксид азота как медиатор воспаления. *Вестник ДВО РАН*. 2006; 6: 77–80.
5. Данилец М.Г., Гурьев А.М., Бельская Н.В., Белоусов М.В., Бельский Ю.П., Учасова Е.Г., Трофимова Е.С., Лигацева А.А., Ахмеджанов Р.Р., Юсубов М.С., Агафонов В.И. Макрофаги как фармакологическая мишень для регуляции баланса Th1/Th2. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2008; Приложение № 2: 63–68.

РАЗНОНАПРАВЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ M1 И M2 МАКРОФАГОВ ЧЕЛОВЕКА НА ЭКСПРЕССИЮ α -SMA ДЕРМАЛЬНЫМИ МИОФИБРОБЛАСТАМИ

А.А. Максимова, Т.В. Тыринова, И.М. Ращупкин

ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Миофибробласты (МФб) являются ключевыми клетками, участвующими в процессах репарации и фиброгенеза благодаря контрактивным свойствам и способности активно продуцировать белки внеклеточного матрикса. Наиболее общепринятым маркером, отражающим дифференцировку предшественников МФб в активные клетки, является α -гладкомышечный актин (α -SMA), который обеспечивает сокращение межклеточного матрикса. Дифференцировка МФб модулируется различными стимулами, среди которых наибольшее значение имеют макрофаги (Мф) и продуцируемые ими цитокины. При этом направленность эффектов Мф определяется рядом факторов, в том числе стадией раневого процесса и функциональным фенотипом Мф. Однако влияние различных субпопуляций Мф человека на дифференцировку фибробластов в МФб остается неисследованным. В данной работе оценивалось влияние M1, M2a и M2c субпопуляций Мф, полученных из GM-CSF-стимулированных моноцитов периферической крови человека, а также продуцируемых ими цитокинов, на дифференцировку дермальных фибробластов человека в МФб, оцениваемую по экспрессии α -SMA.

Дифференцировку фибробластов в МФб проводили в присутствии 5 % ростовых факторов сыворотки, используя в качестве позитивного контроля TGF β 1. Со-культивирование фибробластов и M1 Мф, поляризованных липополисахаридом, приводило к выраженному снижению количества α -SMA-позитивных клеток по сравнению с контролем. Ингибирующий эффект M1(LPS) был еще более выражен в присутствии кондиционной среды M1 Мф. В то же время M2a Мф, поляризованные IL-4, и M2c, поляризованные дексаметазоном, поддерживали высокий уровень дифференцировки МФб на уровне контрольных культур. В отличие от Мф культивирование фибробластов в присутствии кондиционных сред M2a(IL-4) и M2c(Dex) Мф приводило к более чем двукратному снижению содержания α -SMA-позитивных клеток по сравнению с контролем. Обобщая полученные данные, можно сделать вывод о разнонаправленном влиянии M1 и M2 Мф на дифференцировку фибробластов в миофибробласты. При этом M1 Мф оказывают ингибирующий эффект на экспрессию α -гладкомышечного актина фибробластами, который опосредуется преимущественно растворимыми факторами макрофагов. Напротив, M2a и M2c Мф поддерживают дифференцировку фибробластов в миофибробласты на высоком уровне, однако этот эффект проявляется при наличии клеточных контактов между Мф и фибробластами.

Ключевые слова: поляризация макрофагов, миофибробласты, репарация, α -гладкомышечный актин, проточная цитометрия.

OPPOSING EFFECTS OF HUMAN M1 AND M2 MACROPHAGES ON α -SMA EXPRESSION BY DERMAL MYOFIBROBLASTS

A.A. Maksimova, T.V. Tyrinova, I.M. Rashchupkin

Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia

Abstract

Myofibroblasts (MFb) are key cells involved in the processes of repair and fibrogenesis due to contractile properties and the ability to produce actively extracellular matrix proteins. The most common marker reflecting the differentiation of MFb precursors into active cells is α -smooth muscle actin (α -SMA), that is provides the extracellular matrix contraction. The differentiation of MFb is modulated by various stimuli, among which macrophages (M ϕ) and their cytokines have the greatest importance. Moreover, the direction of the effects is determined by a number of factors, including the stage of the wound process and the functional phenotype M ϕ . However, the effect of various human M ϕ subpopulations on the differentiation of fibroblasts in the MFb remains unclear. In this work, we evaluate the influence of M1, M2a, and M2c M ϕ subpopulations obtained from GM-CSF-stimulated human peripheral blood monocytes, as well as cytokines produced by them, on the differentiation of human dermal fibroblasts into MFb by α -SMA expression. The differentiation of fibroblasts

in MFb was conducted in the presence of 5 % growth factors of serum, and TGF β was used as a positive control. Co-cultivation of fibroblasts and M1 M ϕ polarized by lipopolysaccharide led to a pronounced α -SMA-positive cell decrease compared to the control. The inhibitory effect of M1 (LPS) was even more pronounced in the presence of the conditioned medium M1 M ϕ . Indeed, M2a, M ϕ , polarized by IL-4 and M2c, polarized by dexamethasone, supported the differentiation of MFb at the control culture level. However, the cultivation of fibroblasts in the presence of conditioned media of M2a (IL-4) and M2c (Dex) M ϕ caused a twofold decrease of α -SMA-positive cells compared to the control. Summarizing the data obtained we can conclude that the M1 and M2 M ϕ have opposing effects on the differentiation fibroblasts in myofibroblasts. At the same time, M1 has an inhibitory effect on the expression of α -smooth muscle actin by fibroblasts, which is mediated predominantly by soluble macrophage factors. On the contrary, M2a and M2c M ϕ ensure the differentiation of fibroblasts into myofibroblasts at a high level, but this effect is realized in the presence of the cell contacts between M ϕ and fibroblasts only.

Key words: macrophages polarization, myofibroblasts, repair, α -smooth muscle actin, flow cytometry.

Актуальность

Длительно незаживающие раны и проблемы регенерации на сегодняшний день являются актуальным вопросом в медицинском сообществе. Постоянно ведутся поиски новых подходов к лечению заболеваний, связанных с нарушением нормальной репарации ткани. Одно из перспективных направлений связано с клеточными технологиями, в частности, с использованием макрофагов (Мф) как клеток, ответственных за регуляцию репаративных процессов [1]. Эти клетки представляют собой уникальную популяцию, внутри которой различают подтипы M1, M2a, M2b, M2c, M2d, отличающиеся фенотипически и функционально и способные «переключаться» между собой под воздействием различных стимулов микроокружения [2]. Высокая гетерогенность и пластичность позволяют Мф оказывать разнонаправленное действие на фиброгенез [1, 3]. В работах, проведенных на экспериментальных животных, было показано, что M2a и M2c Мф играют важную роль на поздних этапах заживления раны, включая ее контракцию [3]. Однако значительные отличия мышинных Мф от Мф человека не позволяют экстраполировать полученные в этих работах данные на человека [4].

Цель исследования – оценка влияния M1, M2a и M2c Мф и их кондиционных сред на экспрессию α -гладкомышечного актина (α -SMA) дермальными фибробластами человека линии NAF1.

Материал и методы

Генерация макрофагов

GM-CSF-дифференцированные макрофаги получали из адгезивной фракции мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови здоровых доноров, как описано в [5]. Кондиционные среды макрофагов собирали, центрифугировали и использовали в дальнейшей работе.

Совместные культуры макрофагов и фибробластов

Линия дермальных фибробластов была получена от ЦКП «Коллекция плюрипотентных культур клеток человека и млекопитающих общепедагогического и биомедицинского направления» ФИЦ ИЦиГ СО РАН. Клетки в количестве 100 тыс./лунку помещали в 12-луночные планшеты и культивировали в среде DMEM/F-12 с 5 % FBS с добавлением макрофагов M1, M2a и M2c в соотношении 1:1, кондиционных сред макрофагов (50 % от конечного объема) или 10 нг/мл TGF β 1. После 3 сут клетки отделяли трипсином, подсчитывали и окрашивали антителами для проточной цитофлуориметрии.

Проточная цитометрия

Клетки окрашивали CD44-Fitc и α -SMA-APC конъюгированными антителами и анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCalibur.

Результаты

α -SMA считается основным маркером дифференцировки фибробластов в миофибробласты и отвечает за раневую контракцию в процессе заживления. Мы оценивали влияние макрофагов M1(LPS), M2a(IL-4) и M2c(Dex) и их кондиционных сред на экспрессию этого маркера фибробластами линии NAF1. Культивирование фибробластов в присутствии 5 % FBS приводило к активной дифференцировке клеток в миофибробласты, при этом количество α -SMA-позитивных клеток было сопоставимо с таковым в TGF β 1-стимулированных культурах (рис. 1, A). Культивирование фибробластов в присутствии M1(LPS) Мф сопровождалось выраженным снижением количества α -SMA-позитивных клеток по сравнению с контролем – 42 и 63 % (на 33 %) (см. рис. 1, A, B). Более того, использование вместо M1 макрофагов их кондиционной среды приводило к усилению ингибирующего эффекта на дифференцировку

фибробластов в миофибробласты – 14 % α -SMA-позитивных клеток по сравнению с 63 % (см. рис. 1). В отличие от M1(LPS) Мф, совместное культивирование фибробластов и M2a(IL-4) и M2c(Dex) Мф обеспечивало высокий уровень α -SMA-позитивных клеток в культуре, сопоставимый с таковым в контрольных культурах (65 и 70 % соответственно) (см. рис. 1, А, В). В то же время замена M2 клеток их растворимыми факторами приводила к двукратному снижению содержания α -SMA-позитивных клеток (см. рис. 1, А).

Выводы

Полученные данные свидетельствуют о разнонаправленных эффектах M1 и M2 макрофагов на дифференцировку дермальных фибробластов в миофибробласты, а также о роли клеточных контактов и растворимых факторов макрофагов в опосредовании этих эффектов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-90001.

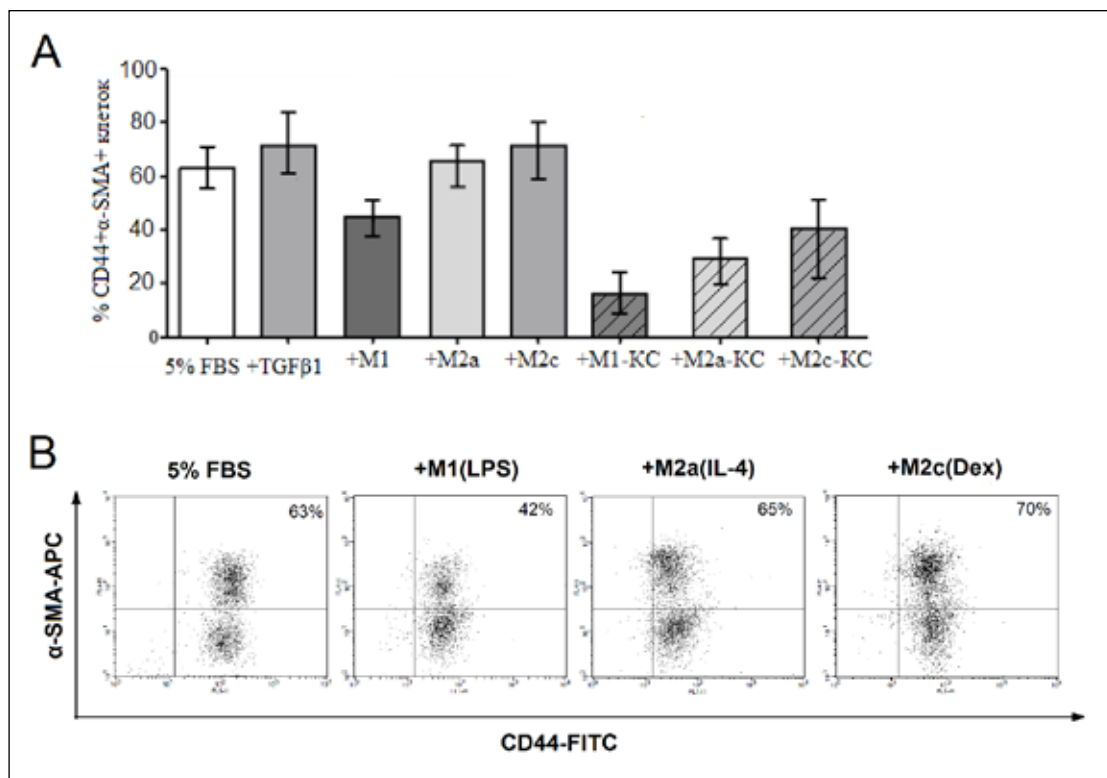


Рис. 1. Влияние различных подтипов Мф и их кондиционных сред на содержание CD44+ α -SMA+ клеток в культурах фибробластов: А – количество CD44+ α -SMA+ клеток при воздействии различных подтипов Мф и их кондиционных сред; В – данные проточной цитометрии. Фибробласты, культивируемые в присутствии M1(LPS), M2a(IL-4) и M2c(Dex) Мф. KC – кондиционная среда, α -SMA – α -smooth actin, FBS – fetal bovine serum, TGFβ1 – tissue growth factor, LPS – липополисахарид, Dex – дексаметазон

ЛИТЕРАТУРА

1. Wynn T.A., Vannella K.M. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity*. 2016; 44(3): 450–462.
2. Tamas R. Understanding the Mysterious M2 Macrophage through Activation Markers and Effector Mechanisms. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015: 816460. doi: 10.1155/2015/816460.
3. Adhyatmika A., Putri K.S., Beljaars L., Melgert B.N. The elusive antifibrotic macrophage. *Frontiers in Medicine*. 2015; 2: 1–11.
4. Panicker L.M., Feldman R.A., Urbanska A.M., Santambrogio L., Vunjak-Novakovic G., Freytes D.O. Differential gene expression in human, murine, and cell line-derived macrophages upon polarization. *Experimental Cell Research*. 2016; 347(1): 1–13.
5. Yankovskaya A.A., Shevela E.Y., Sakhno L.V., Tikhonova M.A., Dome A.S., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Allostimulatory activity as a criterion of the functional phenotype of human macrophages. *Human Immunology*. 2019; 80(10): 890–896.

ВЛИЯНИЕ (3,5-ДИМЕТИЛ-4-ГИДРОКСИ) БЕНЗИЛТИОДОДЕКАНА НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС В МОДЕЛИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**Ю.В. Мешкова¹, С.А. Низомов¹, И.В. Сорокина¹, Н.А. Жукова¹,
О.И. Просенко², Н.В. Кандалинцева², Т.Г. Толстикова¹**

Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, г. Новосибирск, Россия¹,
Федеральное государственное бюджетное учреждение ВО «Новосибирский государственный
педагогический университет», г. Новосибирск, Россия²

Аннотация

Известно, что течение доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) обычно сопровождается заболеваниями, связанными с нарушением липидного обмена, снижением толерантности к глюкозе, воспалением и окислительным стрессом. Поэтому поиск простатопротекторных агентов, обладающих не только антипролиферативным действием в предстательной железе, но и соответствующими плеiotропными эффектами, является актуальным. Ранее было показано, что жирорастворимый антиоксидант (3,5-диметил-4-гидрокси)бензилтиододекан (Т-ДД) проявляет выраженную антипролиферативную активность в предстательной железе крыс в модели ДГПЖ, индуцированной 8-недельным введением сульпирида (40 мг/кг) [1]. Целью данной работы явилось исследование влияния Т-ДД на биохимические показатели сыворотки крови крыс, отражающие состояние липидного (холестерин, липопротеиды) и углеводного обмена (глюкоза) и окислительного стресса (МДА) в условиях данной модели. Установлено, что хроническое введение сульпирида вызывает повышение уровней малонового диальдегида (МДА) и холестерина в крови (в 1,6 и 1,4 раза соответственно), но не оказывает значимого влияния на концентрацию глюкозы, триглицеридов и липопротеидов. Внутривенное введение Т-ДД в дозе 100 мг/кг на фоне сульпирида уменьшает в 1,4 раза концентрацию МДА и холестерина относительно контрольной группы. Референтный препарат пермиксон, вводимый тем же способом в дозе 50 мг/кг, проявляет такой же антиокислительный эффект, но не оказывает достоверного влияния на уровень холестерина. Оба агента не вызывают статистически значимого изменения в уровне липопротеидов относительно контроля.

Ключевые слова: доброкачественная гиперплазия предстательной железы, сульпирид, малоновый диальдегид, холестерин, бензилтиододекан.

THE IMPACT OF (3,5-DIMETHYL-4-HYDROXY)BENZYLTHIODODECANE ON THE METABOLIC PROFILE OF RAT BLOOD SERUM IN THE MODEL OF BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA

**Yu.V. Meshkova¹, S.A. Nizomov¹, I.V. Sorokina¹, N.A. Zhukova¹, O.I. Prosenko²,
N.V. Kandalintseva², T.G. Tolstikova¹**

N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch,
Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia¹,
Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia²

Abstract

It is known that the course of benign prostatic hyperplasia (BPH) is usually accompanied by diseases associated with impaired lipid metabolism, decreased glucose tolerance, inflammation and oxidative stress. Therefore, the development of prostatoprotective agents possessed not only antiproliferative action in the prostate gland, but also the corresponding pleiotropic effects, is relevant. It was previously shown that the fat-soluble antioxidant (3,5-dimethyl-4-hydroxy) benzylthiododecane (T-DD) exhibits pronounced antiproliferative activity in the rat prostate gland in the BPH model induced by 8-week administration of sulpiride (40 mg/kg) [1]. The

aim of this work was to study the impact of T-DD on the biochemical parameters of rat serum, representing the status of lipid (cholesterol, lipoproteins) and glycolytic (glucose) metabolism and oxidative stress (MDA) under this model. It was found that chronic administration of sulpiride increase the malondialdehyde (MDA) and cholesterol (1.6 and 1.4 times, respectively) levels in serum, but does not significantly affect the concentration of glucose, triglycerides and lipoproteins. Oral administration of T-DD at a dose of 100 mg/kg with sulpiride injection reduces 1.4 times the concentration of MDA and cholesterol relative to the control group. The reference drug Permixon, administered in the same way at a dose of 50 mg/kg, exhibits the same antioxidant effect, but does not significantly affect cholesterol levels. Both agents do not cause a statistically significant change in lipoprotein levels relative to control.

Key words: benign prostatic hyperplasia, sulpiride, malondialdehyde, cholesterol, benzilthiododecane.

Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) клинически определяется как незлокачественное увеличение клеток в периуретральном отделе предстательной железы. Это самое распространенное урологическое заболевание у мужчин пожилого и старческого возраста. Причины возникновения ДГПЖ многофакторные и до конца не выяснены. Однако известно, что ДГПЖ часто сопутствуют такие патологии, как метаболический синдром, ожирение, диабет, воспаление и ишемия тканей [2, 3]. Вследствие недостаточного ассортимента эффективных препаратов для лечения и профилактики ДГПЖ ведется поиск новых простатопротекторов с комплексным действием. Таким перспективным агентом можно считать малотоксичный фенольный антиоксидант (3,5-диметил-4-гидроксibenзилтиододекан (Т-ДД), синтезированный в НГПУ [4]. Известно, что Т-ДД обладает цитопротекторным, противоишемическим действием, проявляет высокую антиоксидантную активность *in vitro* и *in vivo*, сопоставимую с эффектом α -токоферола [4]. Ранее было показано, что Т-ДД обладает антипролиферативным действием в простате крыс в модели ДГПЖ [1].

Цель работы – оценка влияния Т-ДД на метаболические показатели липидного обмена и перекисного окисления в крови крыс в модели ДГПЖ, индуцированной хроническим введением сульпирида.

Материал и методы

Исследования проводили на крысах-самцах линии Wistar репродуктивного возраста. Крысам контрольной, референсной и опытной групп вводили внутривенно сульпирид («Эглонил», «Санофи», Франция) в дозе 40 мг/кг в течение 60 сут [5, 6]. Через час опытным крысам вводили Т-ДД (100 мг/кг) в растворе рафинированного подсолнечного масла, референс-группе – препарат пермиксон («Pierre Fabre Medicament», Boulogne, France) в виде водной взвеси в дозе 50 мг/кг [7], контрольной группе – водно-твиновую смесь. Выбор растворителя и дозы Т-ДД сделан исходя из его липофильности и полученных ранее данных о биологической активности [8]. Интактные животные не подвергались воздействию. Через 2 мес всех животных выводили из эксперимента мгновенной декапитацией. Во время забоя собирали кровь для последующего биохимического анализа. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета Statistica-7. Достоверность различий определяли методами параметрической и непараметрической статистики с помощью критериев Стьюдента и Манна–Уитни при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

Хроническое введение сульпирида вызвало в крови контрольных животных достоверное повышение МДА (в 1,6 раза), при этом наблюдалось достоверное повышение активности каталазы (в 1,4 раза), что можно рассматривать как адаптивную реакцию животных на окислительный стресс. С другой стороны, на фоне сульпирида тенденциозно повышались показатели липидного обмена – холестерин и триглицериды (в 1,4 и 1,3 раза соответственно). Показатели липопротеинов и уровень глюкозы оставались в пределах нормы (таблица).

В группе с введением Т-ДД на фоне сульпирида отмечено достоверное в 1,4 раза снижение концентрации МДА относительно контрольных животных, что соответствовало уровню у интактных животных. Также было выявлено достоверное снижение уровня холестерина до интактной нормы. Под действием Т-ДД не изменялись показатели каталазы, глюкозы, триглицеридов и липопротеинов относительно контроля. Референсный препарат пермиксон оказал аналогичное Т-ДД достоверное снижение уровня МДА (в 1,4 раза относительно контрольной группы) и в меньшей степени снизил холестерин. В то же время пермиксон вызвал тенденциозное повышение концентрации глюкозы и триглицеридов относительно интактной нормы (см. таблицу).

Вывод

Таким образом, в модели ДГПЖ, индуцированной сульпиридом, Т-ДД проявляет выраженный антиоксидантный и умеренный гипохолестеринемический эффекты, которые не уступают соответствующему действию пермиксона. Эти результаты подтверждаются данными о том, что Т-ДД обладает антиокислительной активностью, сопоставимой с α -токоферолом и тролоксом [4]. Метаболические эффекты Т-ДД, обнаруженные нами на сульпиридной модели ДГПЖ, могут вносить вклад в механизм простатопротекторного действия этого соединения.

Таблица

Влияние Т-ДД на биохимические показатели в сыворотке крови крыс в сульпиридной модели ДГПЖ

Показатели крови	Интактные	Контроль (сульпирид)	Пермиксон+сульпирид	Т-ДД +сульпирид
МДА, мкмоль/л	9,28±0,67	14,70±2,27 ^и p=0,027	10,63±0,74 ^к p=0,044	10,46±0,84 ^к p=0,049
Каталаза, ЕД/л	37,36±7,20	51,74±7,10 ^и p=0,029	47,24±13,29	52,38±10,39 ^и p=0,022
Глюкоза, ммоль/л	6,78±0,35	8,03±0,62	9,33±0,42 ^и p=0,0034	8,28±0,24 ^и p=0,0048
Холестерин, ммоль/л	1,26±0,06	1,77±0,37	1,35±0,07	1,29±0,05 ^к p=0,043
Триглицериды, ммоль/л	1,01±0,04	1,36±0,42	1,65±0,18 ^и p=0,026	1,30±0,10
ЛПВП, ммоль/л	69,60±3,80	65,60±4,42	57,24±2,57 ^и p=0,023	60,45±1,75 ^и p=0,029
ЛПНП, ммоль/л	83,10±1,19	80,82±3,15	80,97±1,43	82,14±1,63

Примечание. М±SE; p≤0,05, различия достоверны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Низомов С.А., Сорокина И.В., Жукова Н.А., Толстикова Т.Г., Семенов Д.Е., Лушников Е.Л., Просенко О.И., Просенко А.Е. Морфологическая оценка простатотропного эффекта (3,5-диметил-4-гидроксид)бензилтиодоксана у крыс с индуцированной доброкачественной гиперплазией предстательной железы. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2019; 167(6): 772–776.
2. Тюзиков И.А., Калинин С.Ю. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы как системное гормонально-метаболическое заболевание: время изменить парадигмы патогенеза и фармакотерапии. Эффективная фармакотерапия. Урология и нефрология. 2016; 33(4): 32–46.
3. Parikesit D., Mochtar Ch.A., Umbas R., Hamid A.R. The impact of obesity towards prostate diseases Prostate International. 2016; 4: 1–6.
4. Кемелева Е.А., Васюнина Е.А., Сеницина О.И., Хомченко А.С., Гросс М.А., Кандалицева Н.В., Просенко А.Е., Невинский Г.А. Новые перспективные антиоксиданты на основе 2,6-диметилфенола. Биоорганическая химия. 2008; 34(4): 558–569.
5. Боровская Т.Г., Фомина Т.И., Ермолаева Л.А., Вычужанина А.В., Пахомова А.В., Подуэктова М.Е., Щемерова Ю.А. Сравнительная оценка эффективности простатотропных средств породного происхождения при экспериментальной доброкачественной гиперплазии предстательной железы. Бюллетень экспериментальной биологии. 2013; 155(1): 43–77.
6. Van Coppenolle F., Slomianny C., Carpentier F.O., Le Bourhis X., Ahidouch A., Croix D., Legrand G., Dewailly E., Fournier S., Cousse H., Authie D., Raynaud J.-P., Beauvillain J.-C., Dupouy J.-P., Prevarskaya N. Effects of hyperprolactinemia on rat prostate growth: evidence of androgen-dependence. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2001; 280: 120–129.
7. Petrangeli E., Lenti L., Buchetti B., Chinzari P., Sale P., Salvatori L., Ravenna L., Lococo E., Morgante E., Russo A., Frati L., Di Silverio F., Russo M.A. Lipido-sterolic extract of *Serenoa repens* (LSEr, Permixon1) treatment affects human prostate cancer cell membrane organization. J. Cell. Physiol. 2009; 219: 69–76.
8. Просенко А.Е., Гросс М.А., Кандалицева Н.В., Толстикова Т.Г., Сорокина И.В. Патент RU 2447888. Средство для коррекции цитотоксических эффектов паранеопластических процессов и химиотерапии, обладающее противоопухолевой активностью, бюлл. № 11, опублик. 20.04.2012.

РЕГЕНЕРАЦИЯ КОЖИ КРЫС ПРИ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГАХ И ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ КОСТНОМЗГОВЫМИ КЛЕТКАМИ

В.М. Мочалова¹, А.А. Гостюхина²

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Россия¹,
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», г. Томск, Россия²

Аннотация

В России термическая травма занимает третье место среди прочих травм. Ежегодно около 40 % пострадавших с глубокими ожогами нуждаются в хирургическом вмешательстве. В настоящее время все активнее изучают влияние клеток костного мозга на различные заболевания, в том числе и на ожоговую травму. Экспериментальное исследование проведено на 20 половозрелых крысах-самцах линии Wistar, которые были разделены на две группы: контрольная и опытная. Животным опытной группы моделировали ожоговую травму и проводили коррекцию клетками костного мозга через 6 ч после моделирования, а также на 5-е и 10-е сут эксперимента. Животным контрольной группы моделировали термический ожог и аналогично опытной группе вводили 0,9 % хлорид натрия (коррекция клетками костного мозга в данной группе не проводилась). Показано, что коррекция клетками костного мозга ускоряет регенеративный процесс при термической травме. Полная эпителизация у отдельных крыс опытной группы, которым проводили коррекцию костномозговыми клетками, наблюдалась уже на 24-е сут, в то время как у животных контрольной группы она отсутствовала и к 28-м сут. Кроме того, у крыс с коррекцией клетками костного мозга было отмечено отсутствие коллоидного рубца.

Ключевые слова: клеточная терапия, коррекция, костномозговые клетки, термическая травма, стволовые клетки.

REGENERATION OF RAT SKIN IN THERMAL BURNS AND AFTER CORRECTION BY BONE MARROW CELLS

V.M. Mochalova¹, A.A. Gostyukhina²

Federal Autonomous Educational Institution of Higher Education
«National Research Tomsk State University», Tomsk, Russia¹,
Siberian Federal science-clinical center of Federal medicobiological agency, Seversk, Russia²

Abstract

In Russia thermal trauma ranks third among other injuries. Every year about 40 % of victims with deep burns need surgery. Currently, the effects of bone marrow cells are increasingly being studied on various diseases, including burn injury. The experimental study was carried out on 20 male «Wistar» male rats, which were divided into two groups: control and experimental. Animals of the experimental group were simulated with a burn injury and corrected by bone marrow cells 6 hours after the simulation, as well as on the 5th and 10th days of the experiment. Control group animals were simulated with thermal burn and similarly to the test group, 0.9 % sodium chloride was administered (no correction by bone marrow cells in this group). Correction by bone marrow cells has been shown to accelerate the regenerative process in thermal trauma. Complete epithelization in individual rats of the test group, which were corrected by bone cells, was observed as early as 24 days, while in animals of the control group it was absent by 28 days. In addition, no colloidal scar was observed in bone marrow cell corrected rats.

Key words: cellular therapy, correction, bone marrow cells, thermal injury, stem cells.

Актуальность

В Российской Федерации термические ожоги занимают третье место среди прочих травм. Ежегодно регистрируется около 800 тыс. пострадавших от ожогов различной тяжести, из которых 15 тыс. погибают, а около 16 тыс. становятся инвалидами из-за развивающихся рубцовых контрактур и осложнений со стороны внутренних органов. При лечении ожогов используется комплекс консервативных и хирургических методов, таких как некрэктомия, пересадка кожи. Однако в наши дни клеточная терапия может быть успешно применена в коррекции термических повреждений. Кроме того, в настоящее время существует множество работ (А.Р. Закирьянова (2009), М.Ф. Расулова (2009), Е.В. Баранова (2013), А.А. Гостюхиной (2014), К.В. Зайцева (2014)), описывающих положительное влияние клеток костного мозга и при лечении других патологий: сахарный диабет, трофические язвы, лучевые ожоги и др. [1–3]. В последние годы интерес к выделению и культивированию клеток костного мозга достиг высокого уровня. При этом уже доказано, что клетки костного мозга отличаются своей способностью к самоподдержанию и дифференцировке, т.е. в необходимый момент они могут при делении изменить свою программу и создать другие, новые, специализированные типы клеток [2, 4, 5].

Цель исследования – оценить динамику заживления термических повреждений кожных покровов крыс после коррекции костномозговыми клетками.

Материал и методы

Экспериментальное исследование выполнено на 20 половозрелых крысах-самцах линии Wistar» массой 250–280 г, которые содержались в стандартных условиях вивария при естественном световом режиме и на стандартном рационе со свободным доступом к воде и пище. Все процедуры с животными выполнялись в утренние часы (с 9:00 до 11:00 ч) согласно правилам и рекомендациям гуманного обращения с животными (ГОСТ 34088–2017). Все животные были разделены на две группы (по 10 особей в каждой): контрольная группа – животные, которым моделировали термический ожог и вводили трехкратно с интервалом 4 дня 0,9 % хлорид натрия; опытная группа – животные, которым моделировали термический ожог и вводили трехкратно с интервалом 4 дня клетки костного мозга в область ожога. Термический ожог моделировался по стандартной методике с помощью разогретого до 100 °С металлического стержня диаметром 2 см путем прикладывания на 30 с к заранее бритой дорсальной поверхности тела крыс. Первое введение клеток костного мозга было осуществлено опытной группе через 6 ч после моделирования ожогов в ожоговую рану в две точки (на 12 и 6 ч). Данная коррекция повторялась через 4 дня, т.е. на 5-е и 10-е сут эксперимента. Контрольной группе, аналогично опытной, вводили 0,9 % хлорид натрия. Для оценки воспалительного процесса в ходе эксперимента у крыс с интервалом 4 дня проводили гематологический анализ крови с помощью гематологического анализатора PCE-90 Vet (HTI, США). Забор крови осуществляли путем разреза десны в сухую чистую пробирку (с ЭДТА). Все процедуры проводились под CO₂-наркозом. Измерение заживления термических повреждений осуществляли с помощью штангенциркуля и многофункционального графического редактора Paint (Microsoft, США). Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft, США).

Результаты

Эксперимент показал, что у всех подопытных крыс под влиянием термического воздействия развивался термический ожог III степени, который характеризовался поражением всей толщи кожи. При оценке динамики заживления ожога у контрольной группы нами были выделены следующие стадии. На 3-й день, как и на 7-й день, у крыс наблюдалось омертвление кожи с сильным отеком. Рана имела округлые очертания и красно-розовый оттенок. При этом площадь раны на 3-й день составляла $2,78 \pm 0,65 \text{ см}^2$, а на 7-й – $2,23 \pm 0,59 \text{ см}^2$ (таблица).

Все описанные выше признаки были представлены в работах Н.С. Попова и А.В. Александровой, посвященных морфологическим изменениям в коже крыс при наружном применении экстракта пиявки медицинской при термическом ожоге и заживлению ожоговой раны при лечении синтетическим ингибитором матричных металлопротеиназ доксициклином [6–8]. Аналогичную картину можно увидеть и у крыс опытной группы, которым проводили коррекцию клетками костного мозга. Однако хотелось бы отметить, что на 7-е сут у крыс данной группы площадь ожоговой раны статистически уменьшилась на 17 %, чем у крыс контрольной группы. На 14-й день наблюдения у обеих групп отмечено образование рыхлого неравномерного по толщине струпа темно-серого цвета. Наблюдалось уменьшение раневой поверхности. На 20-й день у животных обеих групп зафиксировано отпадение струпа, под которым была заметна болезненная поверхность росткового слоя кожи ярко-красного оттенка. При этом волосяной покров в зоне повреждения увеличился. В этот период рана значительно уменьшилась: у контрольной группы на 52,9 % по сравнению с 14-м днем наблюдения, а у опытной группы – на 53,9 %. С 24–28-х сут у крыс контрольной группы происходило образование коллоидного рубца, который сопровождался небольшим отеком. При этом у крыс опытной группы все данные признаки отсутствовали: кожа была гладкая, без признаков воспаления (рис. 1). Площадь ожоговой раны достоверно была меньше на 44,74 % у контрольной группы и на 65,75 % у опытной группы по сравнению с 20-м днем наблюдения.

При гематологическом анализе были получены результаты содержания следующих форменных элементов крови: эритроциты, лейкоциты, тромбоциты, лимфоциты и гранулоциты. Для подтверждения воспалительного процесса мы уделяли больше внимания на количеству лейкоцитов в крови как у животных контрольной, так и опытной группы, так как лейкоциты – это белые кровяные клетки, которые играют важную роль в защите организма при любых воспалительных процессах, участвуя в иммунном ответе [9]. На 3-й день наблюдения у крыс контрольной группы было зафиксировано достоверное увеличение количества лейкоцитов на 6,7 %, у опытной группы – на 2,5 %. Однако на 7-й день в опытной группе резко возросло

количество лейкоцитов на 24,89 %, что может предполагать начало развития иммунного ответа в данный промежуток времени. На 14-й день было отмечено уменьшение лейкоцитов как у контрольной, так и у опытной группы. На 20-й день в обеих группах снова наблюдалось повышение количества лейкоцитарных клеток: у контрольной группы на 30 %, у опытной группы на 10 %. На 24–28-е сут содержание лейкоцитов в обеих группах пришло в норму по сравнению с 1-м днем эксперимента.

Выводы

При моделировании термической травмы у крыс контрольной и опытной групп формируется ожог III степени. Развитие повреждений кожных покровов крыс с термическим ожогом и с коррекцией клетками костного мозга протекает в 4 стадии. Количество лейкоцитов у крыс контрольной и опытной групп изменяется согласно стадиям регенеративного процесса термического ожога. Коррекция клетками костного мозга термических повреждений приводит к уменьшению площади раневой поверхности, к ранней полной эпителизации и к отсутствию коллоидного рубца.

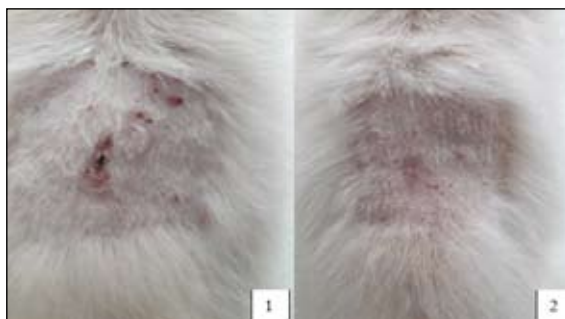


Рис. 1. Термический ожог на 28-й день: 1 – контрольная группа, 2 – опытная группа

Таблица

Динамика площади ожоговых ран у крыс, см²

Группа	На 3-й день	На 7-й день	На 14-й день	На 20-й день	На 24-й день
Контрольная	2,78±0,65	2,23±0,59 p≤0,05; p ₁ ≤0,05	1,65±0,31 p≤0,05	0,76±0,36 p≤0,05	0,42±0,11 p≤0,05; p ₁ ≤0,05
Опытная	2,78±0,26	1,76±0,21 p≤0,05; p ₁ ≤0,05	1,55±0,38 p≤0,05	0,73±0,52 p≤0,05	0,25±0,13 p≤0,05; p ₁ ≤0,05

Примечание. p≤0,05 – уровень статистической значимости по отношению к 3-му дню эксперимента соответствующих групп; p₁≤0,05 – уровень статистической значимости между контрольной и опытной группами в соответствующие дни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алейкин Д.Я., Зорин В.Л., Еремин И.И. Использование клеточных технологий для восстановления повреждений кожи при ожоговой травме. Современные проблемы науки и образования. 2015; 4: 331–331.
2. Баранов Е.В., Третьяк С.И., Василевич И.Б. Клинические возможности применения аутогенных мультипотентных мезенхимных стромальных клеток жировой ткани при лечении пациентов с трофическими язвами нижних конечностей. Научно-практический журнал «Гены и Клетки». 2013; 8(2): 78–83.
3. Bey E., Prat M., Duhamel P., Benderitter M., Brachet M., Trompier F., Tisedre F. Emerging therapy for improving wound repair of severe radiation burns using local bone marrow-derived stem cell administrations. Wound Repair and Regeneration 2010; 18: 50–58.
4. Зафранская М.М., Нижегородова Д.Б. Мезенхимальные стволовые клетки как стратегия лечения рассеянного склероза: Актуальные проблемы и перспективы. Медицинская иммунология. 2017; 6: 683–685.
5. Ананьева Л.П., Алекперов Р.Т., Насонов Е.Л. Мезенхимальные клетки костного мозга – перспективы использования при ревматических болезнях. Научно-практическая ревматология. 2013; 51(1): 59–67.
6. Александрова А.В. Заживление ожоговой раны при лечении синтетическим ингибитором матричных металлопротеиназ доксициклином. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2012; 1: 61–62.
7. Попов Н.С., Демидова М.А., Шестакова В.Г. Морфологические изменения в коже крыс при наружном применении экстракта пивавки медицинской при термическом ожоге. Верхневолжский медицинский журнал. 2014; 12(2): 45–50.
8. Имашева А.К. Особенности регенеративных процессов кожи при термических ожогах у животных. Успехи современного естествознания. 2008; 7: 27–29.
9. Юшков Б.Г. Клетки иммунной системы и регуляция регенерации. Бюллетень сибирской медицины. 2017; 16(4): 94–105. doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-94-105.

ПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ (3,5-ДИМЕТИЛ-4-ГИДРОКСИ) БЕНЗИЛТИОДОДЕКАНА В ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КРЫС В МОДЕЛИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ ПРОСТАТЫ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ТЕСТОСТЕРОНОМ

**С.А. Низомов¹, Ю.В. Мешкова¹, И.В. Сорокина^{1,2}, Н.А. Жукова¹,
Т.Г. Толстикова¹, О.И. Просенко², Н.В. Кандалинцева²**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова» Сибирского отделения академии наук, г. Новосибирск, Россия¹,
Федеральное государственное бюджетное учреждение ВО «Новосибирский государственный педагогический университет», г. Новосибирск, Россия²

Аннотация

Целью настоящей работы являлась оценка простатотропной активности жирорастворимого фенольного антиоксиданта (3,5-диметил-4-гидрокси)бензилтиододекана (Т-ДД) на тестостероновой модели доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ). Исследование проводили на крысах-самцах Wistar, которым ежедневно вводили подкожно тестостерона пропионат в дозе 20 мг/кг в течение 4 нед. Т-ДД вводили на фоне тестостерона внутривенно в дозе 100 мг/кг в виде масляного раствора. Референсный препарат пенестер («Зентива», Чешская Республика) вводили тем же способом в виде взвеси в воде с Твином-80 в эффективной дозе 10 мг/кг. Морфологическое исследование предстательной железы проводили светоптическим методом. Установлено, что введение Т-ДД существенно уменьшает массу простаты, а также снижает митотическую активность эпителиоцитов и выраженность очаговой железистой гиперплазии в ткани железы. Отмеченные эффекты Т-ДД подобны таковым у пенестера. Представленные данные свидетельствуют о перспективности Т-ДД как агента с простатотропной активностью при ДГПЖ.

Ключевые слова: гиперплазия предстательной железы, тестостерон, бензилтиододекан, морфология, крысы.

THE BENZYLTHIODODECANE PROTECTIVE EFFECTS IN THE PROSTATE GLAND OF RATS UNDER THE MODEL OF BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA, INDUCED BY TESTOSTERONE

**S.A. Nizomov¹, Yu.V. Meshkova¹, I.V. Sorokina^{1,2}, N.A. Zhukova¹,
T.G. Tolstikova¹, O.I. Prosenko², N.V. Kandalintseva²**

N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry,
Siberian Branch of the Academy of Sciences (NIOCh SB RAS), Novosibirsk, Russia¹,
Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia²

Abstract

The purpose of this work was to study the prostatic activity of (3,5-dimethyl-4-hydroxy) benzylthiododecane (T-DD) in a model of benign prostatic hyperplasia (BPH) induced by testosterone propionate. The experiments were carried out on Wistar male rats which were subcutaneously injected with testosterone propionate at a dose of 20 mg/kg for 4 weeks. T-DD was administered orally at a dose of 100 mg/kg in corn oil at the same time with testosterone. The reference drug Penester („Zentive“) was administered by the same way as T-DD in water-Tween80 suspension at an effective dose of 10 mg/kg for 4 weeks. A morphological study of the prostate gland of rats was carried out using a light microscopic technique. It was found that the administration of T-DD significantly decreases the mass of the prostate gland, and reduces the mitotic activity of epithelial cells and the severity of focal glandular hyperplasia in the gland tissue. The observed effects of T-DD are similar to those of Penester. The data presented indicate the potent prostatic protective effect of T-DD in BPH.

Key words: benign prostatic hyperplasia, testosterone, benzyl thiododecane, morphology, rats.

Актуальность

ДГПЖ является одним из распространенных заболеваний у мужчин, связанных с возрастом [1]. ДГПЖ характеризуется прогрессирующей гиперплазией железистой и стромальной ткани, приводящей к увеличению размера простаты, однако патогенез болезни остается во многом неясным [2]. Важную роль в ее развитии и прогрессировании играют дисбаланс между андрогенами и эстрогенами, а также экспрессия факторов роста [3]. В настоящее время наиболее эффективными средствами лечения ДГПЖ считаются ингибиторы 5- α -редуктазы. К таким антиандрогенным препаратам относятся финастерид (пенестер) и дутастерид, способные значительно уменьшить размер железы у пациентов [3]. Однако эти препараты уменьшают симптомы нижних мочевых путей менее чем на 35–50 %, а также вызывают побочные эффекты, связанные с половой дисфункцией [1, 3]. Для профилактики ДГПЖ и симптоматического лечения на ранних стадиях применяются малотоксичные фитопрепараты, особенно популярные в США и Европейском союзе [4]. Недостаточный ассортимент и низкая эффективность данных средств требуют поиска новых соединений с простатотропной активностью. Таким перспективным агентом можно считать малотоксичный жирорастворимый фенольный антиоксидант (3,5-диметил-4-гидрокси)бензилтиододекан (Т-ДД), полученный в НГПУ [5]. Ранее было показано, что данное соединение обладает высокой антиоксидантной, мембраностабилизирующей, антипролиферативной активностью [5, 6]. В экспериментах на сульпиридной модели ДГПЖ нами был установлен выраженный антипролиферативный эффект этого соединения в железистом эпителии простаты крыс [7].

Цель работы – исследование простатотропной активности Т-ДД на тестостероновой модели ДГПЖ.

Материал и методы

Эксперимент проведен на самцах крыс линии Wistar (24 особи) репродуктивного возраста массой 290–390 г. ДГПЖ вызывали подкожным введением тестостерона пропионата (ОАО «Дальхимфарм», Россия) в дозе 20 мг/кг в течение 4 нед [8]. На фоне тестостерона крысы опытной группы получали Т-ДД в дозе 100 мг/кг в виде масляного раствора внутривентрально. Доза и растворитель были выбраны с учетом ранее полученных данных об активности соединения [6]. Референсный препарат пенестер («Зентива», Чешская Республика) вводился внутрь в воде с Твином-80 в эффективной дозе 10 мг/кг [3, 4]. Контрольные животные получали воду с твином. Через 4 нед животных выводили из эксперимента, на вскрытии извлекали предстательную железу, определяли ее массу, рассчитывали массовый коэффициент, затем фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Полученный биологический материал исследовался методами световой микроскопии. Гистологическое исследование проводилось на нескольких участках вентральной доли предстательной железы, окрашенных гематоксилином-эозином.

Результаты

В результате проведенных исследований установлено, что введение тестостерона пропионата в течение 4 нед привело к достоверному увеличению массовых коэффициентов в 1,8 раза ($p \leq 0,001$) в контроле по сравнению с интактными животными. Введение финастерид и Т-ДД в течение 4 нед на фоне тестостерона достоверно уменьшило этот показатель в 1,4 раза относительно контроля (оба $p \leq 0,05$). Методом световой микроскопии выявлено, что у интактных животных предстательные железы в вентральном отделе были выстланы преимущественно однослойным кубическим или призматическим эпителием, а также многорядным призматическим эпителием. Воспалительных и дегенеративных изменений в ткани предстательной железы не выявлено.

После 4-недельного введения тестостерона пропионата у контрольных животных наблюдалось развитие очаговой железистой гиперплазии предстательной железы. Отмечалось формирование дополнительных очагов пролиферации в виде своеобразных дочерних пролиферативных центров с образованием папиллярных структур в просвете ацинусов. Усиление пролиферативной активности сопровождалось нарушением оттока секрета из ацинусов предстательной железы, что способствовало их кистозному расширению. Железистый эпителий в ацинусах был активно пролиферирующим, высоким призматическим с гиперхромными ядрами, местами многорядным с большим количеством митозов без признаков атипии (рис. 1). Во всех отделах предстательной железы выявлялись умеренно выраженные венозные полнокровие, отек и коллагенизация стромы. Большая часть желез центральной части была выстлана однослойным призматическим эпителием. Наблюдались и кистозно расширенные железы, выстланные кубическим эпителием. Просвет этих желез был заполнен секретом в виде эозинофильной субстанции.

На фоне введения пенестера у крыс наблюдалось снижение выраженности патологического процесса в предстательной железе до умеренной очаговой гиперплазии I–II стадии. Железистый эпителий в ацинусах был призматическим, без выраженных признаков пролиферации и атипии. Визуально уменьшалось количество митозов в эпителиоцитах.

В результате введения Т-ДД отмечалось аналогичное пенестеру улучшение состояния железы и ослабление в ней пролиферативных процессов. У всех животных наблюдали единичные папиллярные разрастания эпителия в железах, строение железистого эпителия приближалось к таковому у интактных животных. Выраженных признаков пролиферации не выявлено (рис. 2).

Выводы

Введение тестостерона пропионата в течение 4 нед приводит к развитию пролиферативного процесса в предстательной железе, соответствующего III–IV стадии ДГПЖ. Введение (3,5-диметил-4-гидрокси)бензилтиододекана, как и пенестера, на фоне тестостерона снижает степень очаговой гиперплазии в предстательной железе до I–II стадии. Таким образом, в условиях данной модели ДГПЖ фенольный антиоксидант не уступает по простатопротекторному действию препарату сравнения пенестеру.

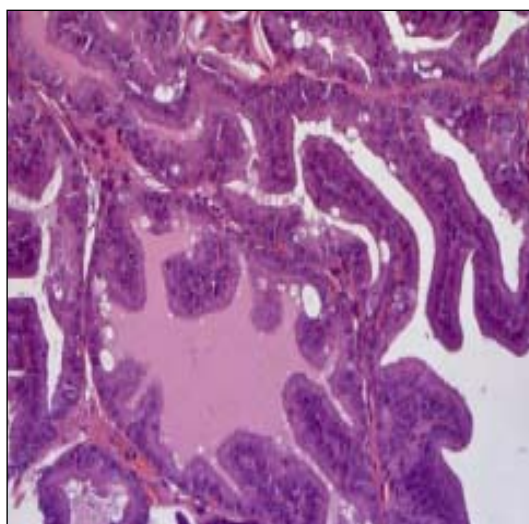


Рис. 1. Простата крысы с доброкачественной гиперплазией на фоне 4-недельного введения тестостерона пропионата. Папиллярная форма гиперплазии центральной части предстательной железы. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

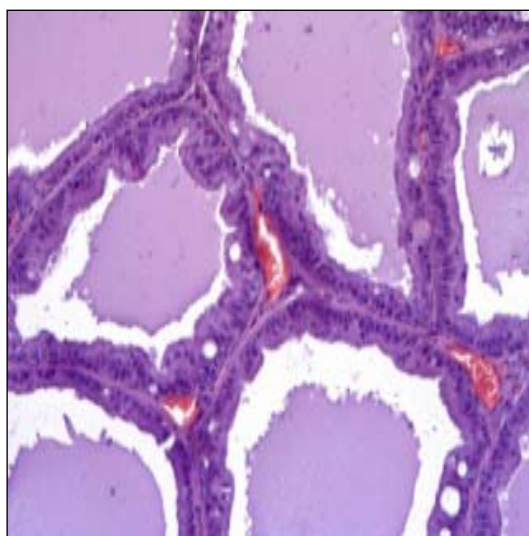


Рис. 2. Простата крысы на фоне введения ДД и тестостерона пропионата. Уменьшение высоты железистого эпителия и митозов в клетках. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

ЛИТЕРАТУРА

1. Пушкарь Д.Ю., Раснер П.И. Урология. Российские клинические рекомендации. Симптомы нижних мочевых путей и доброкачественная гиперплазия предстательной железы. М.: МедФорум, 2018: 13–43.
2. Кудрявцев Ю.В., Сивков А.В. Морфологические изменения в ткани предстательной железы при доброкачественной гиперплазии. Экспериментальная и клиническая урология. 2010; 1: 18–22.
3. Roehrborn C.G. Benign prostatic hyperplasia: etiology, pathophysiology, epidemiology, and natural history. Campbell-Walsh Urology. 10th ed. Philadelphia, PA: Saunders, 2012.
4. Kim J.H., Park K.M., Lee J.A. Herbal medicine for benign prostatic hyperplasia. A protocol for a systematic review of controlled trials. Medicine (Baltimore). 2019 Jan; 98(1): e14023. doi: 10.1097/MD.00000000000014023.
5. Плотников М.Б., Просенко А.Е., Смольякова В.И., Иванов И.С., Чернышева Г.А., Кандалинцева Н.В. Синтез и антиоксидантная активность 3,5-диметил-4-гидроксibenзилтиодоксана. Химико-фармацевтический журнал. 2010; 3(44): 65–67.
6. Просенко А.Е., Гросс М.А., Кандалинцева Н.В., Толстикова Т.Г., Сорокина И.В. Патент RU 2447888. Средство для коррекции цитотоксических эффектов паранеопластических процессов и химиотерапии, обладающее противоопухолевой активностью, бюлл. № 11, опубл. 20.04.2012.
7. Низомов С.А., Сорокина И.В., Жукова Н.А., Толстикова Т.Г., Семенов Д.Е., Просенко А.Е. Морфологическая оценка простаотропного эффекта (3,5-диметил-4-гидроксibenзилтиодоксана у крыс с индуцированной доброкачественной гиперплазией предстательной железы. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2019; 167(6): 772–776.
8. Mahapokai W., van Sluijs F.J., Schalken J.A. Models for studying benign prostatic hyperplasia. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2000 Jul; 3(1): 28–33. doi: 10.1038/sj.pcan.4500391.

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ СИНТЕЗА РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, МЕЧЕННЫХ РАДИОНУКЛИДОМ ФТОР-18

**А.В. Озерская^{1,2}, К.В. Белугин², О.Н. Бадмаев², М.С. Ларькина³,
Е.В. Подрезова¹**

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия¹,
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный Сибирский
научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», г. Красноярск, Россия,
Сибирский медицинский университет, г. Томск, Россия

Аннотация

В настоящее время ведутся интенсивные исследования по созданию новых методик синтеза РФЛП, меченных фтором-18. Целью данной работы является выбор эфиров ω-йодоалкилфатических кислот для возможности использования в синтезе РФЛП. Был разработан простой способ получения ω-йодоалкилфатических карбоновых кислот и сложных эфиров из коммерчески доступных циклических кетонов. На основе этих соединений мы синтезировали ¹⁸F-фторпростетические группы. Автоматический синтез ¹⁸F-фторпростетических групп и ¹⁸F-фторпептидных агентов успешно осуществляется с использованием новых исходных веществ и различных методов очистки с твердофазными картриджами. В дальнейшей работе планируется использовать различные ¹⁸F-фторпростетические группы для синтеза с различными пептидными агентами. Октреотид как аналог соматостатина, каркасные белки неиммуноглобулиновой природы (designed ankyrin repeat proteins) для целенаправленной визуализации опухолевых клеток, гиперэкспрессирующих Her-2/neu, и ингибитор специфического для простаты мембранного антигена являются значимыми пептидными агентами.

Ключевые слова: ПЭТ, радионуклид, фтор-18, РФЛП, автоматизированный синтез.

TO DEVELOP METHODS FOR THE SYNTHESIS OF RADIOPHARMACEUTICALS LABELED WITH FLUORINE-18

A.V. Ozerskaya^{1,2}, K.V. Belugin², O.N. Badmaev², M.S. Larkina³, E.V. Podrezova¹

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia¹,
Federal Siberian Research Clinical Centre under the Federal Medical Biological Agency,
Krasnoyarsk, Russia²,
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia³

Abstract

An intensive research is underway to create new methods for the synthesis of fluorine-18 labeled radiopharmaceuticals. The aim of this work is to select iodoaliphatic carboxylic acids and esters for radiopharmaceuticals labeling. A simple way to obtain α -iodoaliphatic carboxylic acids and complex esters from commercially available cyclic ketones has been developed. Based on these compounds ^{18}F -fluoropropiostatic groups were synthesized. Automatic synthesis of ^{18}F -fluoropropiostatic groups and ^{18}F fluoride peptide agents is successfully carried out using new original materials and various purification methods with solid phase cartridges. In further work, it is planned to use different ^{18}F -fluoropropiostatic groups for synthesis with various peptide agents. Octreotide as an analogue of somatostatin, the non-immunoglobulin-specific frame proteins (designed ankyrin repeat proteins) for targeted imaging of tumor cells hyperexpressing Her-2/neu, and prostate-specific membrane antigen (PSMA) inhibitor are significant peptide agents.

Key words: PET, radionuclide, fluoride-18, RFLP, automated synthesis.

Актуальность

Позитронная эмиссионная томография (ПЭТ) – бурно развивающаяся область современной ядерной медицины, предоставляющая возможность принципиально новой *in-vivo*-диагностики на молекулярном уровне. Диагностическими агентами в ПЭТ являются радиофармацевтические лекарственные препараты (РФЛП) на основе короткоживущих изотопов с позитронным типом распада. Производство РФЛП требует специальных автоматизированных технологий и является крайне дорогостоящим. Возможности метода ПЭТ сильно определяются количеством доступных РФЛП. Непосредственно выбор нужного РФЛП позволяет исследовать благодаря методу ПЭТ такие отличающиеся процессы, как транспорт веществ, метаболизм, экспрессия генов, лиганд-рецепторные взаимодействия и т. д. Большое количество различных классов РФЛП делает ПЭТ достаточно универсальным инструментом нынешней молекулярной биологии и клинической медицины. По этой причине радиохимический синтез новых РФЛП и разработка эффективных методик синтеза уже существующих РФЛП на данный момент стали «лимитирующей стадией» совершенствования метода ПЭТ. Проблема разработки новых РФЛП – нетривиальная задача, требующая совместной работы высококвалифицированных биохимиков, биологов, врачей, химиков-органиков, аналитиков и радиохимиков [1, 2].

Цель работы – выбор эфиров ω -йодоалифатических кислот для возможности использования в синтезе РФЛП.

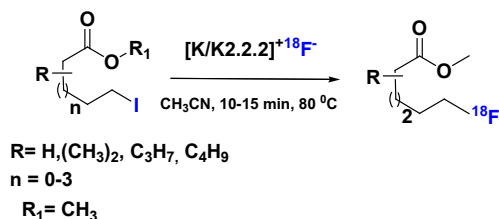
Материал и методы

Для возможности синтеза был разработан простой способ получения ω -йодоалифатических карбоновых кислот и сложных эфиров из коммерчески доступных циклических кетонов. На основе этих соединений синтезировали ^{18}F -фторпростетические группы. Автоматический синтез ^{18}F -фторпростетических групп и ^{18}F -фторпептидных агентов успешно осуществляется с использованием новых исходных веществ и различных методов очистки с твердофазными картриджами [3, 4].

Изготовление РФЛП осуществлялось в радиохимической лаборатории циклотронно-радиохимического комплекса, оснащенной радиозащитными боксами и автоматическими модулями синтеза. Нарботка ультракороткоживущих позитрон-излучающих радионуклидов (УКЖР), предназначенных для синтеза РФЛП, проводилась на циклотроне «Cyclone 18/9 ST» IBA.

На примере ряда эфиров ω -йодоалифатических кислот мы рассмотрели радиофторирование с $[\text{K/K2.2.2}]^{+18}\text{F}^-$ на модуле синтеза Synthra RNPlus, адаптированного под условия синтеза. Условия радиофторирования были смоделированы на примере ряда ω -йодоалифатических эфиров карбоновых кислот в безводном ацетонитриле с последующей очисткой на картридже Sep-Pac C18.

Радиофторирование ω -йодоалифатических эфиров карбоновых кислот проходит по общей схеме реакции:



Результаты

В таблице приведены полученные данные экспериментов.

Выводы

Таким образом, исходя из полученных результатов был выбран Метил 6-йодгексаноат для возможности получения высокоселективных РФЛП на основе пептидов. Наиболее перспективным является создание пептидных препаратов, меток рецепторов, которые позволяют проводить исследования с высокой точностью. Современное развитие ядерной медицины характеризуется прежде всего разработкой уникальных новых радиофармпрепаратов, которые позволяют оценивать состояние различных органов и тканей организма на клеточном уровне.

Таблица

Радиохимический выход и радиохимическая чистота полученных ω - $[^{18}\text{F}]$ -фторалифатических эфиров карбоновых кислот

Исходный субстрат	Продукт	Радиохимический выход (изолированный, с учетом распада), %	Радиохимическая чистота, %
Метил 6-йод- 4,4-диметилгексаноат	Метил 6- $[^{18}\text{F}]$ фтор- 4,4-диметилгексаноат	38,0	98,3
Метил 6-йод- 4-пропилгексаноат	Метил 6- $[^{18}\text{F}]$ фтор- 4-пропилгексаноат	21,5	98,5
Метил 6-йод-4-третбутилгексаноат	Метил 6- $[^{18}\text{F}]$ фтор-4-третбутилгексаноат	20,5	97,8
Метил 5-йодпентаноат	Метил 5- $[^{18}\text{F}]$ фтор- пентаноат	54,1	98,5
Метил 6-йодгексаноат	Метил 6- $[^{18}\text{F}]$ фтор- гексаноат	65,2	98,4
Метил 7-йодгептаноат	Метил 7- $[^{18}\text{F}]$ фтор- гептаноат	19,7	98,7
Метил 8-йодоктаноат	Метил 8- $[^{18}\text{F}]$ фтор- октаноат	18,2	98,3

ЛИТЕРАТУРА

1. Красикова Р.Н. Роботизированный синтез радиофармпрепаратов для позитронной эмиссионной томографии. Радиохимия. 1998; 40: 352–360.
2. Корсаков М.В. Руководство по ПЭТ радиохимии. СПб.: Теза, 2002. 180 с.
3. O'Malley C., Waxman B., Drosten S. Diagnosis imaging: nuclear medicine. Treatment: using radiopharmaceuticals. AMIRSYS. 2007. 860 p.
4. De K., Behera A., Banerjee I., Sarkar B., Ganguly S., Misra M. Radiolabeled novel peptide for imaging somatostatin-receptor expressing tumor: synthesis and radiobiological evaluation. J. Radioanal Nucl Chem. 2014; 301: 847–861.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КУРСОВОГО ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОГО ВВЕДЕНИЯ ПЕГИЛИРОВАННОГО ИНТЕРФЕРОНА- $\lambda 1$ НА АКТИВНОСТЬ ИММУННЫХ КЛЕТОК У МЫШЕЙ

Л.А. Олейник¹, Н.А. Кихтенко²

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, Россия¹,
ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия²

Аннотация

Поиск эффективных противовирусных агентов, обладающих высокой специфической активностью и минимальным количеством побочных эффектов, является актуальной задачей современной медицины. В данной работе рассматривается влияние курсового введения пегилированной формы интерферона- $\lambda 1$ (ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$) на активность различных звеньев фагоцитарной системы. Выявлено, что курсовое

внутрижелудочное введение мышам ПЭГ-ИФН-λ1 достоверно снижает фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов, но увеличивает долю фагоцитирующих нейтрофилов. В дозировках 10 и 100 ТД ПЭГ-ИФН-λ1 снижает спонтанную и стимулированную КонА и ЛПС пролиферативную активность лимфоцитов, но не влияет на пролиферативную активность перитонеальных макрофагов. Применение ПЭГ-ИФН-λ1 в различных дозировках (1, 10 и 100 ТД) приводит к достоверному повышению продукции оксида азота перитонеальными макрофагами и повышению активности аргиназы.

Ключевые слова: интерферон, пегилирование, фагоцитарная активность, пролиферативная активность.

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF COURSE INTRAGASTRIC ADMINISTRATION OF PEGYLATED INTERFERON-λ1 ON THE ACTIVITY OF IMMUNE CELLS IN MICE

L.A. Oleynik¹, N.A. Kikhtenko²

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of IC&G SB RAS,
Novosibirsk, Russia¹,
Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia²

Abstract

The search for effective antiviral agents with high specific activity and a minimal amount of side effects is an urgent task of modern medicine. In this paper, we consider the effect of the course administration of the pegylated form of interferon λ1 (PEG-IFN-λ1) on the activity of various parts of the phagocytic system. It was revealed that the course intragastric administration of PEG-IFN-λ1 significantly reduces the phagocytic activity of peritoneal macrophages, but increases the proportion of phagocytic neutrophils in mice. At dosages of 10 TD and 100 TD, PEG-IFN-λ1 reduces the spontaneous and stimulated ConA and LPS proliferative activity of lymphocytes, but does not affect the proliferative activity of peritoneal macrophages. The use of PEG-IFN-λ1 in various dosages (1 TD, 10 TD and 100 TD) leads to a significant increase in the production of nitric oxide by peritoneal macrophages and an increase in arginase activity.

Key words: interferon, pegylation, phagocytic activity, proliferative activity.

Актуальность

Изучение свойств интерферонов вызывает большой интерес, поскольку именно у них впервые была обнаружена противовирусная активность. Наиболее изученными являются интерфероны 1-й группы, однако в качестве лекарственных препаратов они имеют ряд ограничений к использованию из-за большого количества побочных эффектов. Большой интерес вызывают открытые не так давно и пока менее изученные интерфероны 3-й группы, в частности интерферон-λ1 (ИФН-λ1). ИФН-λ1 проявляет значительное сходство с антивирусной активностью интерферона-альфа, однако проявляет существенные отличия индукции, продукции и биологического воздействия, коррелирующие с ограниченным распределением его рецептора. Ограниченный ткане- и органоспецифичный профиль экспрессии рецептора ИФН-λ1 в клетках организма создает предпосылки уменьшения или элиминации побочных эффектов, характерных для интерферона-альфа [1–3].

Еще одним путем для уменьшения побочных эффектов лекарственных препаратов является модификация химической структуры препарата. Пегилирование, т.е. присоединение к молекуле цепей полиэтиленгликоля (ПЭГ), может уменьшать кратность введения препарата, снижать иммуногенность и скорость элиминации, однако также может изменять и фармакологические свойства препарата [4, 5]. Именно поэтому изучение свойств пегилированных молекул является обязательным даже для молекул с хорошо исследованными биологическими свойствами.

Цель исследования – изучить влияние пегилированного интерферона-λ1 (ПЭГ-ИФН-λ1) на активность иммунных клеток экспериментальных животных.

Задачи исследования – изучить влияние ПЭГ-ИФН-λ1 на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов и нейтрофилов; пролиферативную активность лимфоцитов и перитонеальных макрофагов; функциональное состояние перитонеальных макрофагов.

Материал и методы

Для исследования активности иммунных клеток использовались мыши линии СВА 6–8-недельного возраста массой тела 18–22 г, полученные из отдела экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга. Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986). Каждая опытная и контрольная группа состояла из 10 особей.

Согласно рекомендациям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [6] при изучении иммуностропной активности лекарственного средства способ введения препарата, как правило, должен соответствовать рекомендуемому способу применения в клинике, поэтому мышам препарат ПЭГ-ИФН- λ 1 после разведения вводили внутривенно курсом в течение 5 сут в 1 ТД (2,6 мкг/кг), 10 ТД (26 мкг/кг) и 100 ТД (260 мкг/кг) в объеме 0,2 мл фосфатно-солевого буфера (ФСБ). Контрольные животные получали в эквивалентном объеме ФСБ.

Результаты экспериментов обрабатывались методами вариационной статистики: вычисляли среднее значение выборки $\bar{X}$ и стандартную ошибку средней m . Допустимым уровнем значимости принималось $p < 0,05$.

Фагоцитарная активность перитонеальных макрофагов и нейтрофилов, пролиферативная активность лимфоцитов и перитонеальных макрофагов, а также функциональное состояние перитонеальных макрофагов оценивались после курсового введения мышам ПЭГ-ИФН- λ 1 в дозах 2,6 мкг/кг (1 ТД), 26 мкг/кг (10 ТД) и 260 мкг/кг (100 ТД) внутривенно в течение 5 дней.

Для оценки фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов и нейтрофилов определяли фагоцитарный индекс (ФИ, доля активно фагоцитирующих клеток, выраженная в %) и фагоцитарное число (ФЧ, среднее количество бактерий, поглощенных одной клеткой).

Для оценки пролиферативной активности спленоцитов и перитонеальных макрофагов определяли спонтанную пролиферацию и пролиферацию, стимулированную конкавалином^оА (КонА) или липополисахаридом (ЛПС).

Функциональное состояние макрофагов оценивали по метаболизму ими аргинина (продукция оксида азота и активность аргиназы). В качестве контроля был использован стандартный активатор макрофагов – липополисахарид *E. coli*.

Результаты

Результаты исследования влияния курсового введения ПЭГ-ИФН- λ 1 на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов и нейтрофилов представлены в табл. 1. Достоверные отличия от контрольной группы были наиболее выражены для ПЭГ-ИФН- λ 1 в 1 ТД: ФИ и ФЧ перитонеальных макрофагов и ФЧ нейтрофилов достоверно снижались. Необходимо отметить, что при этом ФИ и ФЧ макрофагов в контрольной группе достоверно отличались от фоновых значений. Влияние дозировок ПЭГ-ИФН- λ 1 в 10 и 100 ТД было более неоднозначным: достоверное изменение по сравнению с контролем наблюдалось только для ФЧ макрофагов и ФИ нейтрофилов, ФИ макрофагов статистически значимо уменьшалась лишь относительно исходного уровня, ФЧ нейтрофилов не изменялось.

Результаты исследования влияния курсового введения ПЭГ-ИФН- λ 1 на пролиферативную активность спленоцитов и перитонеальных макрофагов представлены в табл. 2. Применение ПЭГ-ИФН- λ 1 не влияло на спонтанную пролиферацию макрофагов ни в одной из дозировок, а на спонтанную пролиферацию спленоцитов – только в дозировке 10 ТД. На стимулированную пролиферацию спленоцитов и макрофагов наиболее выраженное влияние ПЭГ-ИФН- λ 1 оказывал в дозировке 10 ТД.

Результаты исследования влияния курсового введения ПЭГ-ИФН- λ 1 на функциональное состояние макрофагов представлены в табл. 3. В контрольной группе мышей, получавших растворитель, наблюдалось достоверное снижение всех показателей по сравнению с исходным уровнем. При этом статистически значимые изменения в сравнении с контрольной группой отмечены для продукции оксида азота перитонеальными макрофагами в присутствии ЛПС и активности аргиназы без добавления митогена и после стимуляции ЛПС.

Выводы

В результате проведенных исследований установлено, что курсовое применение лекарственного средства на основе ПЭГ-ИФН- λ 1 в различных дозах (2,6; 26 и 260 мкг/кг) снижает фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов экспериментальных животных, а использование высоких доз исследуемого препарата повышает относительное число фагоцитирующих перитонеальных нейтрофилов. Курсовое введение лекарственного

средства на основе ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$ в 1 ТД не влияет на пролиферативную активность лимфоидных клеток, а при использовании 10 и 100 ТД препарат проявляет антипролиферативные свойства. Курсовое введение лекарственного средства на ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$ в различных дозах повышает продукцию оксида азота макрофагами в присутствии ЛПС, активность аргиназы без добавления митогена и после стимуляции ЛПС, однако все изученные показатели после применения ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$ были снижены относительно исходного уровня.

Таблица 1

Оценка влияния курсового введения ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$ в дозировке 1, 10 и 100 ТД на фагоцитарную активность (фагоцитарный индекс и фагоцитарное число) перитонеальных макрофагов и перитонеальных нейтрофилов мышей линии СВА ($X \pm m$)

Группа животных	Кол-во животных в группе	Получаемый препарат		Исследуемый показатель			
		Название	Доза ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$, мг/кг	Макрофаги		Нейтрофилы	
				ФИ, %	ФЧ	ФИ, %	ФЧ
Фон	10	–	0	21,10 $\pm$ 0,53	1,10 $\pm$ 0,02	16,90 $\pm$ 0,55	1,19 $\pm$ 0,02
Контроль	10	ФСБ	0	15,80 $\pm$ 0,25*	1,34 $\pm$ 0,02*	16,10 $\pm$ 0,38	1,23 $\pm$ 0,02
1 ТД	10	ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$	2,6	14,80 $\pm$ 0,25*#	1,13 $\pm$ 0,02#	16,90 $\pm$ 0,31	1,18 $\pm$ 0,01#
10 ТД	10		26,0	16,20 $\pm$ 0,33*	1,09 $\pm$ 0,01#	19,10 $\pm$ 0,23*#	1,19 $\pm$ 0,02
100 ТД	10		260,0	15,50 $\pm$ 0,27*	1,13 $\pm$ 0,03#	17,70 $\pm$ 0,21#	1,19 $\pm$ 0,02

Примечание. Здесь и далее * – различия между опытными и контрольной группами и фоном достоверны ($p < 0,05$), # – различия между контрольной и опытными группами достоверны ($p < 0,05$).

Таблица 2

Оценка влияния курсового введения ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$ в дозировке 1, 10 и 100 ТД на пролиферативную активность спленоцитов и перитонеальных макрофагов мышей линии СВА ($X \pm m$)

Группа	Кол-во животных в группе	Получаемый препарат		Пролиферация (единицы оптической плотности)				
		Название	Доза ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$, мг/кг	Спленоциты			Макрофаги	
				Спленоциты +среда	Спленоциты +КонА	Спленоциты +ЛПС	Макрофаги +среда	Макрофаги +ЛПС
Фон	10	–	0	0,172 $\pm$ 0,004	0,243 $\pm$ 0,005	0,183 $\pm$ 0,005	0,367 $\pm$ 0,007	0,271 $\pm$ 0,018
Контроль	10	ФСБ	0	0,157 $\pm$ 0,006	0,229 $\pm$ 0,007	0,166 $\pm$ 0,003*	0,377 $\pm$ 0,007	0,246 $\pm$ 0,005
1 ТД	10	ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$	2,6	0,153 $\pm$ 0,006*	0,232 $\pm$ 0,005	0,240 $\pm$ 0,070	0,363 $\pm$ 0,007	0,274 $\pm$ 0,004#
10 ТД	10		26,0	0,137 $\pm$ 0,004*#	0,152 $\pm$ 0,006*#	0,153 $\pm$ 0,006*	0,385 $\pm$ 0,008	0,281 $\pm$ 0,005#
100 ТД	10		260,0	0,164 $\pm$ 0,004	0,188 $\pm$ 0,004*#	0,146 $\pm$ 0,005*#	0,364 $\pm$ 0,011	0,262 $\pm$ 0,008

Таблица 3

Оценка влияния курсового введения ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$ в дозировке 1, 10 и 100 ТД на метаболизм аргинина перитонеальными макрофагами мышей линии СВА ($X \pm m$)

Группа	Кол-во животных в группе	Получаемый препарат		Концентрация нитритов, мкМ		Активность аргиназы, ЕА	
		Название	Доза ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$, мг/кг	Макрофаги +среда	Макрофаги +ЛПС	Макрофаги +среда	Макрофаги +ЛПС
Фон	10	–	0	1,50 $\pm$ 0,09	23,55 $\pm$ 0,19	25,57 $\pm$ 1,73	9,93 $\pm$ 0,54
Контроль	10	ФСБ	0	1,20 $\pm$ 0,08*	11,07 $\pm$ 0,31*	13,94 $\pm$ 1,19*	2,23 $\pm$ 0,15*
1 ТД	10	ПЭГ-ИФН- $\lambda 1$	2,6	1,38 $\pm$ 0,27	21,59 $\pm$ 0,37*#	17,35 $\pm$ 0,29*#	5,58 $\pm$ 0,41*#
10 ТД	10		26,0	1,05 $\pm$ 0,08*	24,91 $\pm$ 0,63#	20,66 $\pm$ 0,85*#	5,40 $\pm$ 0,40*#
100 ТД	10		260,0	1,03 $\pm$ 0,06*	28,33 $\pm$ 0,55*#	17,53 $\pm$ 1,00*#	6,73 $\pm$ 0,37*#

ЛИТЕРАТУРА

1. Lazear H.M., Schoggins J.W., Diamond M.S. Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons. *Immunity*. 2019; 50(4): 907–923.
2. O'Brien T.R., Young H.A., Donnelly R.P., Prokunina-Olsson L. Meeting Overview: Interferon Lambda-Disease Impact and Therapeutic Potential. *J. Interferon Cytokine Res.* 2019; 39(10): 586–591.
3. Кухтенко Н.А., Мадонов П.Г. Интерфероны и глазные болезни. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019; 39(3): 117–125.
4. Дыгай А.М., Артамонов А.В., Бекарев А.А., Жданов В.В., Зюзьков Г.Н., Мадонов П.Г., Удот В.В. Нанотехнологии в фармакологии. М., 2011. 136 с.
5. Nelson M., Rubio R., Lazzarin A., Romanova S., Luetkemeyer A., Conway B., Molina J.M., Xu D., Srinivasan S., Portsmouth S. Safety and Efficacy of Pegylated Interferon Lambda, Ribavirin, and Daclatasvir in HCV and HIV-Coinfected Patients. *J Interferon Cytokine Res.* 2017; 37(3): 103111.
6. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2013. 944 с.

СОСТОЯНИЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ КОРРЕКЦИИ АЛЛОКСАН-ИНДУЦИРОВАННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА КЛЕТКАМИ КОСТНОГО МОЗГА

А.В. Прокопова^{1,2}, А.А. Гостюхина¹

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», г. Северск, Россия¹,
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Россия²

Аннотация

Сахарный диабет является социально значимым заболеванием, распространяющимся каждый год. Данное заболевание приводит к ранней инвалидизации, ухудшая качество жизни людей. В данном эксперименте проведена оценка морфологического и функционального состояния поджелудочной железы крыс при аллоксановом диабете и его коррекции клетками костного мозга. Исследование проводили на 34 половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Животных разделяли на 3 группы: интактная (без воздействия), контрольная (моделировали диабет и внутрибрюшинно вводили культуральную среду DMEM F12 («ПанЭко», Россия) на 3, 7 и 14-е сут), опытная (моделировали диабет и внутрибрюшинно вводили суспензию клеток костного мозга на 3, 7 и 14-е сут). Диабет моделировали однократным введением раствора моногидрата аллоксана в дозе 17 мг на 100 г массы тела животного. Коррекцию данной патологии проводили с помощью введения суспензии аутологических клеток костного мозга, которые выделяли из бедренной кости животных в количестве 1×10^6 , объем растворов – 2,5 мл. Содержание инсулина в сыворотке крови определяли с помощью твердофазного иммуноферментного «сэндвич»-метода (ELISA). Процедуру выполнения иммуноферментного анализа проводили по инструкциям, предлагаемым производителями тест-систем (ALPCO, Соединенные Штаты). Показано, что уровень инсулина в сыворотке крови крыс при моделировании аллоксанового диабета статистически значимо уменьшился по отношению к животным без воздействия. При коррекции данной патологии уровень исследуемого гормона увеличился относительно контрольных животных. В поджелудочной железе выявлены деструктивные процессы после моделирования экспериментального диабета у крыс, однако при коррекции данной патологии клетками костного мозга морфологических изменений в железе обнаружено не было, что говорит о ее восстановлении.

Ключевые слова: диабет I типа, клеточные технологии, сахарный диабет, гистологический анализ, морфология.

PANCREATIC CONDITION IN THE CORRECTION OF ALLOXAN-INDUCED DIABETES MELLITUS BY BONE MARROW CELLS

A.V. Prokopova^{1,2}, A.A. Gostyukhina¹

Federal state budgetary institution «Siberian Federal Scientific and Clinical center of the Federal Medical and Biological Agency», Tomsk, Russia¹,

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «National research Tomsk state university», Tomsk, Russia²

Abstract

Diabetes is a socially significant disease that spreads every year. This disease leads to early disability, worsening the quality of life of people. In this experiment, the morphological and functional state of rat pancreas was assessed in case of alloxan diabetes and its correction by bone marrow cells. The study was conducted on 34 sexually mature rats of the male Wistar strain. Animals were divided into 3 groups: intact (no effect), control (diabetes was simulated, and DMEM F12 culture medium was intraperitoneally administered (PanEco, Russia) on days 3, 7, and 14), and experimental (diabetes was simulated and a suspension of bone marrow cells was intraperitoneally administered on the 3rd, 7th and 14th day). Diabetes was modeled by a single injection of a solution of alloxan monohydrate at a dose of 17 mg per 100 g of animal weight. Correction of this pathology was carried out by introducing a suspension of autologous bone marrow cells, which were isolated from the femur of animals in the amount of 1×10^6 , the volume of solutions was 2.5 ml. The serum insulin content was determined using the enzyme-linked immunosorbent sandwich method (ELISA). The enzyme-linked immunosorbent assay was performed according to the instructions provided by the manufacturers of test systems (ALPCO, United States). It was shown that the level of insulin in the blood serum of rats when modeling alloxan diabetes was statistically significantly decreased, in relation to animals without exposure. With the correction of this pathology, the level of the studied hormone increased, relative to control animals. Destructive processes were revealed in the pancreas after modeling experimental diabetes in rats; however, no morphological changes were detected in the gland during correction of this pathology by bone marrow cells, which indicates its recovery.

Key words: type I diabetes, cell technology, diabetes mellitus, histological analysis, morphology.

Актуальность

По данным ВОЗ, на сегодняшний день в мире насчитывается 422 млн больных диабетом, а к 2030 г. диабет станет 7-й причиной смерти во всем мире. Диабет I типа – аутоиммунное заболевание, приводящее к деструкции инсулинпродуцирующих бета-клеток островков поджелудочной железы, нарушается эндокринная и экзокринная деятельность железы. Из-за нарушения регулирующей функции поджелудочной железы у больных диабетом первого типа наблюдается дисбаланс уровня глюкозы в крови, нарушаются метаболические функции организма. Целью работы являлось оценить морфологическое и функциональное состояние поджелудочной железы лабораторных крыс при моделировании аллоксан-индуцированного сахарного диабета и его коррекции клетками костного мозга.

Материал и методы

Экспериментальное исследование проведено на 34 половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 200–300 г. Все процедуры с животными выполняли в соответствии с международными правилами и нормами [1]. Животных разделяли на 3 группы: интактная (без воздействия), контрольная (с моделью сахарного диабета и введением культуральной среды) и опытная (с моделью сахарного диабета и его коррекцией клетками костного мозга). Моделирование сахарного диабета I типа у крыс проводили с помощью однократного внутривентрального введения моногидрата аллоксана (Sigma, США) из расчета 17 мг на 100 г массы тела животного. Выделение и культивирование клеток костного мозга производили по стандартной методике [2]. Суспензию клеток в количестве 1×10^6 животным вводили внутривентрально на 3, 7 и 14-е сут. После эксперимента животных выводили из эксперимента одномоментным декапитированием под CO_2 -наркозом. Кровь собирали в пробирки для дальнейшего получения сыворотки и ее анализа. Содержание исследуемого гормона в сыворотке крови определяли с помощью твердофазного иммуноферментного «сэндвич»-метода (ELISA). Процедуру выполнения иммуноферментного анализа проводили по инструкциям, предлагаемым производителями тест-систем (ALPCO, Соединенные Штаты). Приготовление гистологических препаратов осуществляли по стандартной методике [3]. Анализ гистологических препаратов проводили

на микроскопе Axioskop 40 (CarlZeiss, Германия). Микрофотографии гистологических препаратов получали с помощью фотокамеры Canon G10 (Япония). Всего было изготовлено и проанализировано 102 гистологических препарата. Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft, США). При обработке результатов установлено, что исследуемые признаки не подчиняются закону нормального распределения, поэтому результаты представлены в виде $M \pm m$.

Результаты

В результате проведенного исследования показано, что у контрольных животных уровень инсулина статистически значимо уменьшился по отношению к интактной группе (таблица).

При коррекции аллоксан-индуцированного сахарного диабета клетками костного мозга зафиксирован аналогичный уровень изучаемого гормона, как у интактных животных (см. таблицу). По литературным данным известно, что аллоксан вызывает избирательное повреждение проницаемости плазмолеммы β -клеток поджелудочной железы, которые вырабатывают инсулин, вследствие его реакции с дитиоловыми группами, необходимыми для поддержания целостности мембран. Известно, что β -клетки разрушаются от действия аллоксана, инсулин не вырабатывается и вызывается сахарный диабет. Этим объясняется резкое повышение глюкозы в крови крыс на все исследуемые сутки эксперимента и уменьшение уровня инсулина [4]. Для уточнения состояния поджелудочной железы при аллоксановом диабете и его коррекции клетками костного мозга проводили гистологический анализ. Данный анализ показал, что поджелудочная железа интактных крыс не имела отклонений от нормы (рис. 1).

В поджелудочной железе контрольных крыс было выявлено следующее: лимфоцитарная инфильтрация, гиперемия капилляров островка и междольковых сосудов (рис. 2). Полученные данные свидетельствуют о наличии деструктивных процессов в железе, которые связаны с разрушением островковых клеток, что подтверждается уменьшением уровня инсулина в сыворотке крови.

У крыс опытной группы в анализируемом органе морфологических изменений обнаружено не было. Количество островков Лангерганса на единицу площади среза значительно больше, чем у крыс контрольной группы (рис. 3).

Таким образом, гистологический и иммуноферментный анализ подтвердил повреждающий эффект модели аллоксанового диабета. Введение клеток костного мозга способствовало регенерации островковых клеток и восстановлению ткани поджелудочной железы, нормализации синтеза инсулина β -клетками поджелудочной железы.

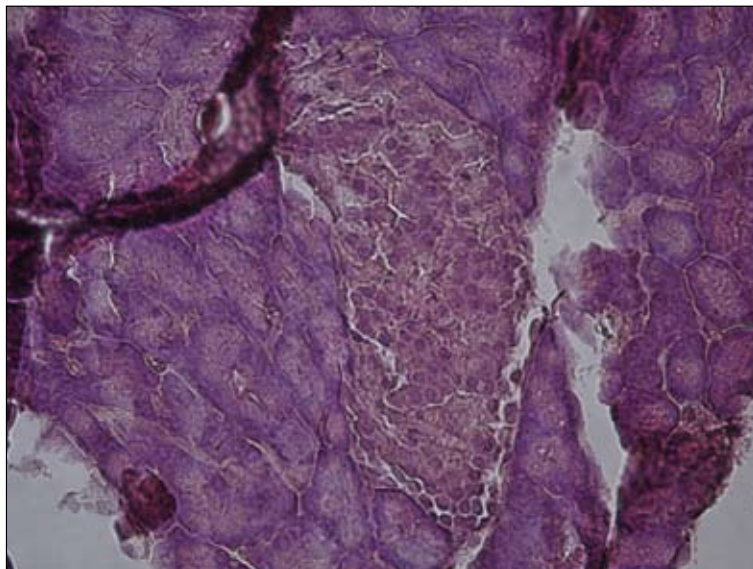


Рис. 1. Поджелудочная железа крысы интактной группы животных на 30-е сут после инъекции аллоксана. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 400$

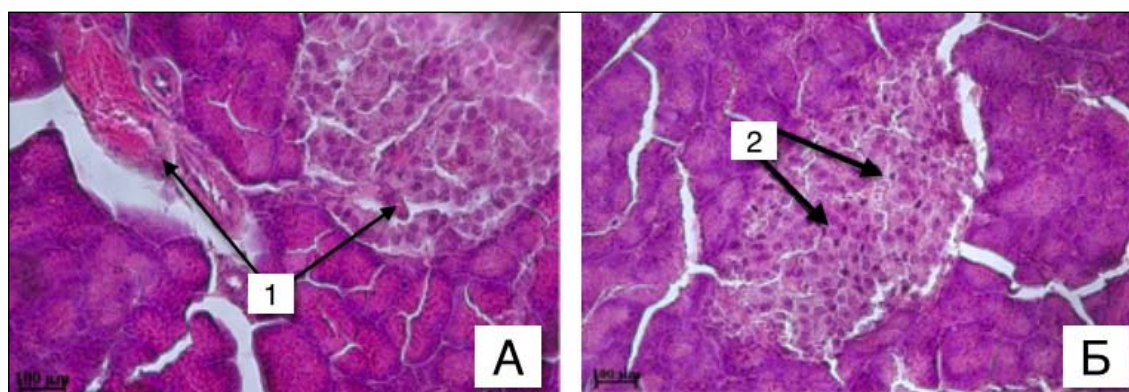


Рис. 2. Поджелудочная железа крысы контрольной группы животных на 30-е сут после инъекции аллоксана. А, Б – островок Лангерганса; гиперемия капилляров и междольковых сосудов (1), лимфоцитарная инфильтрация (2). Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 400$

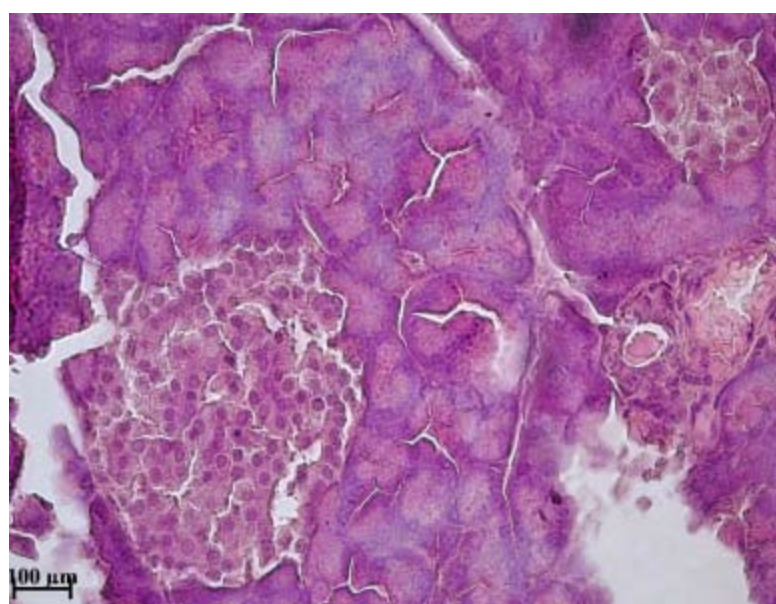


Рис. 3. Поджелудочная железа крысы опытной группы животных на 30-е сут после инъекции аллоксана. Островки Лангерганса. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 400$

Таблица

Уровень инсулина в сыворотке крови у крыс при аллоксановом диабете и его коррекции клетками костного мозга

Группы животных	Уровень инсулина, нг/мл
Интактная	$0,83 \pm 0,08$
Контрольная	$0,48 \pm 0,01$ $p < 0,05$
Опытная	$1 \pm 0,13$ $p_1 < 0,05$

Примечание. Полученные результаты представлены в виде средней ($X+m$); p – уровень статистической значимости по отношению к интактной группе; p_1 – уровень статистической значимости по отношению к контрольной группе.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р-53434–2009. Принципы надлежащей лабораторной практики. М.: Стандартинформ, 2010. 16 с.
2. Шаманска Т.В., Осипова Е.Ю., Румянцев С.А. Технологии культивирования мезенхимальных стволовых клеток *ex vivo* для клинического использования. Онкогематология. 2009; 3: 69–76.
3. Можейко Л.А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета. Ч. I: Аллоксановый диабет. Журнал Гродненского медицинского университета. 2013; 3: 26–29.
4. Exbrayat J.M. Classical methods of visualization. Histochemical and cytochemical methods of visualization. CRC Press Taylor and Francis Group, 2013; 3–58.

КОРРЕКЦИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЦИКЛОФОСФАНА НА ПЕРИФЕРИЧЕСКУЮ КРОВЬ МЫШЕЙ С КАРЦИНОМой ЛЁГКИХ ЛЬЮИС ВЫСОКОНАСЫЩЕННЫМИ ЭКСТРАКТАМИ *SORBUS AUCUPARIA L.*

А.В. Ульрих, О.Ю. Рыбалкина

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 высоконасыщенных антоцианами экстрактов из плодов, листьев и цветков рябины обыкновенной на показатели периферической крови у мышей с карциномой лёгких Льюис на фоне введения циклофосфана. Показано защитное действие на гемопоэз экстрактов *Sorbus aucuparia L.*

Ключевые слова: карцинома лёгких Льюис, экстракты *Sorbus aucuparia L.*, антоцианы, периферическая кровь.

REDUCTION OF TOXIC ACTION PRESENTS CYCLOPHOSPHAMIDE BY PERIPHERAL BLOOD MICE WITH LEWIS LUNG CARCINOMA EXTRACTS HIGHLY SATURATED WITH ANTOCYANS *SORBUS AUCUPARIA L.*

A.V. Ulrich, O.Yu. Rybalkina

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research
Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The article studies *Sorbus aucuparia L.* extracts, originally highly-saturated by anthocyanins their influence by peripheral blood at mice with lung Lewis carcinoma with cyclophosphamid treatment. It was shown the defensive action upon haemotopoiesis of extracts *Sorbus aucuparia L.*

Key words: Lewis lung carcinoma, Extracts *Sorbus aucuparia L.*, anthocyanins, peripheral blood.

Актуальность

Химиотерапия является одним из основных методов лечения опухолевой патологии, однако токсическое влияние цитостатиков на активно пролиферирующие клетки организма ограничивает их применение, снижая эффективность либо приводя к отмене лечения. Отсутствие избирательности действия у противоопухолевых препаратов приводит к развитию комплекса нарушений: токсической аплазии кроветворения, вторичному иммунодефициту, снижению детоксицирующей функции печени и т. д. [1], что в ряде случаев требует медикаментозного лечения, отсрочки и даже прекращения химиотерапии. Поэтому является актуальной разработка новых средств, способных снижать токсичность цитостатиков. В этой связи лекарственные средства, полученные на основе растительного сырья, могут представлять большой практический интерес. Особую роль в терапии опухолей растительными биологически активными комплексами играют фенольные соединения, в частности, антоцианы, которые оказывают антипролиферативный и цитотоксический эффекты, а также проявляют проапоптотическую активность по отношению к опухолевым клеткам. Одним из перспективных источников антоцианов является растение семейства розоцветных (*Rosaceae*) рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia L.*). Представляет интерес исследование фармакологической активности биологически активных фенольных соединений различных частей рябины обыкновенной, в частности, цветков, листьев и плодов.

Цель исследования – изучить влияние антоциансодержащих экстрактов из *Sorbus aucuparia* L. на показатели периферической крови мышей с карциномой лёгких Льюис на фоне введения циклофосфана.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на мышах-самках линии C57BL/6 массой 19–20 г 1-й категории разведения лаборатории экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ (сертификат качества № 188-05). Животных содержали в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [2]. Исследование проведено по требованиям лабораторной практики (GLP), приказа МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики», Федерального закона «О лекарственных средствах» (ст. 36), «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ». Дизайн экспериментов одобрен Этическим комитетом НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга.

Экстракты плодов, листьев и цветков рябины обыкновенной получены по оригинальной технологии на кафедре фармакогнозии с курсами ботаники (зав. кафедрой проф. Г.И. Калинин) СибГМУ [3].

Мышам с перевитой по 5×10^6 клеток в 0,1 мл физиологического раствора карциномой лёгких Льюис [4] вводили деалкоголизированные на водяной бане экстракты внутрижелудочно в дозах 1 и 5 мл/кг ежедневно с 7-х сут после перевивки опухоли в течение 9–11 сут. В экспериментах применяли алкилирующий цитостатический препарат циклофосфан (ЦФ) производства ОАО «Биохимик», Россия, который вводили животным однократно внутрибрюшинно в дозе 125 мг/кг (на 11-е сут).

По окончании экспериментов мышей умерщвляли дислокацией шейного отдела позвоночника, соблюдая «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденные Министерством здравоохранения РФ.

Показатели периферической крови определяли на 3-и сут после введения циклофосфана на гематологическом анализаторе «Muchic 18 vet» (Cormay, Франция).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью критерия Вилкоксона–Манна–Уитни [5].

Результаты

В экспериментах на мышах с карциномой лёгких Льюис выявлено, что на 3-и сут после однократного введения животным циклофосфана в дозе 125 мг/кг отмечено его токсическое действие на клетки белой крови: достоверно уменьшилось общее количество лейкоцитов относительно контрольного уровня за счет снижения числа нейтрофильных гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов (таблица). В эксперименте с использованием экстракта цветков рябины обыкновенной применение циклофосфана привело также к уменьшению числа эритроцитов, количества гемоглобина и гематокрита (см. таблицу). В то же время у животных, получавших совместно с циклофосфаном экстракт плодов и экстракт цветков рябины обыкновенной в дозе 5 мл/кг, на этот срок наблюдения в 1,3 раза выше ($p < 0,05$) оказалось количество тромбоцитов, остальные показатели периферической крови достоверно не различались с таковыми у мышей группы монокимиотерапии (см. таблицу).

У животных, получавших совместно с циклофосфаном экстракт листьев рябины обыкновенной в обеих изучаемых дозах, показатели периферической крови достоверно не отличались от показателей у мышей группы монокимиотерапии (см. таблицу).

Следует отметить, что у мышей, которым вводили изолированно экстракт плодов рябины обыкновенной в дозе 1 мл/кг, выше в 1,2 раза ($p < 0,05$) оказался уровень гемоглобина в периферической крови, а в случае использования в дозе 5 мл/кг достоверно повышенными оказались такие показатели, как количество моноцитов, тромбоцитов, эритроцитов, гематокрит и уровень гемоглобина (в 1,7; 1,5; 1,2; 1,2 и 1,3 раза соответственно) по сравнению с данными контроля (см. таблицу).

В случае изолированного назначения экстракта листьев рябины обыкновенной данные периферической крови не отличались от таковых у животных контроля, лишь при использовании экстракта в дозе 1 мл/кг отмечено уменьшение выраженности лейкоцитоза, наблюдаемого при развитии опухолевого процесса: общее количество лейкоцитов в периферической крови этих животных уменьшилось в 1,5 раза (см. таблицу).

Следует отметить, что у мышей, которым вводили изолированно экстракт цветков рябины обыкновенной в дозе 1 мл/кг, выше в 1,7 раза ($p < 0,01$) оказалось количество лейкоцитов за счёт гранулоцитов и лимфоцитов (в 1,3 и 2,9 раза соответственно) по сравнению с данными

контроля (см. таблицу). В случае совместного использования экстракта цветков с цитостатиком выявлено достоверно большее количество эритроцитов относительно этого показателя у животных группы монокимиотерапии (см. таблицу).

Выводы

1. Количество тромбоцитов у мышей, леченных экстрактом плодов рябины в дозе 5 мл/кг совместно с цитостатиком, достоверно выше этого показателя у животных группы монокимиотерапии. Изолированное назначение мышам экстракта плодов рябины обыкновенной в дозе 1 мл/кг приводит к увеличению уровня гемоглобина в периферической крови, в случае использования экстракта в дозе 5 мл/кг – к повышению числа моноцитов, тромбоцитов, эритроцитов, гематокрита и уровня гемоглобина относительно контроля.

2. Под влиянием экстракта листьев рябины обыкновенной в периферической крови мышей с карциномой лёгких Льюис снижается выраженность лейкоцитоза.

3. При назначении мышам с опухолью экстракта цветков рябины увеличивается количество лейкоцитов за счёт гранулоцитов и лимфоцитов; при совместном применении с циклофосфаном повышается количество эритроцитов.

Таблица

Показатели периферической крови у мышей с карциномой лёгких Льюис, получавших экстракты рябины обыкновенной на фоне терапии циклофосфаном

Группа наблюдения х доза препарата (количество мышей)	ОКЛ, Г/л	Гранулоциты, Г/л	Лимфоциты, Г/л	Моноциты, Г/л	Тромбоциты, 10 ⁹ /л	Эритроциты, 10 ¹² /л	Гематокрит, %	Гемоглобин, г/л
Экстракт плодов								
1. Контроль (8)	11,41±0,89	1,99±0,23	8,69±0,73	0,75±0,04	539,63±60,90	7,77±0,47	26,06±1,51	12,20±0,72
2. ЦФ 125 мг/кг (8)	3,01±0,69 1-2p<0,01	0,43±0,10 1-2p<0,01	2,44±0,56 1-2p<0,01	0,15±0,05 1-2p<0,01	623,50±86,22	7,32±0,75	23,30±2,12	11,73±1,11
3. Экстракт плодов 1 мл/кг (6)	12,03±1,54	1,98±0,15	9,30±1,42	0,77±0,03	729,33±74,85	9,08±0,22	30,05±0,79	14,33±0,38 1-3p<0,05
4. ЦФ + экстракт плодов 1 мл/кг (6)	2,32±0,74	0,32±0,11	1,87±0,59	0,12±0,05	576,50±98,17	7,32±0,54	24,17±1,72	11,98±0,87
5. Экстракт плодов 5 мл/кг (6)	16,03±1,89	2,47±0,30	12,25±1,63	1,30±0,15 1-5p<0,01	793,17±27,65 1-5p<0,01	9,49±0,33 1-5p<0,01	31,93±1,14 1-5p<0,01	15,25±0,56 1-5p<0,01
6. ЦФ + экстракт плодов 5 мл/кг (6)	1,77±0,65	0,37±0,19	1,12±0,50	0,08±0,05	787,00±114,73 2-6p<0,05	8,63±0,73	27,07±2,30	13,58±1,11
Экстракт листьев								
1. Контроль (6)	17,42±2,18	3,44±0,35	12,98±1,74	1,00±0,17	334,00±20,17	7,18±0,62	30,07±2,11	12,63±0,95
2. ЦФ 125 мг/кг (6)	5,47±1,19 1-2p<0,01	0,54±0,04 1-2p<0,01	4,70±1,16 1-2p<0,01	0,23±0,04 1-2p<0,01	386,50±71,85	7,19±0,94	29,02±3,68	12,7±1,61
3. Экстракт листьев 1 мл/кг (5)	11,56±1,54 1-3p<0,05	2,87±0,52	7,79±1,07	0,90±0,06	387,67±55,37	7,18±0,60	30,58±2,01	12,68±0,97
4. ЦФ + экстракт листьев 1 мл/кг (6)	5,42±1,20	0,69±0,08	4,55±1,14	0,18±0,03	350,00±50,80	5,01±0,34	22,07±1,40	9,37±0,63
5. Экстракт листьев 5 мл/кг (6)	17,21±2,13	3,07±0,59	13,12±1,52	1,02±0,08	413,17±70,38	7,15±0,57	29,93±1,84	12,57±0,82
6. ЦФ + экстракт листьев 5 мл/кг (6)	4,320±0,44	0,66±0,09	3,44±0,42	0,22±0,04	274,17±53,77	4,85±0,47	20,68±1,81	9,03±0,80

Окончание таблицы

Экстракт цветков									
1. Контроль (6)	5,70±0,31	2,22±0,10	2,92±0,28	0,62±0,05	309,50±25,45	6,53±0,18	27,32±0,79	11,32±0,33	
2. ЦФ 125 мг/кг (6)	3,72±0,75 1-2p<0,05	0,70±0,18 1-2p<0,01	3,47±0,67	0,27±0,10 1-2p<0,05	394,33±73,94	5,15±0,57 1-2p<0,05	22,34±2,11 1-2p<0,05	8,98±0,95 1-2p<0,05	
3. Экстракт цветков 1 мл/кг (6)	9,17±0,54 1-3p<0,01	1,63±0,09 1-3p<0,01	8,58±0,12 1-3p<0,01	0,50±0,10	367,33±24,57	6,55±0,26	27,97±0,91	11,55±0,36	
4. ЦФ + экстракт цветков 1 мл/кг (6)	2,40±0,49	0,60±0,12	2,62±0,36	0,17±0,07	359,50±19,84	5,39±0,31 2-5p<0,05	23,15±1,02	9,80±0,44	

Примечание. Перед уровнем значимости p указаны номера сравниваемых групп.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бозуш Т.А., Бозуш Е.А., Степанов А.А. Современные подходы к повышению эффективности противоопухолевой терапии путем индивидуальной оптимизации лечения и избирательного снижения побочных токсических проявлений цитостатиков. Антибиотики и химиотерапия. 2000; 45(1): 32–38.
2. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe, 1986.
3. Isaikina N.V., Kalinkina G.I., Razina T.G., Zueva E.P., Rybalkina O.Y., Ulirich A.V., Shilova A.B. *Sorbus aucuparia* L. fruit is a source of the drug for increasing the efficiency of tumor chemotherapy. Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2018; 44(7): 899–905.
4. Софьина З.П., Сыркин А.Б., Голдин А., Кляйн А. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. М.: Медицина, 1980. 58 с.
5. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л.: Медицина, 1978. 296 с.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК БОЛИГОЛОВА ПЯТНИСТОГО НА КОАГУЛЯЦИОННОЕ ЗВЕНО ГЕМОСТАЗА АУТБРЕДНЫХ МЫШЕЙ НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ ЦИСПЛАТИНА

М.В. Филонова^{1,2}, Е.П. Федорова¹, А.А. Чуринов^{1,2}

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹,
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

В исследовании на аутбредных мышах-самках выявлено, что цисплатин в максимально переносимой дозе 10 мг/кг вызывает нарушения системы гемостаза со сдвигом в сторону процессов тромбообразования. Введение экстракта, полученного из культуры клеток болиголова пятнистого, приводит к нормализации показателей ПВ, МНО, АПТВ и концентрации фибриногена на фоне действия цисплатина.

Ключевые слова: аутбредные мыши, цисплатин, нарушение гемостаза, тромбообразование, варфарин, фурукумарины.

THE EFFECT OF THE EXTRACT FROM THE POISON HEMLOCK CELL CULTURE ON THE COAGULATION COMPONENT OF HEMOSTASIS IN OUTBRED MICE AFTER CISPLATIN ADMINISTRATION

M.V. Filonova^{1,2}, E.P. Fedorova¹, A.A. Churin^{1,2}

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹,
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

A study on outbred female mice revealed that cisplatin at a maximum tolerated dose of 10 mg/kg causes hemostatic system disorders with a shift towards thrombosis. The introduction of the extract obtained from the cell culture of the hemlock spotted, leads to the normalization of PV, INR, APTT and fibrinogen concentration in comparison with the action of cisplatin.

Key words: outbred mice, cisplatin, impaired hemostasis, thrombus formation, warfarin, furocoumarins.

Актуальность

Венозная тромбоэмболия (ВТЭ) является распространенной причиной смертности в условиях развития злокачественных новообразований у человека [1]. Многие методы лечения новообразований, в том числе и химиотерапия, могут выступать предпосылкой для запуска процессов ВТЭ [2]. Риск развития ВТЭ при применении антибластомных средств увеличивается в 6,5 раза [3].

Цисплатин представляет собой химиотерапевтическое средство на основе платины, используемое для лечения широкого спектра злокачественных новообразований. Обычно применяется в сочетании с другими лекарственными средствами в различных комбинациях и схемах терапии. Существенный риск как венозных, так и артериальных тромбоэмболических осложнений был отмечен у пациентов, подвергшихся воздействию этого химиотерапевтического агента [1, 2]. Несмотря на факты, подтверждающие причинно-следственную связь химиотерапии и тромбоза, риск развития тромботических осложнений у пациентов со злокачественными новообразованиями остается недооцененным [1]. В связи с вышесказанным изучение влияния химиотерапевтических препаратов на систему гемостаза представляет особый интерес. Также актуальным является поиск фармакологических корректоров, которые смогут нивелировать токсические эффекты цитостатиков на систему гемостаза, не влияя при этом на их противоопухолевую активность. В этом плане большой интерес для исследования представляют фурукумарины, которые помимо фотосенсибилизирующей активности также обладают противовоспалительным, анальгетическим, противоопухолевым и антикоагулянтным потенциалом [4, 5].

Цель исследования – изучить влияние экстракта, полученного из культуры клеток болиголова, на коагуляционное звено гемостаза мышей в условиях применения цисплатина.

Материал и методы

Исследование проведено на 100 мышках-самках линии CD 1 массой 18–25 г (питомник НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга). Животных содержали в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Для моделирования нарушений в свертывающей системе крови мышам вводили цисплатин (Cisplatin-LANS, ЛЭНС-ФАРМ ООО, Россия) внутривенно однократно в максимально переносимой дозе (МПД) 10 мг/кг. Контрольным животным в аналогичных условиях в эквивалентном объеме вводили физиологический раствор. Коррекцию вызванных нарушений проводили экстрактом, полученным из культуры клеток болиголова пятнистого (*Conium maculatum* L., ЭКБП), содержащего не менее 70 % суммы фурукумаринов. Экстракт вводили в дозе 30 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали варфарин в дозе 4 мг/кг. Корректоры начинали вводить на 6-е сут после введения цисплатина в течение четырех дней.

Изучение показателей проводилось на 7, 10, 15, 20 и 30-е сут после введения цитостатика. Забор крови осуществляли методом пункции сердца. Для исследования использовали плазму, полученную из стабилизированной цитратом натрия крови.

Исследование показателей системы коагуляционного звена гемостаза выполняли на полуавтоматическом коагулометре Helena C-4 (Helena Biosciences Europe, Великобритания) с использованием наборов «Технология-Стандарт» (г. Барнаул, Россия).

Нарушение активности коагуляционного звена системы гемостаза определяли по следующим показателям: активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), протромбиновое время (ПВ), международное нормализованное отношение (МНО), концентрация фибриногена.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 10. Межгрупповые различия были оценены с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни.

Результаты

На 7-е сут после введения цисплатина в МПД мышам-самкам происходило уменьшение ПВ (табл. 1) и значений МНО (табл. 2) на 20,6 и 22,7 % относительно соответствующих значений животных контрольной группы.

Одновременно отмечен рост концентрации фибриногена (табл. 3) на 55,4 % и сокращение АПТВ (табл. 4) на 17,4 %.

На 10-е сут значения ПВ (см. табл. 1), МНО (см. табл. 2) и АПТВ (см. табл. 4) были ниже контрольных значений на 13,1; 14,8 и 8,3 % соответственно, при этом концентрация фибриногена увеличилась на 42,1 % относительно значений контроля. На 15-е сут после введения цисплатина концентрация фибриногена повышалась на 55,6 %, в то время как ПВ (см. табл. 1), АПТВ (см. табл. 4) и значения МНО (см. табл. 2) сокращались на 13,7; 19,3 и 14,7 % соответственно относительно контрольных величин. На 20-е сут отмечено сокращение ПВ (см. табл. 1) и АПТВ (см. табл. 4), а также снижение значений показателя МНО на 10,3; 36,0 и 11,9 % относительно данных контрольных животных. Концентрация фибриногена увеличилась на 19,0 %. На 30-е сут отмечено снижение АПТВ (см. табл. 4) на 21,0 % относительно величин контрольных животных.

При применении экстракта болиголова пятнистого было отмечено снижение концентрации фибриногена (см. табл. 3) на 7, 10, 15 и 20-е сут на 69,2; 34,3; 58,5 и 29,1 % по сравнению с соответствующими величинами у животных, получавших цисплатин, при этом схожая картина наблюдалась при введении препарата сравнения варфарина. На всем протяжении эксперимента после введения экстракта болиголова концентрация фибриногена соответствовала контрольным значениям. Введение экстракта болиголова приводило к сокращению АПТВ (см. табл. 4) на 7-е сут на 6,9 % на фоне действия цисплатина, повышая изучаемый показатель при этом до контрольных величин на 10-е и 15-е сут. Относительно животных, получавших варфарин, на 7-е сут у группы, получавшей экстракт болиголова, изготовленный из культуры клеток болиголова пятнистого, наблюдали увеличение ПВ (см. табл. 1) и АПТВ (см. табл. 4), а также значений МНО, на 10-е сут – сокращение ПВ (см. табл. 1) и значений МНО (см. табл. 2).

На 15-е сут у животных, получавших экстракт на фоне действия цисплатина, наблюдался рост ПВ (см. табл. 1) и АПТВ (см. табл. 4) на 7,7 и 22,6 %, увеличение показателя МНО (см. табл. 2) на 8,1 %. Относительно животных, получавших варфарин, наблюдали противоположную картину – сокращение ПВ (см. табл. 1) и снижение значений МНО (см. табл. 2). У животных, получавших экстракт клеточной культуры болиголова пятнистого, на 20-е сут отмечен рост ПВ (см. табл. 1) и увеличение значения МНО (см. табл. 2) на 9,3 и 10,5 %, также наблюдали увеличение АПТВ (см. табл. 4) на 12,0 и на 8,7 % на 30-е сут соответственно относительно группы животных, получавших цисплатин. При этом АПТВ (см. табл. 4) в этот же период исследования достигало контрольного уровня. Такая же динамика показателей МНО (см. табл. 2), ПВ (см. табл. 1) и АПТВ (см. табл. 4) наблюдалась и при введении препарата сравнения варфарина на фоне действия цисплатина.

Выводы

В результате проведенного исследования показано, что введение цисплатина в МПД мышам-самкам приводит к увеличению концентрации фибриногена, а также к снижению АПТВ и ПВ и уменьшению значений МНО. Выявленные изменения параметров коагуляционного звена гемостаза экспериментальных животных могут свидетельствовать о развитии гиперкоагуляции на фоне применения цисплатина.

При применении экстракта культуры клеток болиголова пятнистого на фоне действия цисплатина отмечено снижение концентрации фибриногена до уровня значений животных контрольной группы. Отмечен рост как АПТВ, так и ПВ с МНО с 10-х по 30-е сут, при этом АПТВ достигал контрольных значений на 10-е и 15-е сут, а ПВ и МНО – на 20–30-е сут наблюдения.

Использование экстракта, полученного из культуры клеток болиголова пятнистого, у самок аутбредных мышей приводит к нормализации ПВ, АПТВ МНО и концентрации фибриногена, как и при применении варфарина.

Таблица 1

Динамика протромбинового времени после применения экстракта из клеточной культуры болиголова пятнистого на фоне действия цисплатина

Группа	7-е сут	10-е сут	15-е сут	20-е сут	30-е сут
Контроль	16,02±1,05	15,82±0,46	15,52±0,54	15,52±0,41	14,92±1,11
Цисплатин	12,72±0,87*	13,74±0,73*	13,40±0,64*	13,92±0,45*	14,04±0,90
ЭККБП	13,40±0,4*#	14,02±0,80*#	14,60±0,34*#	15,36±0,80\$	14,46±0,71#
Варфарин	19,14±1,12*\$	17,84±0,76*\$	17,10±0,89*\$	16,24±0,58\$	23,28±1,12*\$

Примечание. Здесь и далее в табл. 2–4: * – знак достоверности отличий ($p < 0,05$) при сравнении с группой контроля; \$ – знак достоверности отличий ($p < 0,05$) при сравнении с группой цисплатина; # – знак достоверности отличий ($p < 0,05$) при сравнении с группой варфарина.

Таблица 2

Динамика международного нормализованного отношения после применения экстракта из клеточной культуры болиголова пятнистого на фоне действия цисплатина

Группа	7-е сут	10-е сут	15-е сут	20-е сут	30-е сут
Контроль	1,20±0,10	1,19±0,47	1,16±0,05	1,16±0,04	1,11±0,09
Цисплатин	0,93±0,07*	1,01±0,05*	0,99±0,07*	1,02±0,02*	1,04±0,07
ЭККБП	0,99±0,04*#	1,04±0,06*#	1,08±0,02*#	1,14±0,07\$	1,08±0,06#
Варфарин	1,52±0,17*\$	1,35±0,05*\$	1,29±0,07*\$	1,23±0,05\$	1,97±0,02*\$

Таблица 3

Динамика фибриногена после применения экстракта из клеточной культуры болиголова пятнистого на фоне действия цисплатина

Группа	7-е сут	10-е сут	15-е сут	20-е сут	30-е сут
Контроль	1,13±0,17	1,23±0,15	1,24±0,07	1,05±0,06	1,15±0,09
Цисплатин	1,76±0,62*	1,75±0,33*	1,93±0,2*	1,25±0,15*	1,11±0,17
ЭККБП	0,97±0,10\$#	1,33±0,08\$#	1,20±0,11\$#	0,94±0,16\$	1,11±0,22
Варфарин	0,83±0,04*\$	1,56±0,12*	1,83±0,15*	0,91±0,08\$	0,96±0,13*

Таблица 4

Динамика активированного парциального тромбопластинового времени после применения экстракта из клеточной культуры болиголова пятнистого на фоне действия цисплатина

Группа	7-е сут	10-е сут	15-е сут	20-е сут	30-е сут
Контроль	39,76±1,71	36,44±1,88	38,32±1,33	38,32±1,03	34,98±0,85
Цисплатин	32,86±1,33*	33,42±0,80*	30,94±1,81*	24,52±1,54*	27,64±1,32*
ЭККБП	30,10±1,26*#	34,48±1,14#	39,62±1,15\$	29,12±2,19*#	30,70±1,43*#
Варфарин	44,38±2,53*\$	41,68±1,27*\$	40,72±1,71\$	37,96±1,62\$	47,00±1,29*\$

ЛИТЕРАТУРА

1. Oppelt P, Betbadal A., Nayak L. Approach to Chemotherapy-associated Thrombosis. Vasc Med. 2015; 20(2): 153–61.
2. Haddad T.C., Greeno E.W. Chemotherapy-induced thrombosis. Thromb Res. 2006; 118(5): 555–68.
3. Hisada Y., Geddings J.E., Ay C., Mackman N.J. Venous Thrombosis and Cancer: from Mouse Models to Clinical Trials. Thromb Haemost. 2015; 13(8): 1372–82.
4. Bruni R., Barreca D., Protti M., Brighenti V., Righetti L., Anceschi L., Mercolini L., Benvenuti S., Gattuso G., Pellati F. Botanical Sources, Chemistry, Analysis, and Biological Activity of Furanocoumarins of Pharmaceutical Interest. Molecules. 2019; 24(11): 2163.
5. El-Ansary S.L., Abdel Rahman D.E. Eldydemony N.M.A. Coumarins: Biological activity and SAR studies. Der Pharma Chemica. 2016; 8(15): 61–74.

ЗНАЧЕНИЕ ЗАЩИТЫ ПЕЧЕНИ В РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ КОРРЕКЦИИ ЭНДОТОКСИКОЗА

**Н.С. Шейранов, А.А. Афонкин, О.В. Ревва, М.В. Ширманкина,
Ф.А. Али Фуад, С.Т. Аль-Анбари**

ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет
им. Н.П. Огарева» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Саранск, Россия

Аннотация

Проведенные хронические эксперименты на собаках с прогрессирующим каловым перитонитом показали, что развитие синдрома эндогенной интоксикации обусловлено не только воспалительными явлениями в брюшной полости, но и подавлением детоксикационной способности печени. Показано, что Ремаксол сохраняет резистентность печени к действию продуктов перекисного окисления липидов и активизации фосфолипаз.

Ключевые слова: эндогенная интоксикация, печень, Ремаксол; перекисное окисление липидов.

THE VALUE OF LIVER PROTECTION IN THE EFFECTIVENESS OF THE CORRECTION OF ENDOTOXEMIA

**N.S. Sheyranov, A.A. Afonkin, O.V. Revva, M.V. Shirmankina, F.A. Ali Fuad,
S.T. Al-Anbari**

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «National Research Ogarev Mordovia State University», Saransk, Russia

Abstract

Conducted chronic experiments in dogs with progressive fecal peritonitis showed that the development of endogenous intoxication syndrome is caused not only by inflammatory phenomena in the abdominal cavity, but also by suppression of the detoxification ability of the liver. Remaxol maintains liver resistance to the action of lipid peroxidation products and phospholipase activation.

Key words: endogenous intoxication, liver, remaxol, lipid peroxidation.

Актуальность

Эндогенная интоксикация является главной причиной гибели пациентов с ургентной патологией органов желудочно-кишечного тракта, сопровождающейся перитонитом [1, 2]. При снижении активности детоксикационной системы явления эндогенной интоксикации приобретают лавинообразный характер [3, 4]. Главной задачей в предупреждении прогрессирования интоксикации является не только ликвидация воспалительного очага, но и восстановление функционального состояния органов детоксикационной системы и в первую очередь печени [5, 6]. Не вызывает сомнений факт причастности мембранодеструктивных явлений в клетках печени [7], что обуславливает необходимость применения лекарственных средств, обладающих мембраностабилизирующим эффектом [8]. Такими свойствами обладает отечественный препарат Ремаксол [9].

Цель исследования – оценка эффективности Ремаксолола в коррекции функционального состояния печени на фоне эндотоксикоза перитонеального происхождения.

Материал и методы

Проведены хронические опыты на 26 взрослых беспородных собаках, которым в условиях тиопентал-натриевого наркоза (0,04 мг/кг в/в струйно) через брюшную стенку в брюшную полость вводили 20 % каловую смесь собак из расчета 0,5 мл/кг. В контрольные этапы периода наблюдения после моделирования (1, 2, 3-и сут) выполняли забор крови и лимфы, осуществляли биопсию печени. После моделирования перитонита животным проводили внутривенное введение раствора глюкозы и хлорида натрия (50 мл/кг). Собакам опытной группы вводили Ремаксол в/в капельно из расчета 15 мл/кг. Исследования проведены в соот-

ветствии с требованиями, предъявляемыми при работе с экспериментальными животными. Оценку эндотоксикоза производили на основе определения концентрации среднемoleкулярных олигопептидов (СМП) с помощью спектрофотометрического метода и содержания общей (КАо) и эффективной (КАэ) концентрации альбумина, затем рассчитывали резерв связывания альбумина и индекс токсичности. В тканях печени оценивали процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) по уровню молекулярных продуктов: содержание диеновых конъюгатов (ДК) определяли на спектрофотометре СФ-46, малонового диальдегида (МД) – в реакции с тиобарбитуровой кислотой. Активность супероксиддисмутазы устанавливали в реакции с нитросиним тетразолием, фосфолипазы A_2 – по каталитической деятельности фермента потенциометрическим методом. Выраженность гипоксии тканей органа определяли по уровню молочной и пировиноградной кислот, индексу гипоксии. Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2007, Statistica 6.0 параметрическими и непараметрическими критериями для двух независимых групп данных.

Результаты

Установлено, что при остром экспериментальном перитоните в контрольной группе по мере прогрессирования уровень токсических веществ в плазме крови увеличивается, что было зарегистрировано и в лимфе, но в начале исследования содержание продуктов эндотоксикоза увеличивалось в крови незначительно. Выявлены заметные изменения основных мембранообразующих липидов и выраженный рост содержания липидов, обладающих хаотропным действием, – уровень лизоформ фосфолипидов увеличился в 12,1 раза, свободных жирных кислот – на 156,2 % ($p < 0,05$). Наблюдается повышение активности фосфолипазы A_2 по сравнению с нормой на 54,6–131,7 % ($p < 0,05$). Изменения липидного обмена в печени при остром перитоните обусловлены активизацией фосфолипазы A_2 , окислительным стрессом и гипоксией. Таким образом, подтверждено развитие органного липидного дистресс-синдрома, который определяет процесс угнетения функционального состояния печени, что подтверждено и другими биохимическими исследованиями: активность трансаминаз (АсТ и АлТ) в плазме крови в динамике повышалось более чем на 50–100 % ($p < 0,05$), уровень билирубина увеличивался на 40–65 % ($p < 0,05$); изменялись альбуминсинтетическая и альбуминметаболизирующая функции органа: общая концентрация альбумина снижалась на 15–23 % ($p < 0,05$), эффективная – на 40–65 % ($p < 0,05$), резерв связывания альбумина – на 35–60 % ($p < 0,05$). В опытной группе животных применение Ремаксола уже через сутки привело к уменьшению выраженности эндогенной интоксикации. Так, уровень СМП при $\lambda = 254$ нм по сравнению с контролем снижался на 21,3 % ($p < 0,05$), при $\lambda = 280$ нм – на 11,6 % ($p < 0,05$). В последующие этапы наблюдения их содержание в среднем снижалось соответственно на 24,6 и 17,4 % ($p < 0,05$). Показатель КАэ при применении Ремаксола по сравнению с контролем через одни сутки возрастал на 24,5 % ($p < 0,05$), на вторые – на 17,1 % ($p < 0,05$), на третьи – на 37,5 % ($p < 0,05$). ИТ по альбумину на фоне использования препарата был ниже контрольного уровня на всех этапах периода наблюдения на 26,4; 26,2 и 20,9 % ($p < 0,05$) соответственно. На фоне применения Ремаксола уменьшение содержания токсических продуктов в лимфе было не столь значимым (рис. 1).

Отмечается снижение содержания лизофосфолипидов на 16,3–28,4 %, свободных жирных кислот – на 11,6–19,8 % ($p < 0,05$). Уровень ДК и МДА в тканевых структурах печени в динамике периода наблюдения был ниже контроля на 19,2–26,5 и 17,3–22,3 % ($p < 0,05$) соответственно. При этом антиоксидантный потенциал, судя по активности супероксиддисмутазы, снижался в меньшей степени и был выше контроля на 10,2–44,1 % ($p < 0,05$). Отмечается уменьшение активности в тканях печени фосфолипазы A_2 : снижение, по сравнению с контролем на 17,9–27,8 %. На фоне Ремаксола уровень молочной кислоты в тканях печени по сравнению с контролем в динамике наблюдения уменьшался на 9,3–18,6 % ($p < 0,05$), а индекс гипоксии – на 11,2–17,4 % ($p < 0,05$), что свидетельствует о его способности снижать явления тканевой гипоксии (рис. 2).

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют о том, что развитие синдрома эндогенной интоксикации при остром прогрессирующем перитоните обусловлено не только воспалительными явлениями в брюшной полости, но и подавлением детоксикационной способности печени. Применение Ремаксола при остром перитоните обеспечивает сохранение функционального потенциала печени даже при прогрессирующем течении острого перитонита, что может свидетельствовать о необходимости включения препарата в перечень лекарственных средств, применяемых при этом заболевании.

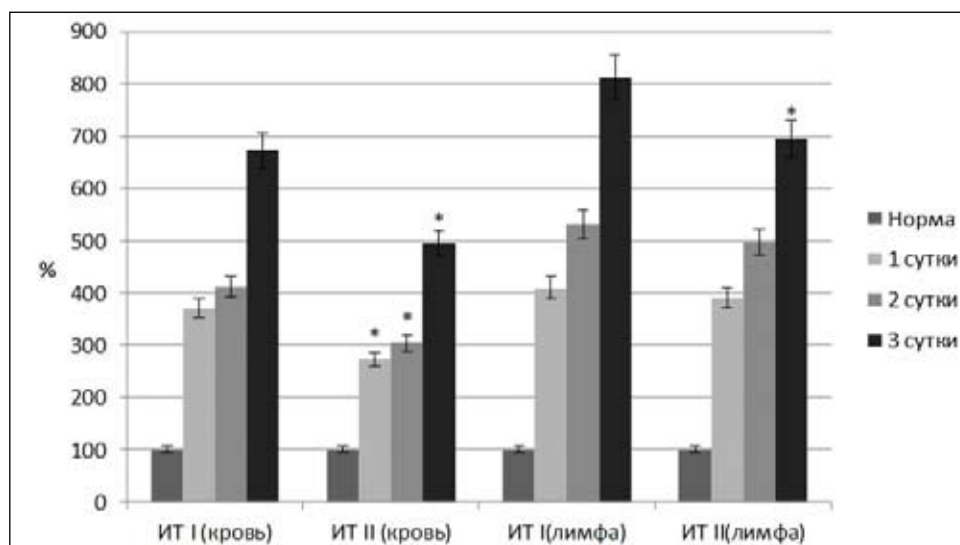


Рис. 1. Индекс токсичности (ИТ) в плазме крови и лимфе при остром прогрессирующем перитоните на фоне применения Ремаксола (* – достоверность отличия между I и II группами при уровне значимости $p < 0,05$; норма принята за 100 %)

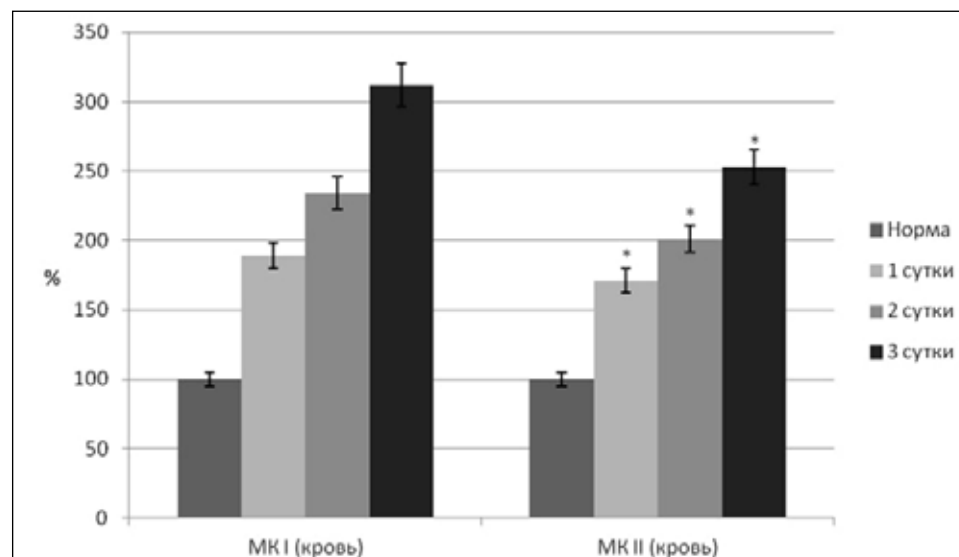


Рис. 2. Уровень молочной кислоты (МК) в плазме крови при остром прогрессирующем перитоните на фоне применения Ремаксола (* – достоверность отличия между I и II группами при $p < 0,05$; норма принята за 100 %)

ЛИТЕРАТУРА

1. Стяжкина С.Н., Ситников В.А., Леднева А.В., Климентов М.Н., Акимов А.А. Применение и эффективность «Спленипада» и «Ронколейкина» в лечении гнойно-воспалительных и иммунодефицитных заболеваний. Пермский медицинский журнал. 2016; 33(1): 66–70.
2. Черданцев Д.В., Первова О.В., Дятлов В.Ю., Шапкина В.А., Поздняков А.А. Современные возможности санации брюшной полости при распространенном гнойном перитоните. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2013; 10: 32–37.
3. Власов А.П., Трофимов В.А., Григорьева Т.И. Энтеральный дистресс-синдром в хирургии: понятие, патогенез, диагностика. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2016; 11: 48–53.
4. Сажин В.П., Карсанов А.М., Маскин С.С. Что такое сепсис: 25-летний опыт развития концепции. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2017; 1: 82–87.
5. Ачкасов Е.Е., Есипов А.В., Пекиев А.В. Использование аппарата генерации экзогенного монооксида азота в лечении перитонитов. Медицинская техника. 2018; 307(1): 47–50.
6. Ермолов А.С., Воленко А.В., Горский В.А., Зубрицкий В.Ф., Земляной А.Б., Айрапетян А.Т., Корнев Д.Н., Покровский К.А. Радикальное устранение источника перитонита – кардинальная проблема хирургического лечения перитонита. Анналы хирургии. 2016; 21(3): 211–214.
7. Пикуза О.И., Шакирова Л.З. Диагностика интоксикации плода при гестозах по уровню молекул средней массы. Казанский медицинский журнал. 1994; 75(6): 445–449.
8. Винник Ю.С., Якимов С.В., Маркелова Н.М. Комбинированная озонотерапия в комплексном лечении распространенного перитонита. Биорадикалы и антиоксиданты. 2017; 4(3): 6–8.
9. Коваленко А.Л., Петров А.Ю., Суханов Д.С., Саватеева Т.Н., Романцов М.Г. Ремаксол – препарат для восстановления системы антиоксидантной защиты при поражении печени циклофосфаном в эксперименте. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2011; 1(1): 32–35.

СОДЕРЖАНИЕ

МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА И ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА

Абрамова М.Ю., Усачева Т.А. <i>In silico</i> анализ функциональной роли полиморфизма rs1799945 гена-кандидата <i>HFE</i> , ассоциированного с развитием артериальной гипертензии	6
Бабовская А.А., Трифонова Е.А., Зарубин А.А., Марков А.В., Степанов В.А. Поиск ключевых прогностических генов преэклампсии с помощью анализа модулей коэкспрессии плацентарного транскриптома	9
Головченко О.В., Рудых Н.А. Полиморфизм генов факторов коагуляции <i>GP1IIa</i> , <i>ITAG2</i> , <i>F13A1</i> и формирование плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода	12
Давыдова Ю.Д., Еникеева Р.Ф., Тахирова З.Р., Казанцева А.В. Вовлечённость генов дофаминергической системы в развитие агрессивного поведения у психически здоровых индивидов	15
Елисеева Н.В. К вопросу об ассоциации полиморфизма rs1063192 и rs2157719 гена <i>CDKN2B-AS1</i> с развитием первичной открытоугольной глаукомы среди женского населения Центрального Черноземья РФ	18
Еникеева Р.Ф., Казанцева А.В., Давыдова Ю.Д., Леонов С.В. Анализ ассоциаций полиморфных локусов генов стрессового ответа организма с фенотипическими вариациями в уровне математической тревожности	20
Ефремова О.А. Роль полиморфизма локусов rs699517 и rs2790 гена <i>TYMS</i> фолатного цикла в формировании плацентарной недостаточности и задержки роста плода	23
Жалсанова И.Ж. Оценка полиморфных вариантов кластера генов фактора некроза опухоли в развитии бронхиальной астмы и туберкулеза	26
Зарубин А.А., Маннанова К.В., Марков А.В., Слепцов А.А. Идентификации функционально значимого полиморфизма в генах микроРНК с использованием интегрированных данных массового параллельного секвенирования	29
Казанцева А.В., Фасхутдинова Г.Г., Еникеева Р.Ф., Давыдова Ю.Д. Изучение вовлеченности генов ГАМК-ергической, опиоидной систем и нейропептидов в развитие хронического алкоголизма в кросскультурном контексте	31
Колесников Н.А., Харьков В.Н., Зарубин А.А., Степанов В.А. Различия по уровню инбридинга в популяциях Сибири: анализ регионов высокой гомозиготности	35
Королёва Ю.А., Марков А.В., Слепцов А.А., Зарубин А.А., Казанцев А.Н., Барбараш О.Л., Назаренко М.С. Анализ уровня метилирования предполагаемого промоторного региона гена <i>MIR21</i> у пациентов с атеросклеротическим поражением артерий	37
Лопаткина М.Е., Фишман В.С., Гридина М.М., Скрыбин Н.А., Кашеварова А.А. Транскрипционные эффекты реципрокных моногенных хромосомных мутаций в субсегменте 3p26.3 в модельной системе нейронов, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с нарушением нервно-психического развития	41
Марков А.В., Зарубин А.А., Шарыш Д.В., Назаренко М.С. Оценка соотношения разных типов клеток при изучении метилирования ДНК в образцах артерий пациентов с атеросклерозом	45
Муслимова Э.Ф., Будникова О.В. Оценка экспрессии гена кальсеквестрина 2 (<i>CASQ2</i>) в миокарде пациентов с хронической сердечной недостаточностью	47
Новиков В.Б. Изучение функционального значения полиморфного локуса rs10953541 гена-кандидата <i>BCAR29</i> , ассоциированного с остеоартрозом коленного сустава	50
Разумова А.А., Кочмарева Г.Ю. Мутационный скрининг генов, ассоциированных с болезнью Паркинсона среди пациентов Красноярского региона	53
Решетников Е.А. Ассоциации полиморфизмов гена <i>PPP1R12C</i> с риском развития преэклампсии в сочетании с синдромом задержки роста плода	56
Свинарева Д.И. Анализ двухлокусных моделей взаимодействия генов матриксных металлопротеиназ при формировании глаукомы у мужчин	60
Сердюкова Е.С., Васильева О.Ю., Марков А.В., Васильев С.А. Нарушение метилирования промоторов генов у абортусов первого триместра беременности с числовыми хромосомными нарушениями	62

Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А. Анализ генетической компоненты преэклампсии по системе регуляторных участков генов с характеристикой вклада естественного отбора на макроэволюционном уровне в ее формировании	65
Синицкий М.Ю., Кутихин А.Г., Шишкова Д.К., Цепкина А.В., Асанов М.А., Понасенко А.В. Роль алкилирующего мутагена митомицина С в формировании эндотелиальными клетками проатеросклеротического фенотипа	68
Слепцов А.А., Зайцева А.В., Казанцев А.Н. Делеция в локусе <i>APOLB3</i> в структуре подверженности каротидного атеросклероза в сочетании с острыми нарушениями мозгового кровообращения и сахарного диабета 2-го типа	71
Смирнова К.В. Поведенческий фенотип мышей с мутациями в гене <i>disc1</i>	74
Фонова Е.А., Толмачева Е.Н., Кашеварова А.А., Лопаткина М.Е., Затула Л.А., Павлова К.А., Лебедев И.Н. Микроструктурные перестройки X-хромосомы, связанные с модификацией инактивации X-хромосомы	77

КАРДИОЛОГИЯ

Алейникова К.С. Особенности диагностики и клинического течения при сочетании ишемической болезни сердца и хронической обструктивной болезни легких	81
Богданов Л.А., Кутихин А.Г. Роль <i>Vasa Vasorum</i> и макрофагальных скоплений в развитии сосудистого воспаления при внутривенном введении триггера дисфункции эндотелия	84
Вейсалов С.Э. Оценка эндотелиальной дисфункции у пациентов с хроническим пиелонефритом в зависимости от течения заболевания	86
Воронков Н.С., Цибульников С.Ю. Кардиопротекторный эффект адаптации к холоду	89
Джоджуа Р.А., Паниева Н.Ю., Ступакова К.А., Брова Ю.А., Паниев Д.С., Федорченко А.А. Особенности клинических проявлений у больных гипертонической болезнью с генетическим полиморфизмом у пациентов молодого возраста	92
Кологривова И.В., Трубачева О.А., Сиротина М.А. Взаимосвязь ядерной транслокации лимфоцитарного транскрипционного фактора FoxP3 с метаболическим статусом у пациентов с ишемической болезнью сердца	95
Кононова Е.В., Шапутько Н.В. Оценка развития сердечно-сосудистых осложнений при системной химиотерапии рака желудка	98
Косовских Е.А. Сравнительный анализ гемодинамических характеристик составного каркасного ксенопарикардального биопротеза в аортальной позиции до и после модификации	101
Куприянова Д.С., Моськин Е.Г. Влияние предоперационных физических тренировок на нейрофизиологические показатели пациентов после коронарного шунтирования	104
Курбатов Б.К., Никифоров А.П. Роль адренорецепторов при стресс-индуцированном повреждении сердца	107
Кухарова Д.Д. Клинико-патогенетические предикторы сосудистых нарушений и обоснование их коррекции при ХСН со сниженной фракцией выброса левого желудочка	111
Мальцева А.Н., Воробьева Д.А., Мочула А.В. Современные возможности определения миокардиального кровотока и коронарного резерва у пациентов с инфарктом миокарда без обструктивного поражения коронарных артерий	113
Маммедова Д.Т., Карасева А.Б., Семёнова Д.С., Соколов А.В. Механизмы влияния бактериальной аргининдеиминазы на эндотелиальные клетки человека	116
Манвелян Д.В., Вечерский Ю.Ю., Затолокин В.В. Непосредственные результаты эндоскопического выделения большой подкожной вены в лоскуте с тканями	120
Мартынов И.Д. Вегетативные изменения на пробу с активным ортостазом у лиц молодого возраста с нейрогенными обмороками	123
Мышкина Н.А., Ширманкина М.В., Ларькова Е.С., Кортякова Л.Ю., Сайгина О.А., Радайкина Е.В. Ключевые звенья патогенеза токсической миокардиопатии	127
Секисова В.Е., Воробьев А.С., Симонян Т.О. Роль тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 в прогнозировании развития раннего ремоделирования миокарда у пациентов с острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST	129
Сондуев Э.Л. Варианты гипотермии при операции Hemiarch	133
Трубачева О.А., Кологривова И.В. Использование повышенных концентраций аденозиндифосфата для оценки агрегационной активности тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца ..	135

Шипулин В.В. Возможности радионуклидной томовентрикулографии с нагрузкой в аспекте прогноза повторного ремоделирования левого желудочка в отдаленном периоде после хирургической коррекции ишемической кардиомиопатии	138

ОНКОЛОГИЯ

Аксенов С.А., Панкратов А.А., Хомяков В.М., Иванов А.В., Воронцова М.С., Меликова Ю.Н., Герасимова О.И. Разработка параметров внутрибрюшной аэрозольной химиотерапии под давлением (PIRAC) с применением доксорубина на биологической тест-системе <i>in vivo</i> (экспериментальное исследование)	142
Александрова Т.Н., Павлова Н.И., Куртанов Х.А., Соловьева И.Е., Терехова Л.Д., Дьяконова А.Т., Борисова У.П. Влияние носительства мутации JAK2V617F на частоту тромботических осложнений среди пациентов с Rh-негативными хроническими миелопролиферативными заболеваниями	145
Алифанов В.В., Симанов Г., Таширева Л.А. Особенности экспрессии белка LIMCH1 в опухолевых клетках, связанные с лимфогенным метастазированием, у больных инвазивной карциномой молочной железы неспецифического типа	148
Бельская Л.В., Сарф Е.А. Прогностическое значение биохимических маркеров слюны при раке легкого	150
Бисенбаева Б.К., Тургунова Н.Д., Сактаганова К., Алейник А.Н., Старцева Ж.А., Великая В.В. Применение биоимпедансной спектрометрии для измерения повреждений тканей после лучевой терапии	153
Брагина О.Д., Зельчан Р.В., Ларькина М.С. <i>In vivo u in vitro</i> исследования меченных ¹²⁵ I таргетных молекул для радионуклидной диагностики злокачественных опухолей с гиперэкспрессией Her2/neu	156
Бузенкова А.В., Таширева Л.А., Савельева О.Е., Кайгородова Е.В. Ассоциация клеток-предшественников в ткани первичной опухоли с лимфогенным метастазированием у больных инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы	159
Бушмина Е.А., Булавская А.А., Гавриков Б.М., Григорьева А.А., Зубкова Ю.А., Кудрявцев С.А., Милойчикова И.А., Черепенников Ю.М., Стучебров С.Г. Сравнение калибровочных кривых пленочных дозиметров, полученных на медицинских электронных и фотонных пучках	162
Бычков В.А., Небова Ю.А., Цыганов М.М., Ибрагимова М.К., Таширева Л.А., Бондарь Л.Н., Литвяков Н.В. Маркеры стволовости Muc и Oct4 в опухолевых дифференцированных и стволовых клетках при раке молочной железы и их связь с исходом заболевания	165
Важинская Н.С., Измайлов Т.Р., Шевченко Т.А., Мельник С.Ю., Полушкин П.В. Непосредственные и отдаленные результаты комбинированного и комплексного лечения опухолей ствола головного мозга у взрослых	167
Вернадский Р.Ю. Сцинтимammoграфия в томографическом режиме с препаратом ^{99m} Tc-1-Тео-D-глюкоза	169
Воропаева Е.Н., Березина О.В., Колесникова М.А., Гуражева А.А. Диффузная В-крупноклеточная лимфома в г. Новосибирске: эпидемиология и клиническая характеристика	172
Гаптулбарова К.А., Ибрагимова М.К., Певзнер А.М., Цыганов М.М. Амплификации генов стволовости – новые потенциальные маркеры метастазирования у больных с ранней формой рака молочной железы	176
Глунова А.И., Кельн А.А., Петросян Г.С. Целесообразность биопсии предстательной железы при III PI-RADs	179
Голубев П.В., Бухаров А.В., Державин В.А., Ядрица А.В. Хирургическое лечение при метастатическом поражении длинных костей	181
Гордий Д.В., Зенгер Г.В., Менькова Е.Н. Связь уровней экспрессии mPNC рецептора эндцитоза LRP1 и mPNC маркеров эпителиально-мезенхимального перехода при плоскоклеточном раке гортани и гортаноглотки	184
Григорьева А.А., Булавская А.А., Кондратьева В.С., Милойчикова И.А., Черепенников Ю.М., Стучебров С.Г. Численное моделирование взаимодействия медицинских электронных пучков с образцами, изготовленными из ПЛА-пластика для создания формирующих элементов	187
Гузарь Я.Р., Штыгашева О.В. Частота встречаемости компонентов метаболического синдрома при колоректальном раке	190
Гураль Е.С. Пограничные психические расстройства в онкологической практике	192

Долгашева Д.С., Ибрагимова М.К., Родионов Е.О., Певзнер А.М., Гаптулбарова К.А., Кокорина Е.В., Цыганов М.М. Исследование вируса папилломы человека у больных немелкоклеточным раком легкого	195
Дроздов Е.С., Костромицкий Д.Н., Грищенко М.Ю. Результаты применения протокола ускоренной реабилитации в колоректальной хирургии у пожилых пациентов	197
Дронова Т.А., Паталяк С.В. TGF β -связанные белки как факторы эффективности гормональной терапии тамоксифеном у больных рецептор-позитивным раком молочной железы с разным фенотипом HER2	200
Дудникова Е.А., Данилова А.В., Гончарова Н.М. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография с ^{99m} Tc-1-тио-D-глюкозой в диагностике и мониторинге результатов лечения лимфом ...	202
Евтина А.А., Булдаков М.А. Оценка противоопухолевого действия наночастиц на основе железа	204
Ермоленко Р.В., Фролова И.Г., Тузилов С.А., Величко С.А., Миллер С.В. Оценка эффективности химиотерапии у больных с метастатическим поражением печени при колоректальном раке на основании данных компьютерной томографии	207
Замбалова Е.А., Димча А.А., Патышева М.Р. Экзосомальные тетраспанины при колоректальном раке	210
Зельчан Р.В. Разработка новых радиофармпрепаратов для радионуклидной диагностики в онкологии	212
Зенгер Г.В., Скурихина В.Е., Менькова Е.Н. Сравнительный анализ содержания кофилина 1 в сыворотке крови и лейкоцитарной взвеси у больных плоскоклеточным раком гортани и гортаноглотки	215
Зозуля А.Ю., Новиков С.Н., Балдуева И.А., Емельянова Н.В., Гирдюк Д.В., Тюреева Е.И., Федосова Е.А., Антипов Ф.Е. Изучение динамики показателей иммунного статуса у пациентов с генерализованным колоректальным раком на фоне стереотаксической лучевой терапии метастазов печени	218
Зубарева Е.Ю., Колчина Д.Н., Давлетьярова Л.Р., Зубарев М.Р. Уровень HIF-1 α и TGF- β 1 в сыворотке крови у пациенток с инвазивным раком молочной железы	221
Ибрагимова М.К., Певзнер А.М., Цыганов М.М. Анализ результатов исследований ассоциации ВПЧ с риском развития онкопатологий различных локализаций	225
Исарганов Р.М., Воздвиженский М.О., Горбачев А.Л., Стадлер В.В. Результаты лечения рака предстательной железы с клинической стадией Т3а-б	228
Калинина-Масри А.А., Ходорович О.С., Саркисян К.Д., Канахина Л.Б., Донченко Д.В. Возможность выполнения реконструктивно-пластических операций у пациенток, больных раком молочной железы, при положительном ВИЧ-статусе	231
Камалов А.К., Рябов А.Б., Колобаев И.В., Хомяков В.М., Кострыгин А.К., Аксенов С.А. Малоинвазивная хирургия неэпителиальных опухолей желудка и области кардиоэзофагеального перехода	234
Канахина Л.Б., Ходорович О.С., Полушкин П.В., Измаилов Т.Р., Саркисян К.Д., Калинина-Масри А.А., Мельник С.Ю. Реконструктивно-пластические операции на молочной железе с использованием экспандера/импланта и лучевая терапия	236
Ковалева И.В. Роль транскрипционных и ростовых факторов в прогрессировании рака предстательной железы	240
Кокорина Е.В., Ибрагимова М.К., Певзнер А.М., Цыганов М.М. Прогнозирование риска рецидивирования у ВПЧ16-позитивных больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями различной степени тяжести на основе определения физического статуса вируса	242
Колегова Е.С., Костромицкий Д.Н. Экспрессия мРНК, содержание актин-связывающих белков и их связь с кальпаинами при метастазировании немелкоклеточного рака легкого	246
Костромицкий Д.Н., Дроздов Е.С., Колегова Е.С., Грищенко М.Ю., Урмонов У.Б. Возможности применения системы ERAS у пациентов с раком желудка	249
Кравченко А.Б., Балицкий Г.В. Скрининговая эзофагоскопия у пациентов с раком гортаноглотки	252
Луцкая Е.А., Певзнер А.М., Ибрагимова М.К., Цыганов М.М. Оценка предиктивной и прогностической значимости хромосомных aberrаций в генах ABC-транспортёров у больных люминальным раком молочной железы	255
Лушников Н.А. Возможности комбинированной терапии метастатического рака почки	257
Лушников П.А., Сухих Е.С., Сухих Л.Г. Дистанционная лучевая терапия как альтернатива внутримолочной лучевой терапии при лечении рака шейки матки: опыт Томского областного онкологического диспансера	260

Менькова Е.Н., Кульбакин Д.Е. Субтотальная ларингэктомия с формированием трахеоглоточного шунта в лечении больных местно-распространенным раком гортани и гортаноглотки	262
Т.С. Насрытдинов Результаты лечения больных с метастатическим колоректальным раком в Казахстане	264
Наумова А.С., Тиганова О.А., Ильенко Л.И. Клиническая эффективность протокола GPOH-HD-2003 в терапии лимфомы ходжкина у детей и подростков	267
Небова Ю.А., Бычков В.А., Ларионова И.В., Бондарь Л.Н., Перельмутер В.М. Ассоциация гипоксии и эпителиально-мезенхимального перехода с морфологическими особенностями плоскоклеточных карцином головы и шеи	271
Нуриева Н.С., Кипарисов Ю.С. Современные цифровые подходы и методы как инструмент стоматологического сопровождения и реабилитации пациентов при проведении противоопухолевой терапии новообразований области головы и шеи	273
Павлов В.С., Межевалова А.С., Серых А.Е., Ромах Л.П., Ковнер А.В., Кожин П.М. Противоопухолевое действие оригинального монофенольного индуктора сигнальной системы Keap1/Nrf2/ARE	276
Певзнер А.М., Цыденова И.А., Ибрагимова М.К., Цыганов М.М. Исследование соматических мутаций гена <i>BRCA1</i> у больных люминальным В раком молочной железы, пролеченных препаратами платины	280
Письменный Д.С., Таширева Л.А., Родионов Е.О., Завьялова М.В., Савельева О.Е. Связь уровня провоспалительных цитокинов с лимфогенным метастазированием у больных немелкоклеточным раком легкого	282
Просекина Е.А., Кузнецова А.И., Гирдюк Д.В., Блохина М.Л., Пипиа Н.П. Оценка продукции про-/противовоспалительных цитокинов и хемокинов клетками солидных опухолей человека, культивируемых в трехмерной системе	285
Разумова А.С., Булавская А.А., Грибова О.В., Милойчикова И.А., Седельникова Т.А., Старцева Ж.А., Стучебров С.Г., Тургунова Н.Д., Черепенников Ю.М. Оценка влияния кровотока на теплоотведение при проведении термометрии сеансов локальной гипертермии в статичных тканезквивалентных фантомах	289
Рогозин А.И. Антитела против эстрадиола и прогестерона у женщин с гормон-независимыми опухолями молочной железы	291
Рутто К.В., Кудрявцев И.В. Опухолевый рост изменяет ответ тимоцитов на семафорин 3А	294
Рыков М.Ю. Электронная база данных детей с онкологическими заболеваниями с системой поддержки принятия врачебных решений: новая эра информатизации	297
Сабельникова Ж.Е., Сарычева М.М., Мозерова Е.Я., Ложков А.А. Оценка эффективности лучевой терапии при лечении метастазов в головной мозг рака молочной железы с учетом биологического подтипа	301
Сарычева М.М., Карабут Р.Ю., Важенин И.А., Мозерова Е.Я., Ложков А.А., Жумабаева А.Т. Роль стереотаксической лучевой терапии в лечении пациентов с метастазами колоректального рака в печень	304
Сиденко Е.А. Экспрессия мРНК кальпаинов при предопухолевых и опухолевых заболеваниях гортани	307
Ситников П.К., Анисеня И.И., Табакаев С.А., Фролова И.Г., Богоутдинова А.В., Сапунова Л.С., Федоров А.А., Хакимов Х.И. Реконструкции пострезекционных дефектов у больных с опухолевым поражением костей	310
Скурихина В.Е., Костромицкий Д.Н. Роль активности протеасом в прогнозе неблагоприятного исхода немелкоклеточного рака легкого	312
Собенин В.Г., Купчин А.В., Пономарев А.В., Кельн А.А. Органосохраняющие операции при почечно-клеточном раке	315
Субботина К.В. Исследование эффективности применения молекулярно-генетических тестов для диагностики сарком Юинга и примитивных нейроэктодермальных опухолей	318
Табакаев С.А., Фролова И.Г., Слонимская Е.М., Величко С.А., Ситников П.К., Богоутдинова А.В., Анисеня И.И., Сапунова Л.С. Компьютерная томография в оценке эффективности таргетной терапии деносумабом у пациентов с гигантоклеточной опухолью кости	321
Тимофеева С.В., Филиппова С.Ю., Межевова И.В., Шамова Т.В., Ситковская А.О. Источник биоматериала для <i>in vivo</i> -подобной модели глиальных опухолей	323
Толпейкина К.А. Роль скintiграфии в диагностике дифференцированного рака щитовидной железы с метастазами в легкие	324

Трусов А.А., Колегова Е.С. Прогностическая роль актин-связывающих белков при метастазировании немелкоклеточного рака легкого	327
Урмонов У.Б., Костромицкий Д.Н. Комбинированное лечение рака пищевода	330
Федоров А.А. Сравнение свойств моноцитов и опухолеассоциированных макрофагов у больных раком легкого	333
Хакимов Х.И., Богоутдинова А.В., Анисеня И.И., Ситников П.К., Федоров А.А., Табакаев С.А. Новые подходы комбинированного лечения костных метастазов светлоклеточного почечно-клеточного рака	336
Цыганов М.М., Ибрагимова М.К., Певзнер А.М. Полнотранскриптомный анализ экспрессии генов в опухоли молочной железы с амплификацией длинного плеча 8 хромосомы	338
Чемакина А.А., Сальников М.А., Кельн А.А., Суриков А.С. Комплексное лечение III стадии рака предстательной железы	341
Шевченко Т.А., Вагинская Н.С., Мельник С.Ю., Полушкин П.В., Троценко С.Д. Различные режимы фракционирования при проведении лучевой терапии у пациентов с внутримозговыми метастазами	344

ПСИХИАТРИЯ И НАРКОЛОГИЯ

Аркуша И.А. Клиническая типология тревожного расстройства сепарации у взрослых амбулаторных пациентов с непсихотическими психическими расстройствами	347
Бадалов А.А. Смена парадигм в психиатрии: к развитию учения Ю.Л. Нуллера об эволюционном подходе в клинике комбинированных форм психопатологических диатезов	350
Васильченко К.Ф., Литав Н.Н., Напалков И.В. Внутренняя стигма и критические способности пациентов при шизофрении	353
Вялова Н.М. Связь полиморфных вариантов генов нейротрофических факторов <i>BDNF</i> , <i>NGF</i> , <i>NRG1</i> с клинической ремиссией у пациентов с депрессивными расстройствами	356
Галкин С.А. Функциональная связность и уровень нейрофиламентов при коморбидности алкогольной зависимости и аффективных расстройств	358
Герасимова В.И., Гончарова А.А. Взаимосвязь между висцеральным ожирением и суицидальным риском у больных шизофренией в зависимости от вида получаемой антипсихотической терапии ...	361
Гончарова А.А., Дмитриева Е.М. Показатели уровня свободного глутамата у больных шизофренией, получающих атипичные антипсихотики, с наличием и отсутствием акатизии	364
Дмитриева Е.Г. Сравнительный анализ качества жизни комплаентных и некомплаентных пациентов с шизофренией	367
Дмитриева Е.М. Сравнительная функциональная характеристика протеомного профиля больных разными формами шизофрении	370
Дубровская В.В. Адаптационные возможности пациентов с шизофренией и сопутствующим метаболическим синдромом	373
Епимахова Е.В., Бойко А.С., Левчук Л.А. Концентрация миелопероксидазы и хемокина RANTES в сыворотке крови пациентов с коморбидным течением алкогольной зависимости и аффективного расстройства	376
Ермаков Е.А. Каталитические антитела как маркеры нейровоспаления при шизофрении	378
Ефремов И.С., Асадуллин А.Р., Ахметова Э.А. Ассоциация бессонницы и тревоги у лиц, страдающих алкогольной зависимостью	381
Ильченко Е.Г. Динамика клинко-психопатологических характеристик в психотерапевтическом лечении пациентов с невротическими расстройствами в процессе аналитико-катартической терапии	383
Кадачегоев А.С., Максимова И.В. Влияние заболеваний сердечно-сосудистой системы на клинические проявления параноидной шизофрении	386
Коваль Ю.Н., Манчук В.Т., Смирнова О.В. Атеросклероз как профессиональное заболевание	389
Косогова А.И., Шапошникова Ю.В. Возможности использования стандартных шкал измерения интеллекта у детей с расстройством аутистического спектра	391
Левчук Л.А. Содержание нейрон-специфической енолазы и белка S-100 у пациентов с синдромом зависимости от алкоголя и депрессивными расстройствами	394
Меднова И.А., Чалова П. Оценка содержания длинноцепочечных ацилкарнитинов при шизофрении, ассоциированной с метаболическим синдромом	397

Мухторов Б.О., Rogov A.B. Некоторые аспекты клинико-динамического профиля больных с постшизофренической депрессией	400
Падерина Д.З., Тигунцев В.В., Бойко А.С. Роль генов нейромедиаторных систем в развитии лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии	404
Паршукова Д.А., Гончарова А.А., Казанцева Д.В., Васильева А.Р. Сывороточные антитела к основному белку миелина при шизофрении: протеолитические свойства с учетом клинических особенностей заболевания	407
Петров А.А. Апробация комплексных программ терапии проблемного использования Интернета у пациентов с расстройствами личности	410
Пожидаев И.В., Бойко А.С. Исследование роли глутаматных рецепторов в патогенезе tardивной дискинезии у пациентов с шизофренией	413
Приводнова Е.Ю., Меркулова Е.А., Билик В.Б. Исследование возможности использования образных креативных задач в качестве когнитивного тренинга в пожилом возрасте	416
Rogov A.B., Абдуллаева В.К. Характеристики стратегии выбора у больных параноидной шизофренией с сопутствующими вирусными гепатитами	419
Рощина О.В., Розин А.И. Клинико-динамические особенности течения аффективных расстройств в «чистом» виде и в коморбидности с алкогольной зависимостью	422
Сексенбаев Н.Ж., Калиева А.А., Молдагалиев Т.М., Ермекбаев А.У. Аддиктивное поведение (поведенческие зависимости) личности как предиктор формирования суицидального риска у студентов медицинского профиля	425
Серегин А.А., Жакова Л.П. Количественная оценка ряда белков сыворотки крови, выявленных с помощью масс-спектрометрии, при биполярном аффективном расстройстве	428
Серенко Е.В., Княжева М.А. Коррекция агрессивноподобного поведения модулированными <i>in vitro</i> иммунокомпетентными клетками	431
Смолянкин Д.А., Байгильдин С.С., Каримов Д.Д., Зиятдинова М.М., Кудояров Э.Р., Якупова Т.Г. Изучение особенностей этанолиндукцированных нарушений поведения у белых аутбредных мышей в динамике эксперимента	434
Тарасова А.В. Нозогенные реакции у женщин, страдающих онкопатологией молочной железы	438
Тигунцев В.В., Падерина Д.З. Ассоциация полиморфных вариантов генов триптофангидроксилазы с антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемией у больных шизофренией	440
Фаттахов Н.С., Бойко А.С., Паршукова Д.А. Исследование ассоциации полиморфизмов гена NOS3 и антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии при шизофрении	443
Фомин Д.И., Позорелова Е.И., Панина О.А. Психолого-педагогические аспекты обучения студентов в современных условиях	445
Шапошникова Ю.В., Косогова А.И. Обоснованность диагноза умеренная умственная отсталость у детей и подростков в психоневрологических интернатах	448
Юков О.С. Исследование манифестной симптоматики в рамках первого приступа шизофрении, спровоцированного приемом новых потенциально опасных психоактивных веществ	451

ФАРМАКОЛОГИЯ И РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА

Айтымов С.Д., Ахаева М.А., Турарова Б.К. Систематичный анализ эффективности и безопасности применения плазмы, обогащенной тромбоцитами, у женщин с тонким эндометрием, рефрактерным к стандартному лечению	455
Аль-Кубайси Ш.-А.С., Шейранов Н.С., Афонькин А.А., Ширманкина М.В., Калабкин Е.А. Метаболическая терапия в коррекции состояния системы гемостаза при механической желтухе	456
Бабиков В.Ю. Использование совмещения диагностических изображений и количественная обработка МР-томографии с парамагнитным контрастным усилением и ОФЭКТ с ^{99m} Tc-Технетрилом в прогнозировании выживаемости у лиц с опухолевыми поражениями центральной нервной системы и грудной клетки	460
Байкалов Г.И. Изучение кардиотропного действия иммобилизованных субтилизинов	463
Белинская Д.А., Воронина П.А., Баталова А.А. Влияние бензодиазепинов на взаимодействие сывороточного альбумина человека с фосфорорганическими соединениями по данным молекулярного моделирования	465
Бердникова Т.И., Дорошенко О.С. Антидепрессивный и хронофармакологический эффекты литийсодержащего экстракта лабазника вязолистного (<i>Filipendula ulmaria</i>)	469

Гостюхина А.А., Ярцев В.В., Прокопова А.В. Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на адаптивные реакции лабораторных крыс в условиях световых десинхронозов и физической нагрузки	471
Григорьева В.А., Камалова С.И. Отдаленные гонадотоксические эффекты метотрексата на сперматогенные клетки экспериментальных животных	474
Гришкова Г.В., Рыбалкина О.Ю., Федорова Е.П., Ульрих А.В., Исайкина Н.В. Влияние экстракта плодов рябины обыкновенной (<i>Sorbus aucuparia</i> L.) на эффективность химиотерапии у мышей с карциномой легких Льюис с индуцированным анемическим синдромом	477
Дорошенко О.С., Прокопова А.В., Гостюхина А.А. Биохимические показатели сыворотки крови у крыс при аллоксан-индуцированном диабете и его коррекции клетками костного мозга	480
Дунаева О.И. Поиск соединений, перспективных для фармакотерапии артериальной гипертензии	483
Запекин С.Г., Шапошников К.В., Суслов Н.И., Кульпин П.В., Фёдорова Ю.С. Преимущества методики регистрации ультразвуковых вокализаций при исследовании анксиолитической активности фармакологических субстанций	485
Лигачёва А.А., Кривощёков С.В., Ровкина К.И., Зыкова А.В., Святкина А., Исаков Д.А., Мамедова В.Э. Влияние водорастворимых полисахаридов, выделенных из высших растений, на баланс аргинина в перитонеальных макрофагах	489
Максимова А.А., Тыринова Т.В., Ращупкин И.М. Разнонаправленные эффекты M1 и M2 макрофагов человека на экспрессию α -SMA дермальными миофибробластами	493
Мешкова Ю.В., Низомов С.А., Сорокина И.В., Жукова Н.А., Просенко О.И., Кандалинцева Н.В., Толстикова Т.Г. Влияние (3,5-диметил-4-гидрокси)бензилтиододекана на метаболический профиль сыворотки крови крыс в модели доброкачественной гиперплазии предстательной железы	496
Мочалова В.М., Гостюхина А.А. Регенерация кожи крыс при термических ожогах и после коррекции костномозговыми клетками	498
Низомов С.А., Мешкова Ю.В., Сорокина И.В., Жукова Н.А., Толстикова Т.Г., Просенко О.И., Кандалинцева Н.В. Протективные эффекты (3,5-диметил-4-гидрокси)бензилтиододекана в предстательной железе крыс в модели доброкачественной гиперплазии простаты, индуцированной тестостероном	502
Озерская А.В., Белугин К.В., Бадмаев О.Н., Ларькина М.С., Подрезова Е.В. Разработка методов синтеза радиофармацевтических лекарственных препаратов, меченных радионуклидом фтор-18	505
Олейник Л.А., Кихтенко Н.А. Исследование влияния курсового внутрижелудочного введения пегилированного интерферона- λ 1 на активность иммунных клеток у мышей	507
Прокопова А.В., Гостюхина А.А. Состояние поджелудочной железы при коррекции аллоксан-индуцированного сахарного диабета клетками костного мозга	511
Ульрих А.В., Рыбалкина О.Ю. Коррекция токсического действия циклофосфана на периферическую кровь мышей с карциномой лёгких Льюис высоконасыщенными экстрактами <i>Sorbus aucuparia</i> L.	515
Филонова М.В., Федорова Е.П., Чурин А.А. Влияние экстракта из культуры клеток болиголова пятнистого на коагуляционное звено гемостаза аутобредных мышей на фоне действия цисплатина	518
Шейранов Н.С., Афонькин А.А., Реева О.В., Ширманкина М.В., Али Фуад Ф.А., Аль-Анбари С.Т. Значение защиты печени в результативности коррекции эндотоксикоза	522

Партнеры Конгресса:

Генеральный спонсор



Ассоциация онкологических организаций
Сибири и Дальнего Востока

Спонсоры



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