

Возможность использования тела Гоффа в качестве источника аутологичных стволовых клеток

А.В. Корель¹, И.И. Ким², Е.Л. Строкова¹, Н.Ю. Пахомова¹, А.Ф. Гусев¹, А.М. Зайдман¹

¹ Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

² НИИ клинической и экспериментальной лимфологии –
филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Резюме

Стволовые клетки являются основой для создания тканеинженерных конструкций в регенеративной медицине. Наиболее хорошо изученные источники стволовых клеток – эмбрион и костный мозг. Использование эмбриональных клеток связано с этическими проблемами, забор костного мозга сопровождается инвазивными процедурами. Использование жировой ткани в качестве источника стволовых клеток позволяет обойти эти проблемы, но ее забор требует дополнительных вмешательств, что не исключает возникновения косметических дефектов. Цель исследования – изучить возможность применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК), выделенных из жирового тела Гоффа. **Материал и методы.** В качестве источника МСК использовали удаляемые во время операции образцы ткани тела Гоффа (8 случаев), в качестве контроля – МСК, полученные из жировой ткани человека (6 случаев). МСК выделяли по ферментативной методике. На третьем пассаже методом проточной цитометрии выполняли фенотипирование со специфическими антителами против CD34, CD45, CD73, CD90, CD105. Дифференцировку в хондро- и остеогенном направлении проводили на третьем пассаже соответствующими дифференцировочными средами. Хондрогенную дифференцировку подтверждали окраской альциановым синим, остеогенную – окраской по фон Косса. **Результаты и их обсуждение.** Обнаружено достоверное снижение уровня экспрессии CD105, увеличение экспрессии CD73, CD34 и отсутствие адекватной дифференцировки в стандартных условиях дифференцировочных сред МСК, выделенными из тела Гоффа, по сравнению с контролем. Полученные данные указывают на несоответствие клеток, выделяемых из тела Гоффа, требованиям, предъявляемым к МСК. **Заключение.** Тело Гоффа не может использоваться в качестве источника стандартизованных МСК.

Ключевые слова: тело Гоффа, жировая ткань, CD-маркеры, дифференцировка, мезенхимальные стволовые клетки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Гусев А.Ф., e-mail: agusev@niito.ru

Для цитирования: Корель А.В., Ким И.И., Строкова Е.Л., Пахомова Н.Ю., Гусев А.Ф., Зайдман А.М. Возможность использования тела Гоффа в качестве источника аутологичных стволовых клеток. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (6): 4–11. doi: 10.15372/SSMJ20200601

Possibility of using the infrapatellar (Hoffa's) fat pad as a source of autologous stem cells

A.V. Korel¹, I.I. Kim², E.L. Strokovaya¹, N.Yu. Pakhomova¹, A.F. Gusev¹, A.M. Zaydman¹

¹ Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics n.a. Ya.L. Tsivyan
630091, Novosibirsk, Frunze str., 17

² Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –
Branch of Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

Abstract

Stem cells are the basis for the creation of tissue-engineered structures in regenerative medicine. The most well-studied sources of stem cells are the embryo and bone marrow. The use of embryonic cells is associated with ethical problems, and the collection of bone marrow is accompanied by invasive procedures. Using adipose tissue as a source of stem cells avoids these problems. But the collection of adipose tissue requires additional interventions, which does not exclude the occurrence of cosmetic defects. Aim of the study was to investigate the possibility of using mesenchymal stem cells (MSCs) isolated from the infrapatellar (Hoffa's) fat pad. **Material and methods.** As a source of MSCs, tissue samples of Hoffa's fat pad removed during the operation were used (8 cases), as a control – MSCs isolated from human adipose tissue (6 cases). MSCs were isolated using an enzymatic method. At the 3rd passage, phenotyping with specific antibodies against CD34, CD45, CD73, CD90, CD105 was performed by flow cytometry. Differentiation in the chondro- and osteogenic direction was carried out at the 3rd passage with the appropriate differentiation media. Chondrogenic differentiation was confirmed by staining with alcian blue, osteogenic – staining according to von Kossa. **Results and discussion.** Statistically significant decrease in CD105 expression, increase in CD73, CD34 expression and lack of adequate differentiation under standard conditions of differentiation media by MSCs isolated from the Hoffa's fat pad compared to control was found. The data obtained indicate a discrepancy between the cells isolated from the Hoffa's fat pad and the requirements for MSCs. **Conclusion.** The infrapatellar (Hoffa's) fat pad cannot be used as a source of standardized MSCs.

Key words: infrapatellar (Hoffa's) fat pad, adipose tissue, CD markers, differentiation, mesenchymal stem cells.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Gusev A.F., e-mail: agusev@niito.ru

Citation: Korel A.V., Kim I.I., Strokova E.L., Pakhomova N.Yu., Gusev A.F., Zaydman A.M. Possibility of using the infrapatellar (Hoffa's) fat pad as a source of autologous stem cells. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (6): 4–11. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200601

Введение

Тканевая инженерия – одно из перспективных направлений репаративной медицины. Ее основной задачей является создание конструкций, отвечающих требованиям: полностью восполнять объем утраченной ткани, обладать высокой регенеративной способностью за счет наличия клеток, способных к пролиферации, тканеспецифическому синтезу и формированию ткани *de novo*, а также обладать иммунореактивностью. Стволовые клетки представляют собой многообещающий источник для лечения широкого спектра заболеваний, особенно тех, при которых разрушенные клетки или ткани необходимо заменить новыми. Классическими источниками стволовых клеток являются эмбриональная ткань и костный мозг, однако работа с ними осложнена [1]: использование клеток, выделенных из эмбрионов, связано с этическими проблемами, забор костного мозга предполагает инвазивные и болезненные процедуры. В поисках наиболее подходящего источника стволовых клеток была предложена жировая ткань. Забор осуществляется из ткани взрослых пациентов при наличии их информированного согласия (отсутствие этических запретов) с минимальными болевыми ощущениями, в большинстве случаев эта ткань выбрасывается (косметические процедуры липосакции при ожирении). Мезенхимальные стволовые клетки

(МСК), выделенные из жировой ткани, обладают способностью дифференцироваться во множество клеточных линий [2].

Стволовые клетки из жировой ткани обладают дополнительными преимуществами по сравнению со стволовыми клетками из костного мозга, в частности, их относительное количество намного больше: только от 0,001 до 0,01 % мононуклеарных клеток в костном мозге являются стволовыми [3], а из 1 г жировой ткани можно выделить 5×10^3 МСК, т.е. в 500 раз больше [4]. Таким образом, МСК, полученные из жировой ткани, являются наиболее подходящей популяцией стволовых клеток для нужд практической регенеративной медицины, так как практически лишены недостатков, присущих эмбриональным стволовым и индуцированным плюрипотентным клеткам. Аутологичное происхождение исключает иммуногенность.

Тело Гоффа представляет собой рыхлую дольчатую ткань, которая располагается впереди, под коленной чашечкой, в синовиальных крыловидных складках между бедренной и большеберцовой костью. Основными функциями этой ткани являются защита костей коленного сустава (она располагается в складках синовиальной оболочки, которые прикрывают поверхности, лишенные хряща), амортизация (уменьшает трение, помогает мягко и равномерно распределить вес, нагрузку), участие в обмене веществ. В результате

травм и чрезмерной нагрузки возникает асептический воспалительный процесс, который приводит к болезни Гоффа: формирование фиброзных рубцов; разрастание жирового тела; нарушения подвижности сустава [5, 6]. Впервые эту болезнь охарактеризовал немецкий ортопед Albert Hoffa в 1904 г. (синдром Гоффа – Кастерта, травматический липоартрит) [5, 7]. Вместе с тем было решено исследовать тело Гоффа как источник МСК для формирования тканеспецифичных конструкций.

Цель настоящей работы – исследование возможности использования стволовых клеток, выделяемых из тела Гоффа, для создания тканеинженерных конструкций.

Материал и методы

Работа выполнена в рамках НИР «Разработка биомедицинских регенерирующих имплантатов для травматологии и ортопедии», рег. № АААА-А18-118030690022-4, одобрена на заседании локального этического комитета Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна МЗ РФ (выписка из протокола заседания ЛЭК: 014/17-2 от 25.05.2017). У всех пациентов было взято информированное согласие на участие в исследовании. В качестве источника МСК использовали удаляемые во время операции образцы ткани тела Гоффа (7 случаев в возрасте от 64 лет до 71 года и один – 37 лет). Для сравнения были выделены МСК из жировой ткани области спины (3 случая, здоровые люди 21–56 лет, операция по липосакции) и живота (3 случая, здоровые лица 40–64 лет, операция по липосакции), материал был объединен в группу «подкожный жир». Выделение МСК производилось по ферментативной методике [8]. Посев клеток осуществляли с плотностью 6×10^4 клеток/см² на желаемый размер культурального флакона со средой, содержащей DMEM/F12, 10 % фетальной бычьей сыворотки (FBS) и 1 % пенициллина и стрептомицина. Флаконы термостатировали в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °C и 5 % CO₂, клетки пассировали один раз в трое суток. Фотодокументирование осуществляли прижизненно в условиях фазового контраста при помощи инвертированного микроскопа CX-40 (Olympus Corporation, Япония).

Клеточный материал, выделенный из жировой ткани, фенотипировали на третьем–пятом пассаже методом проточной цитометрии со специфическими антителами против CD34, CD45, CD73, CD90, CD105 с помощью цитофлуориметра FACSCanto II (BD Biosciences, США).

Дифференцировку в остео- и хондрогенном направлении проводили на третьем пассаже ком-

мерческими дифференцировочными средами (соответственно MesenCult® Osteogenic Stimulatory Kit (Human) и MesenCult™-ACF Chondrogenic Differentiation Kit (Human), Канада) по протоколам производителя в течение 21 дня в чашках Петри диаметром 100 мм (Techno Plastic Products AG, Швейцария), на дно которых укладывали покровные стекла для последующих морфологических исследований клеток в процессе культивирования. Среда меняли один раз в трое суток. После 21 суток инкубирования клетки дважды промывали забуференным 0,9%-м раствором NaCl (без Ca⁺⁺ и Mg⁺⁺), настилали 10%-й формалин и фиксировали в течение 15 мин при комнатной температуре. Затем удаляли раствор формалина, дважды отмывали клетки деионизованной водой и окрашивали для выявления направления дифференцировки. Хондрогенную дифференцировку подтверждали окраской альциановым синим (pH 2,5), остеогенную – окраской по фон Косса. Оценку морфологических характеристик выделенных клеток проводили под микроскопом Carl Zeiss (Германия).

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), среднееквадратическое отклонение (SD), и представляли в виде $M \pm SD$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Манна – Уитни, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты

Все исследованные образцы имели хорошую адгезию к культуральному пластику. При исследовании в фазовом контрасте в чашках Петри с МСК, выделенными из области спины и абдоминальной области, клетки имели вытянутую узкую цитоплазму и удлиненное ядро, также наблюдались фибробластоподобные клетки с овальным ядром (рис. 1, а). На первых пассажах в линиях МСК, выделенных из тела Гоффа, помимо клеток с узкой цитоплазмой и удлиненным ядром и фибробластоподобных клеток с овальными ядрами наблюдалось большое количество «звездчатых» клеток округлой формы с множественными выростами цитоплазмы и округлым ядром, которые при культивировании полностью не элиминировались из культуры клеток (рис. 1, б).

МСК, выделенные из тела Гоффа, экспрессировали маркеры CD73 и CD34 в большей степени, чем полученные из подкожного жира (таблица, рис. 2, 3), в то время как маркер CD105 – в меньшей степени; в отношении экспрессии CD90 статистически значимого различия не выявлено.

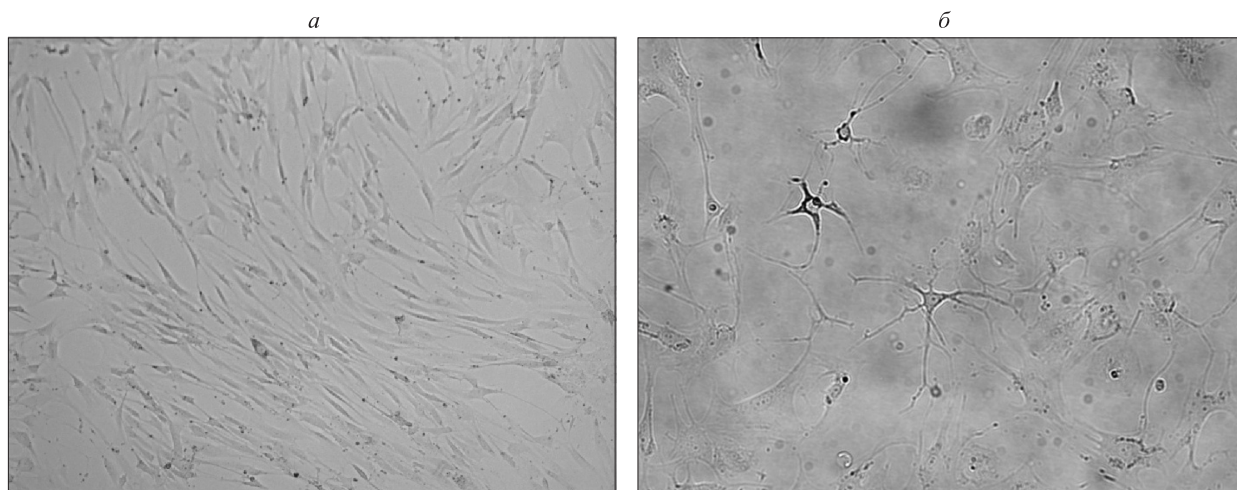


Рис. 1. МСК, выделенные из жировой ткани абдоминальной области (а) и жировой ткани тела Гоффа (б). Фазовый контраст. Увеличение $\times 200$

Fig. 1. MSCs isolated from adipose tissue of the abdominal region (a) and from adipose tissue of the Hoffa's fat pad. Phase contrast. Magnification $\times 200$

Обнаружено снижение дифференцировочного потенциала МСК, выделенных из тела Гоффа. В ходе инкубирования обеих клеточных линий в хондрогенной дифференцировочной среде клетки постепенно приобретали характерный для хондробластов фенотип: округлую форму с небольшими цитоплазматическими отростками, центрально расположенное ядро с 1–2 ядрышками. После инкубирования МСК, выделенных из тела Гоффа, в хондрогенной среде в течение 21 дня наблюдались редкие слабо альциан-позитивно окрашенные участки межклеточного матрикса (рис. 4, а), в то время как для МСК, выделенных из подкожного жира, характерен интенсивно окрашенный матрикс (рис. 4, б).

МСК, выделенные из тела Гоффа и из подкожного жира, были помещены в остеогенную дифференцировочную среду на 21 день. В ходе дифференцировки клетки приобрели следующий фенотип: призматическую форму с тонкими цитоплазматическими отростками, крупным овальным ядром с 1–2 ядрышками. При окраске

клеток по фон Косса, выделенных из тела Гоффа, выявлены редкие гранулы кальция (рис. 5, а), в полученных из подкожного жира регистрировались крупные многочисленные гранулы кальция и крупные кальцификаты (рис. 5, б).

Обсуждение

В связи с развитием в последние годы клеточной и тканевой терапии потребности в стволовых клетках значительно возросли. Особенно широкое распространение получила жировая ткань как надежный источник МСК, способных в культуральных средах дифференцироваться в клетки соединительнотканного дифферона (хондро- и остеобласты). С этих позиций казалось полезным использовать жировое тело Гоффа, которое удаляется во время операций, т.е. его получение не требует дополнительных вмешательств. Как показали результаты исследования, клетки, выделенные из тела Гоффа, существенно отличаются от МСК, полученных из подкожной жировой ткани.

Таблица. Результаты CD-типирования клеток МСК, выделенных из тела Гоффа, области спины и из абдоминальной области

Table. Results of CD typing of MSC cells isolated from the Hoffa's fat pad, back and abdominal areas

CD-маркер, %	Тело Гоффа	Область спины живота	<i>p</i>
CD90	90,01 $\pm$ 12,34	95,85 $\pm$ 1,95	0,393
CD73	98,06 $\pm$ 2,98	94,05 $\pm$ 1,52	0,017
CD105	71,86 $\pm$ 21,88	94,82 $\pm$ 1,27	0,040
CD34	2,43 $\pm$ 2,76	0,11 $\pm$ 0,04	0,001

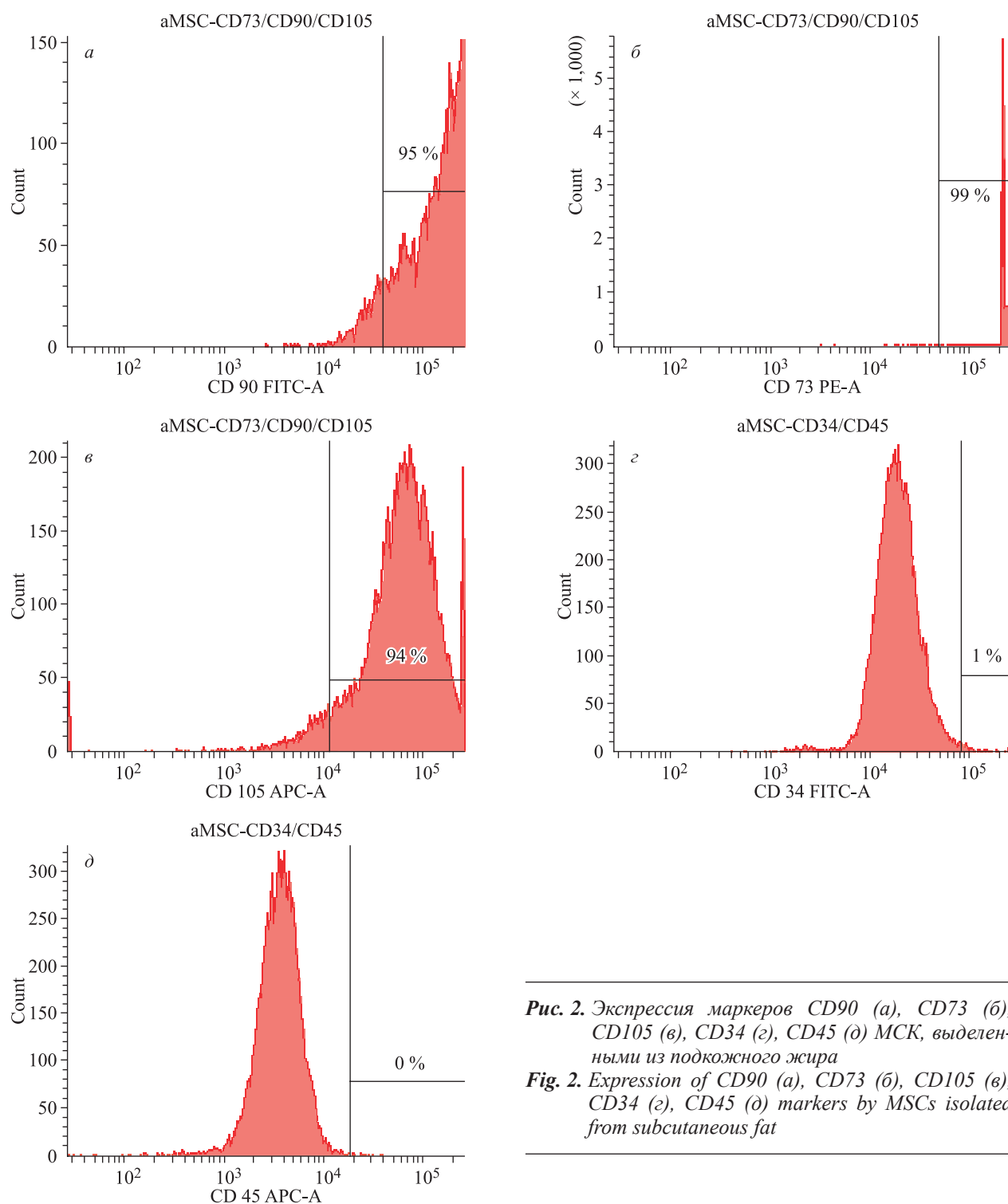


Рис. 2. Экспрессия маркеров CD90 (а), CD73 (б), CD105 (в), CD34 (з), CD45 (д) МСК, выделенными из подкожного жира

Fig. 2. Expression of CD90 (a), CD73 (б), CD105 (в), CD34 (з), CD45 (д) markers by MSCs isolated from subcutaneous fat

Клетки, выделенные из тела Гоффа и подкожной жировой ткани, имели хорошую адгезию к культуральному пластику. К третьему пассажу МСК, выделенные из подкожной жировой ткани, образовывали хороший монослой однородных фибробластоподобных клеток, тогда как в культурах МСК, полученных из тела Гоффа, помимо фибробластоподобных клеток встречались звездчатые клетки, предположительно макрофаги (см. рис. 2, б).

Данные проточной цитометрии указывают на достоверное снижение экспрессии маркера CD105 и значимое увеличение экспрессии CD73 и CD34 МСК, выделенными из тела Гоффа, по сравнению с экспрессией соответствующих маркеров МСК, полученными из подкожной жировой ткани; величины последних соответствуют стандартам Международного общества клеточной терапии (ISCT) [9], величины первых – не

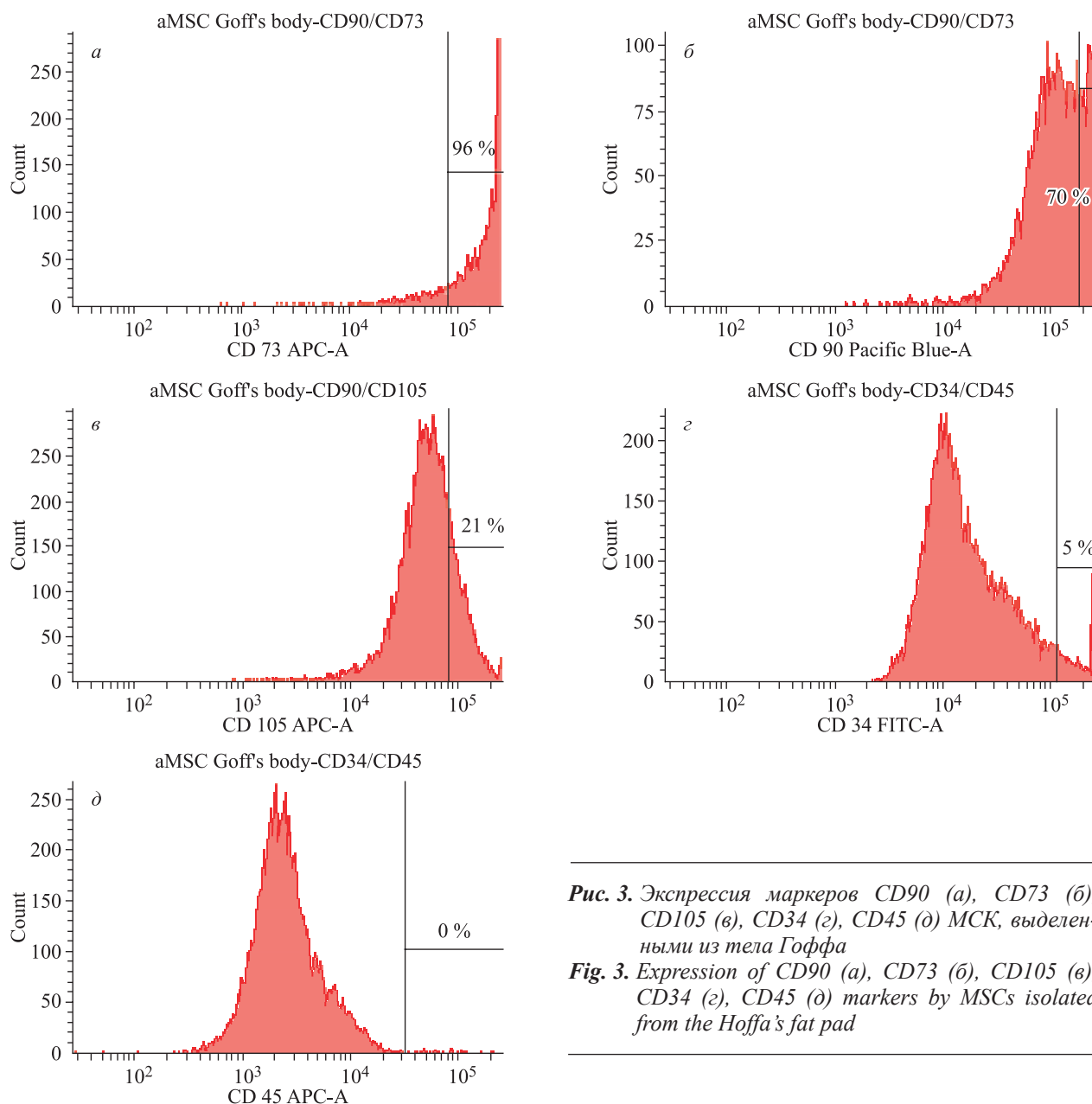


Рис. 3. Экспрессия маркеров CD90 (а), CD73 (б), CD105 (в), CD34 (г), CD45 (д) МСК, выделенными из тела Гоффа

Fig. 3. Expression of CD90 (a), CD73 (б), CD105 (в), CD34 (г), CD45 (д) markers by MSCs isolated from the Hoffa's fat pad

соответствуют, что связано с особенностями структуры и функции тела Гоффа. Повышение экспрессии CD34 может указывать на неоднородность выделяемого из тела Гоффа клеточного пула: большое количество примитивных гемопоэтических и эндотелиальных клеток, преадипоцитов. Кроме того, у выделенных из жировой ткани тела Гоффа нарушены дифференцировочные и синтетические потенции, что связано с метаболической неполноценностью или особенностью ее функций.

Таким образом, полученные результаты указывают на несоответствие клеток, выделяемых из тела Гоффа, требованиям Международного общества клеточной терапии, предъявляемым к МСК [9]. Исходя из этого, тело Гоффа не может рассма-

триваться в качестве источника стандартизованных МСК для создания аутологичных тканеинженерных конструкций с заданными стандартными характеристиками.

Выводы

1. Клетки, выделенные из жировой ткани тела Гоффа, в культуральной среде помимо МСК содержат примеси гемопоэтических, эндотелиальных клеток и преадипоцитов.

2. МСК, выделенные из жировой ткани тела Гоффа, имеют низкий дифференцировочный и синтетический потенциал, что не позволяет использовать их для создания тканеинженерных конструкций.

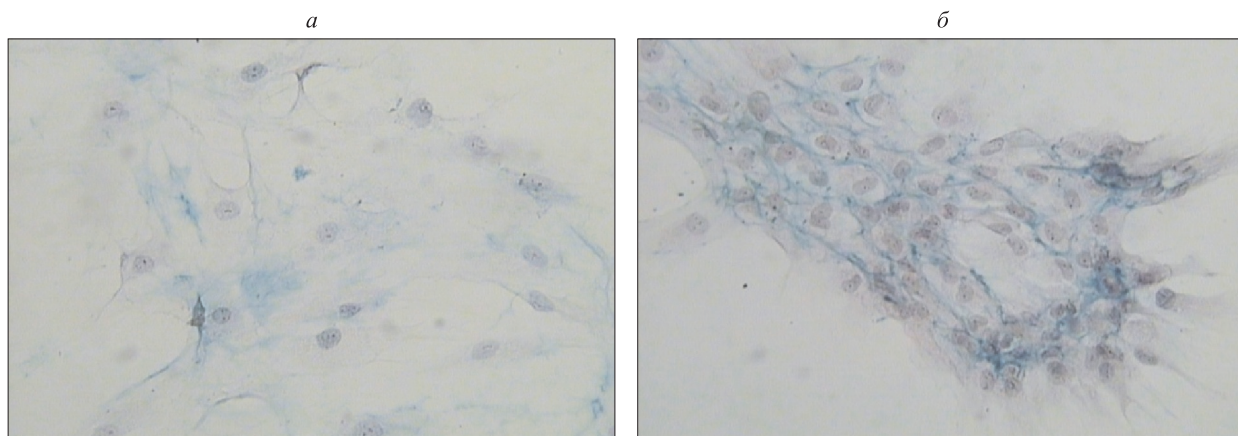


Рис. 4. Культура МСК, выделенных из тела Гоффа (а) и жировой ткани абдоминальной области (б), третий пассаж, 21 день культивирования в хондрогенной дифференцировочной среде. Окраска альциановым синим. Увеличение $\times 200$

Fig. 4. Culture of MSCs isolated from Hoffa's body (a) and from adipose tissue of the abdominal region (b), passage 3, 21 days of cultivation in a chondrogenic differentiation medium. Staining with alcian blue. Magnification $\times 200$

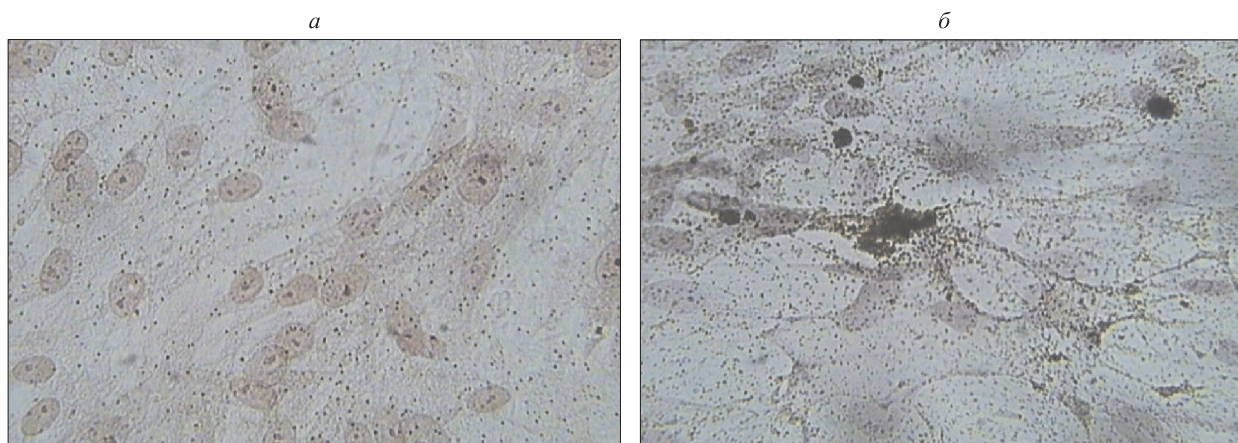


Рис. 5. Культура МСК, выделенных из тела Гоффа (а) и жировой ткани абдоминальной области (б), третий пассаж, 21 день культивирования в остеогенной дифференцировочной среде. Окраска по фон Косса. Увеличение $\times 200$

Fig. 5. Culture of MSCs isolated from Hoffa's body (a) and from adipose tissue of the abdominal region (b), passage 3, 21 days of cultivation in an osteogenic differentiation medium. Staining according to von Kossa. Magnification $\times 200$

3. Жировая ткань тела Гоффа не может использоваться в качестве источника стандартизованных МСК для регенеративной медицины.

Список литературы / References

1. Lenoir N. Europe confronts the embryonic stem cell research challenge. *Science*. 2000; 287 (5457): 1425–1427. doi: 10.1126/science.287.5457.1425
2. Мовчан К.Н., Романенков Н.С. Методики выделения мезенхимальных стволовых клеток из аутологичной жировой ткани. *Соврем. пробл. науки и образования*. 2016; (2). Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24416>

Movchan K.N., Romanenkov N.S. Adipose derived stem cells isolation techniques. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*. 2016; (2). [In Russian]. Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24416>

3. Mizuno H. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine in the field of plastic and reconstructive surgery. *Journal of Oral Biosciences*. 2013; 55 (3): 132–136. doi: 10.1016/j.job.2013.04.005

4. McDaniel J.S., Antebi B., Pilia M., Hurtgen B.J., Belenkiy S., Necsoiu C., Cancio L.C., Rathbone C.R., Batchinsky A.I. Quantitative assessment of optimal bone marrow site for the isolation of porcine mesenchy-

mal stem cells. *Stem Cells Int.* 2017; 2017: 1836960. doi: 10.1155/2017/1836960

5. Стулов А.С., Тарасов А.Н. Диагностика болезни Гоффа методом магнитно-резонансной томографии. *Травматология и ортопедия России.* 2019; 25 (2): 134–140. doi: 10.21823/2311-2905-2019-25-2-134-140

Stulov A.S., Tarasov A.N. Diagnosis of Hoffa's disease by magnetic resonance imaging. *Travmatologiya i ortopediya Rossii = Traumatology and Orthopedics of Russia.* 2019; 25 (2): 134–140. [In Russian]. doi: 10.21823/2311-2905-2019-25-2-134-140

6. Higor G., Eric Y.C., Karen C.C., Christine B.C. MR imaging of extrasynovial inflammation and impingement about the knee. *Magn. Reson. Imaging Clin. N. Am.* 2014; 22 (4): 725–741. doi: 10.1016/j.mric.2014.07.011

7. Карасева Т.Ю., Карасев Е.А., Островских Л.А. Современные методы диагностики и лечения боль-

ных с синдромом Гоффа–Кастерта. *Гений ортопедии.* 2008; 2: 81–83.

Karaseva T.Yu., Karasev E.A., Ostrovskikh L.A. The current techniques of diagnostics and treatment of patients with Hoffa–Kastert syndrome. *Geniy ortopedii = Genius of Orthopaedic.* 2008; 2: 81–83. [In Russian].

8. Chen Y.J., Liu H.Y., Chang Y.T., Cheng Y.H., Mersmann H.J., Kuo W.H., Ding S.T. Isolation and differentiation of adipose-derived stem cells from porcine subcutaneous adipose tissues. *J. Vis. Exp.* 2016; 109: e53886. doi:10.3791/53886

9. Dominici M., le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D.J., Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006; 8 (4): 315–317. doi: 10.1080/14653240600855905

Сведения об авторах:

Анастасия Викторовна Корель, к.б.н., ORCID: 0000-0002-2945-3658, e-mail: AKorel@niito.ru

Ирина Иннокентьевна Ким, к.м.н., ORCID: 0000-0002-7380-2763, e-mail: kii5@yandex.ru

Елена Леонидовна Строкова, ORCID: 0000-0002-5789-6982, e-mail: estroкова-1985-10-14@mail.ru

Наталья Юрьевна Пахомова, к.м.н., ORCID: 0000-0002-9575-4096, e-mail: NPahomova@niito.ru

Аркадий Федорович Гусев, к.м.н., ORCID: 0000-0003-1572-0089, e-mail: agusev@niito.ru

Алла Михайловна Зайдман, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-6613-1615, e-mail: AZaydman@niito.ru

Information about the authors:

Anastasia V. Korel, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-2945-3658, e-mail: AKorel@niito.ru

Irina I. Kim, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-7380-2763, e-mail: kii5@yandex.ru

Elena L. Strokovaya, ORCID: 0000-0002-5789-6982, e-mail: estrokovaya-1985-10-14@mail.ru

Natalia Yu. Pakhomova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9575-4096, e-mail: NPahomova@niito.ru

Arkady F. Gusev, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-1572-0089, e-mail: agusev@niito.ru

Alla M. Zaydman, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-6613-1615, e-mail: AZaydman@niito.ru

Поступила в редакцию 24.09.2020

Принята к публикации 05.10.2020

Received

24.09.2020

Accepted

05.10.2020

Анализ эффективности и безопасности лидокаина (обзор литературы)

А.В. Матвеев^{1,2}, А.Е. Крашенинников¹, Е.А. Егорова², Е.А. Матвеева²

¹ *Национальный научный центр Фармаконадзора
127051, г. Москва, Малая Сухаревская пл., 2, корп. 2*

² *Медицинская академия им. С.И. Георгиевского,
Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского
295051, г. Симферополь, б-р Ленина, 5/7*

Резюме

Аритмии сердца, являясь осложнениями многих заболеваний сердечно-сосудистой системы, достаточно часто приобретают непредсказуемое течение и могут служить причиной летального исхода. Согласно статистическим данным, нарушения ритма сердца ежегодно приводит к внезапной смерти около 200 тыс. людей в Российской Федерации. В США внезапная аритмическая смерть достигает около 400 тыс. амбулаторных и госпитальных пациентов, в Европе – около 280 тыс. пациентов. Стоит отметить, что непредсказуемость возникновения и скорость развития сердечных аритмий требуют проведения неотложных мероприятий, включающих как немедикаментозные (электрическая кардиостимуляция, электроимпульсная терапия), так и медикаментозные методы лечения. Данный обзор посвящен изучению клинических особенностей применения лидокаина у пациентов с желудочковыми тахикардиями. Представлены результаты исследований эффективности и безопасности применения лидокаина с целью терапии желудочковых тахикардий и фибрилляций желудочков (при отсутствии эффекта от электроимпульсной терапии) и их сравнение с другими антиаритмическими средствами (амиодарон, соталол, бретилий тозилат, новокаиномид), а также современные рекомендации ILCOR (Международный комитет по взаимодействию в области реанимации), АНА (Американская кардиологическая ассоциация), ECS (Европейское кардиологическое сообщество), Европейского общества по реанимации по лечению рефрактерных форм желудочковых аритмий и фибрилляций желудочков.

Ключевые слова: желудочковые аритмии, фибрилляция желудочков, лидокаин, антиаритмические средства.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Егорова Е.А., e-mail: elena212007@rambler.ru

Для цитирования: Матвеев А.В., Крашенинников А.Е., Егорова Е.А., Матвеева Е.А. Анализ эффективности и безопасности лидокаина (обзор литературы). *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (6): 12–22. doi: 10.15372/SSMJ20200602

Effectiveness and safety of lidocaine use (review)

A.V. Matveev^{1,2}, A.E. Krasheninnikov¹, E.A. Egorova², E.A. Matveeva²

¹ *National Scientific Center of Pharmacovigilance
127051, Moscow, Malaya Sukharevskaya sq., 2, bldg. 2*

² *Medical Academy n.a. S.I. Georgievsky, Crimean Federal University n.a. V.I. Vernadsky
295051, Simferopol, Lenina blvd., 5/7*

Abstract

Cardiac arrhythmias are complications of many cardiovascular diseases. They quite often acquire an unpredictable course and can result in the death. According to epidemiology data, heart rhythm disorders lead to the sudden death of about 200 thousand people in the Russian Federation annually. Sudden cardiac death overtakes about 400 thousand outpatients and hospital patients in the USA and about 280 thousand patients in Europe. The unpredictability of the occurrence and the transience of cardiac arrhythmias require urgent measures, including both non-pharmacological

(electrical pacing, electrical shock therapy) and pharmacotherapeutic methods of treatment. This review is devoted to the study of the clinical features of the lidocaine infusions in patients with ventricular arrhythmias caused by an increase of the conducting cardiomyocytes automatism. The article presents the results of comparative effectiveness and safety studies of lidocaine prescribed for the treatment of ventricular tachycardia and ventricular fibrillation (in the absence of the effect of electro-impulse therapy). Lidocaine is compared with other antiarrhythmic drugs such as amiodarone, sotalol, bretylium tosylate and procainamide. Recommendations of ILCOR (International Committee for Interaction in the Field of Resuscitation), AHA (American Cardiology Association), ECS (European Cardiology Society) and European Society for Resuscitation for the treatment of refractory forms of ventricular arrhythmias and ventricular fibrillation are also discussed.

Key words: ventricular arrhythmias, ventricular fibrillation, lidocaine, antiarrhythmic drugs.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Egorova E.A., e-mail: elena212007@rambler.ru

Citation: Matveev A.V., Krashenninnikov A.E., Egorova E.A., Matveeva E.A. Effectiveness and safety of lidocaine use (review). *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (6): 12–22. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200602

Введение

Аритмии сердца, являясь осложнениями многих заболеваний сердечно-сосудистой системы, достаточно часто приобретают непредсказуемое течение и могут являться причиной летального исхода. Согласно статистическим данным, нарушения ритма сердца ежегодно приводит к внезапной смерти около 200 тыс. людей в Российской Федерации [1]. В США внезапная аритмическая смерть наступает около 400 тыс. амбулаторных и госпитальных пациентов, в Европе – около 280 тыс. пациентов [2]. Стоит отметить, что непредсказуемость возникновения и скоротечность развития сердечных аритмий требуют проведения неотложных мероприятий, включающих как немедикаментозные, так и медикаментозные методы лечения. Особенно актуальным это становится при терапии желудочковых тахикардий (ЖТ) с неэффективным сердечным выбросом, ключевым моментом оказания помощи при которых является проведение дефибрилляции желудочков. Однако это не предотвращает вероятности развития устойчивости миокарда к электрическим импульсам и риска развития рецидивов аритмий. В подобной ситуации этап восстановления чувствительности миокарда к дефибрилляции желудочков становится невозможным без использования антиаритмических препаратов [3–7], основными из которых являются лидокаин, амиодарон и дифенин.

Лидокаин как препарат, относящийся к группе местных анестетиков, достаточно давно занял свое место в арсенале противоаритмических лекарственных средств. Классификация антиаритмических средств, предложенная Vaughan-Williams в 1970 г. в соответствии с ведущими элек-

трофизиологическими эффектами препаратов, позволила отнести лидокаин к антиаритмикам класса Ib, для которых характерно блокирование медленного тока ионов натрия в кардиомиоцитах, приводящее к подавлению повышенного автоматизма эктопических участков. Препарат влияет на скорость начальной деполяризации клеток системы Гиса – Пуркинье и миокарда желудочков. Преимуществом препарата можно считать отсутствие способности к угнетению функции проводимости миокарда и отрицательного инотропного действия, а также повышение его эффективности в условиях ишемии миокарда [8]. Фармакодинамические особенности позволяют использовать лидокаин как препарат для купирования и профилактики приступов пароксизмальной ЖТ и желудочковой экстрасистолы, особенно развивающихся на фоне инфаркта миокарда.

Данный обзор посвящен изучению клинических особенностей применения лидокаина у пациентов с фибрилляцией желудочков (ФЖ) и ЖТ с неэффективным сердечным выбросом.

Изучение клинических плацебо-контролируемых исследований лидокаина. В 1981 г. выполнено одно из первых исследований, в котором изучалась эффективность болюсного введения лидокаина в дозе 100 мг при развитии внегоспитальных ЖА на догоспитальном этапе. 116 пациентов были разделены на группу контроля (54 пациента) и группу лидокаина (62 пациента). В группе лидокаина на момент госпитализации аномальный ритм наблюдался у 28 человек (45 %), 15 больных (24 %) были помещены в отделение интенсивной терапии и 7 пациентов (11 %) в последующем были выписаны из стационара. В группе контроля 25 человек (46 %) поступили в лечебно-профилактическое учрежде-

ние (ЛПУ) с признаками ЖА, 8 больных (17 %) были помещены в отделение реанимации, при этом до момента выписки дожил один участник исследования (2 %) [9]. Полученные данные позволили выявить небольшое преимущество при применении лидокаина на догоспитальном этапе оказания медицинской помощи, что потребовало дальнейшего экспериментального изучения лекарственного препарата. В 1997 г. J. Herlitz et al., изучив эффективность лидокаина в 1360 случаях развития внебольничных ЖА в виде ФЖ, получили более выраженное восстановление ритма и выживаемости, чем при отсутствии вмешательств (соответственно 38 и 18 %, $p < 0,01$) [10].

В 2015 г. многочисленные разногласия в эффективности и безопасности используемых антиаритмических препаратов привели к иницированию масштабного клинического исследования ROC-ALPS. В данном многоцентровом рандомизированном исследовании, проведенном R.J. Kudenchuk et al., участвовали 3026 человек, которые были рандомизированы на три группы (амиодарон – 974 пациента, лидокаин – 993 пациента, плацебо – 1059 пациентов). Первичной конечной точкой исследователи считали количество выживших на момент выписки. Для группы лидокаина такой показатель составил 23,7 %, а в группе плацебо – 21,1 %. Таким образом, разница в показателях выживаемости составила 2,6 %, 95%-й доверительный интервал (95 % ДИ) – от –1,0 до 6,3 ($p = 0,16$). Второй конечной точкой являлся показатель выживаемости пациентов с благоприятным неврологическим статусом. Результаты исследования составили 172 пациента в группе лидокаина (17,5 %) и 175 пациентов в группе плацебо (16,6 %), разница риска вторичного исхода – 0,9 % (95 % ДИ от –2,4 до 4,2; $p = 0,59$). После проведения дополнительного распределения исследуемых пациентов на подгруппы в зависимости от обстоятельств развития остановки сердечной деятельности (наличие свидетелей случившегося, обнаружение пациента в бессознательном состоянии) выживаемость пациентов, принимавших лидокаин (27,8 %), была статистически значимо выше ($p = 0,03$), чем в группе плацебо (22,7 %) [11].

Дальнейшие исследования R.J. Kudenchuk et al. были нацелены на изучение влияния антиаритмических препаратов (амиодарона и лидокаина) на выживаемость пациентов с изначально рефрактерными к дефибрилляции ЖА. К моменту выписки она составила для групп лидокаина и плацебо соответственно 11 (3,1 %) и 6 (1,9 %) человек. Обусловленное малой выборкой больных отсутствие статистической значимости результатов не помешало авторам исследования прийти к

выводу о рациональности использования лидокаина у пациентов с устойчивым к дефибрилляции состоянием, вызванным ЖА [12].

Научный интерес представляло исследование, проведенное С.-Н. Huang et al. на Тайване в 2017 г. Из Национальной базы данных медицинского страхования Тайваня были отобраны случаи развития ФЖ и ЖТ с неэффективным сердечным выбросом, потребовавшие проведения дефибрилляции или сердечно-легочной реанимации до госпитализации или в течение 6 часов после прибытия в отделения неотложной помощи. Конечной точкой исследования была оценка выживаемости пациентов в течение года после проведения реанимации, которая для лидокаина составила 7,15 % (77 из 1077 случаев), а для комбинированного применения лидокаина и амиодарона – 11,1 % (165 из 1487 случаев). При отсутствии терапии показатель выживаемости в течение одного года равнялся 3,26 % (602 из 18 440 случаев). Анализ с использованием метода множественной регрессии показал, что соотношение шансов выживания при использовании лидокаина составило 1,88 (95 % ДИ 1,40–2,53; $p < 0,0001$), а при использовании комбинации лидокаина и амиодарона – 2,18 (95 % ДИ 1,71–2,77; $p < 0,0001$). Таким образом, у пациентов с чувствительной к дефибрилляции остановкой сердца использование амиодарона и/или лидокаина увеличивало однолетнюю выживаемость в сравнении с отсутствием терапии [13].

В 2014 г. S.O. Valdes et al. проведено изучение возможности применения лидокаина у пациентов детского возраста с ЖТ с неэффективным сердечным выбросом или ФЖ в анамнезе. Из реестра американского кардиологического сообщества были отобраны 889 случаев развития ЖТ с неэффективным сердечным выбросом или ФЖ, среди которых 295 человек получали лидокаин, 171 – амиодарон, а 82 больных – комбинацию этих препаратов. Остальные дети (341 пациент) выступали в качестве группы контроля, без назначения фармакотерапии. Результаты исследования позволили определить, что только лидокаин по сравнению с группой контроля смог статистически значимо улучшить показатели восстановления ритма ($p = 0,002$) и 24-часовую выживаемость пациентов ($p = 0,01$ в сравнении с группой амиодарона и $p < 0,001$ по сравнению с группой контроля) [14].

Сравнительные исследования лидокаина и других антиаритмических средств. Большой интерес кардиологов-аритмологов прикован к вопросу сравнения эффективности и безопасности лидокаина и других антиаритмических препаратов при терапии ЖА.

Сравнительное изучение лидокаина и амиодарона. Амиодарон относится к препаратам III класса антиаритмических средств и, несомненно, считается одним из самых эффективных. Основным его антиаритмическим свойством считается удлинение потенциала действия и эффективного рефрактерного периода всех отделов сердца, что позволяет использовать амиодарон при пароксизмальных нарушениях ритма, ЖА, ФЖ, суправентрикулярных аритмиях и аритмиях на фоне хронической сердечной недостаточности [15].

В 2002 г. P. Dorian et al. выполнили одно из первых исследований, посвященных сравнению эффективности амиодарона и лидокаина при терапии ЖА (ALIVE). В нем приняли участие 347 амбулаторных пациентов (средний возраст 67 ± 14 лет) с ЖА, устойчивой к электроимпульсной терапии. Исследуемые были рандомизированы на две группы: пациенты, получающие лидокаин (167 человек, доза 1,5 мг/кг массы тела внутривенно), и больные, получающие амиодарон (180 человек, доза 5 мг/кг внутривенно). Статистически значимые отличия выживаемости пациентов до момента госпитализации составили 10,8 % в пользу амиодарона (22,8 % для амиодарона, 12 % для лидокаина), однако при выписке пациентов эта разница нивелировалась (5 и 3 % соответственно). Из 41 пациента, дожившего до госпитализации после приема амиодарона, до выписки из больницы дожили 9 больных. В группе лидокаина из 20 человек смогли быть выписаны из больницы 5 пациентов, что составило 3 % от всей группы. По частоте развития осложнений терапии в виде брадикардии группы не различались, однако лидокаин показал более высокий риск формирования асистолии, чем амиодарон (соответственно 28,9 и 18,4 %; $p = 0,04$). Однако это не смогло привести к увеличению выживаемости пациентов при применении амиодарона на момент выписки из ЛПУ [16].

Полученные авторами результаты в последующем были подвергнуты критике вследствие высокого риска систематических ошибок и значительного противоречия данным других исследований, проведенных к тому времени [10, 17]. Так, ретроспективное исследование R.S. Rea et al., выполненное в трех больших медицинских центрах США по данным 605 историй болезни пациентов с внутрибольничными ЖТ с неэффективным сердечным выбросом и ФЖ, позволило сравнить выживаемость пациентов с остановкой сердца на фоне ЖА/ФЖ при назначении им лидокаина, амиодарона или комбинации этих препаратов; статистически значимых различий в показателях 24-часовой выживаемости и выживаемости на момент выписки больных не обнаружено [17].

В качестве подтверждения выраженных антиаритмических свойств лидокаина можно рассматривать исследование S.O. Valdes et al., проведенное на основании реестра кардиологического сообщества пациентов детского возраста, представленное нами ранее [14].

Неоднозначность накопленных к 2015 г. результатов ретроспективных и проспективных клинических работ стала предпосылкой для проведения тщательного анализа эффективности антиаритмических препаратов в двойном слепом рандомизированном клиническом исследовании ROC-ALPS, в котором 3026 пациентов с нетравматической остановкой сердца, развившейся вне стационара, с рефрактерной к дефибрилляции ЖТ с неэффективным сердечным выбросом или ФЖ были рандомизированы на три когорты: получавшие лидокаин (993 пациента), амиодарон (974 пациента) или плацебо (1059 пациентов). Первичной конечной точкой при этом являлось выживание больных до выписки из стационара, вторичной – благоприятный неврологический статус при выписке из ЛПУ. Выживаемость пациентов при выписке из больницы составила 23,7, 24,4 и 21,0 % соответственно, т.е. ни один из препаратов не показал преимуществ по сравнению с плацебо; различие с плацебо для амиодарона составило 3,2 % (95 % ДИ от -0,4 до 7,0; $p = 0,08$), для лидокаина – 2,6 % (95 % ДИ от -1,0 до 6,3; $p = 0,16$). Изучение влияния амиодарона и лидокаина на неврологический статус пациентов в момент выписки из ЛПУ позволило выявить сходные результаты (18,8 и 17,5 % соответственно).

Проведение анализа отдельных подгрупп, на которые были разделены пациенты в зависимости от обстоятельств развития остановки сердца (наличие свидетелей события и обнаружение больного в бессознательном состоянии), позволило получить различающиеся показатели выживаемости пациентов при выписке из ЛПУ. Так, для группы амиодарона они составили 27,7 %, для группы лидокаина – 27,8 %, что было статистически значимо больше ($p = 0,04$ и $p = 0,03$ соответственно), чем в группе плацебо (22,7 %). Отличиями в профиле безопасности применения отдельных препаратов можно считать более высокую частоту развития брадикардий, требовавших временных кардиостимуляций, и гипотензий при применении амиодарона по сравнению с группой лидокаина и группой плацебо [11].

Дальнейшее сравнительное изучение амиодарона и лидокаина проведено в группах пациентов исследования ROC-ALPS в 2017 г. с целью оценки эффективности препаратов при назначении их пациентам с ЖА, устойчивыми к дефи-

брилляции на первичном этапе оказания помощи, но восстанавливающими чувствительность в процессе реанимации. Первичной конечной точкой был показатель выживаемости пациентов до выписки из ЛПУ. Дополнительно проводилось изучение нежелательных реакций, возникающих у пациентов на фоне введения антиаритмических средств. Отношение шансов (OR) для выживаемости пациентов к моменту выписки из ЛПУ при применении активных препаратов превышало показатели группы плацебо практически в 2 раза (4,1 % – амиодарон, 3,1 % – лидокаин, 1,9 % – плацебо). Более 50 % выживших пациентов были функционально независимы или нуждались в минимальной медицинской помощи. Профиль безопасности представленных препаратов был сравним с группой плацебо. Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения амиодарона и лидокаина в терапии пациентов с невосприимчивыми к дефибрилляции ЖТ без пульса в связи с более высокими показателями выживаемости пациентов до выписки из ЛПУ по сравнению с группой плацебо без дополнительного риска развития нежелательных реакций [12].

Научный интерес представляет также японское исследование под руководством T. Tagami et al., посвященное сравнительному изучению эффективности лидокаина и амиодарона у пациентов с внебольничной остановкой сердца и рефрактерной ФЖ на момент госпитализации. Всего в нем принял участие 3951 пациент, которые были рандомизированы на 2 группы: получавшие лидокаин (2208 человек) или амиодарон (1743 больных). Значимых различий между группами амиодарона и лидокаина по выживаемости пациентов на момент выписки из стационара не обнаружено (15,2 и 17,1 % соответственно, разница показателей 1,9 %; 95 % ДИ от –5,5 до 1,7 %). Регрессионный анализ по Коксу не выявил значимых различий между группами пациентов по показателю смертности в стационаре [18].

Возвращаясь к результатам упомянутого выше когортного исследования C. Huang, хотелось бы обратить внимание, что по сравнению с пациентами без фармакотерапии отношение шансов выживаемости в течение одного года после перенесенной остановки сердца при назначении амиодарона составило 1,84 (95 % ДИ от 1,58 до 2,13, $p < 0,0001$), лидокаина – 1,88 (95 % ДИ от 1,4 до 2,53; $p = 0,0001$), при комбинированном назначении лидокаина и амиодарона – 2,18 (95 % ДИ от 1,71 до 2,77; $p < 0,0001$). Таким образом, результаты межгруппового сравнения выживаемости пациентов при применении одного препарата (амиодарона или лидокаина) не отличались

от показателей выживаемости при применении комбинации этих средств [13].

Ретроспективное исследование, позволившее выявить преимущества применения лидокаина по сравнению с амиодароном, проведено в 2006 г. Pollak et al. на основании 374 записей об оказании неотложной помощи при развитии внебольничной ЖТ с остановкой сердечной деятельности в условиях стационара. Выживаемость после проведения реанимации на фоне введения амиодарона ($n = 36$) составила 67 %, а при введении других антиаритмиков (94 % из которых составлял лидокаин, $n = 59$) – 83 %. Выживаемость на момент выписки из стационара составила 36,1 и 55,9 % соответственно ($p = 0,06$). Таким образом, авторы исследования акцентируют внимание на меньшую приверженность кардиологов-реаниматологов к назначению амиодарона в качестве антиаритмика и отсутствие выраженного эффекта при его применении [19].

Сравнительное изучение лидокаина и соталола. Уникальный препарат соталол объединяет в себе свойства антиаритмического препарата II и III классов. Он представляет собой смесь право- и левовращающего стереоизомеров: левовращающий обладает свойствами бета-адреноблокатора и способен увеличивать продолжительность потенциала действия кардиомиоцитов, правовращающий является антиаритмиком III класса. Такие фармакодинамические свойства обуславливают вероятность назначения соталола при наджелудочковых и желудочковых нарушениях ритма сердца [20].

Первые сравнительные исследования эффективности применения соталола и лидокаина были опубликованы в 1994 г. в виде небольшого двойного слепого рандомизированного исследования, проведенного с участием пациентов с устойчивой ЖТ, которая в большинстве случаев была обусловлена перенесенным инфарктом миокарда. Больные случайным слепым образом были распределены на две группы: группа соталола ($n = 16$, доза 100 мг внутривенно) и группа лидокаина ($n = 17$, доза 100 мг внутривенно). Несмотря на меньшую эффективность лидокаина, по показателю смертности пациентов ($n = 1$ в каждой из групп) и риску развития нежелательных реакций группы не различались [21].

В более объемное сравнительное исследование, выполненное в 2005 г. в Австралии, были включены пациенты с внебольничной ФЖ, устойчивые к более чем четырем разрядам дефибрилляции. Дозы применяемых лекарственных средств составили 100 мг для соталола ($n = 60$) и 100 мг для лидокаина ($n = 69$) в виде внутривенных болюсных инъекций. Полученные результа-

ты в группах соталола и лидокаина были следующими: выживаемость до госпитализации – 7 (12 %) и 16 (23 %) соответственно ($p = 0,09$), выживаемость на момент выписки из стационара – 2 (3 %) и 5 (7 %) соответственно ($p = 0,33$). Таким образом, различий в необходимости последующей дефибрилляции желудочков не обнаружено, а выживаемость во время госпитализации и выписки пациента из стационара была выше в группе лидокаина [22].

Сравнительное изучение лидокаина и нифекаланта. Нифекалант, один из новых антиаритмических препаратов III класса, реализует свой фармакологический эффект за счет селективной блокады калиевых каналов и увеличения времени реполяризации миокарда. Он был разработан и в настоящее время используется только в Японии для лечения желудочковых тахикардий [23]. Сравнительные исследования для представленного препарата не так многочисленны, однако некоторые из них будут представлены ниже.

В проспективном наблюдательном исследовании с участием госпитализированных пациентов с устойчивыми к дефибрилляции формами ЖА/ФЖ сравнивалась эффективность нифекаланта ($n = 27$) и лидокаина ($n = 28$). Несмотря на лучшие показатели восстановления ритма при назначении нифекаланта, выживаемость пациентов в течение месяца для обеих групп была одинаковой [24]. Аналогичные результаты получены в ретроспективном анализе Y. Tahara et al. 120 историй болезни пациентов с внебольничной остановкой сердца, устойчивой к трем разрядам дефибрилляции; в 65 случаях использовался лидокаин, в 55 – нифекалант. Если выживаемость на момент госпитализации и по прошествии 24 часов была лучшей в группе нифекаланта, то на момент выписки не различалась [25].

Сравнительное изучение лидокаина и бретилия тозилата. Бретилия тозилат, антиаритмический препарат III класса, блокирует калиевые каналы и удлиняет потенциал действия и эффективный рефрактерный период. Подобно амиодарону, бретилия тозилат оказывает антиадренергическое действие и удлиняет потенциал действия кардиомиоцитов [26].

Одно из первых исследований, посвященных сравнительному изучению эффективности лидокаина и бретилия тозилата, выполнено в США в 1981 г. В рандомизированное слепое исследование были включены 146 пациентов с ФЖ, развившейся в условиях стационара. Восстановления ритма сердца удалось достигнуть у 89 и 93 % пациентов, а стабильный постоянный ритм был установлен у 58 и 60 % человек, принимавших бретилия тозилат и лидокаин соответственно.

С целью восстановления ритма сердца больным, принимавшим бретилия тозилат, потребовалось 2,8 сеанса дефибрилляции желудочков, а пациентам группы лидокаина – 2,4 сеанса. При этом выживаемость на момент выписки из стационара составила 34 и 26 % соответственно. Таким образом, заключают исследователи, никаких преимуществ бретилия тозилата перед лидокаином, равно как и недостатков препаратов, не обнаружено [27].

Научный интерес представляет также проспективное исследование, проведенное тремя годами позже с целью сравнительного изучения эффективности бретилия тозилата и лидокаина у пациентов с рефрактерной ЖА на догоспитальном этапе лечения. Авторами установлено, что в группе лидокаина (2–3 мг/кг) ритм восстановился у 81 % пациентов, пульс обнаруживался у 56 %, что позволило успешно реанимировать и доставить в больницу 23 % больных, из которых 10,4 % впоследствии выжило. Эти показатели были лучше, чем в группе бретилия тозилата. Авторы также обращают внимание, что лидокаин был более эффективным средством помощи пациентам, принимающим сердечные гликозиды (препараты наперстянки). Из 24 человек, принимавших сердечные гликозиды, в группе лидокаина было реанимировано 41 % пациентов (5 из 12), в то время как в группе бретилия тозилата – только 16 % (2 из 12) [28]. Об эффективности лидокаина как средства помощи при отравлении кардиотоксическими препаратами сообщалось и в других публикациях, описывающих отдельные клинические случаи [29].

Сравнительное изучение лидокаина и других антиаритмиков. В контексте изучения эффективности использования лидокаина в сравнении с другими антиаритмическими препаратами заслуживает внимания исследование 1995 г., проведенное в г. Оттава под руководством I.G. Stiell. В данной работе, которая продолжалась 2 года и включала 529 пациентов, при помощи мультифакторного анализа и логистической регрессии изучали факторы, благоприятно влияющие на выживаемость пациентов с остановкой сердечной деятельности, наблюдаемой как вне, так и внутри больниц, в сроки от одного часа до момента выписки из стационара. Время восстановления сердечной деятельности зависело от времени назначения атропина и лидокаина ($p < 0,05$ и $p < 0,01$ соответственно). Успех реанимационных мероприятий, кроме других факторов, зависел от использования атропина (OR = 1,2; 95 % ДИ 1,0–1,3), бретилия (OR = 0,4; 95 % ДИ 0,1–1,1), препаратов кальция (OR = 0,8; 95 % ДИ 0,2–2,4), лидокаина (OR = 0,9; 95 % ДИ 0,7–1,1), новока-

инамида (OR = 21,0; 95 % ДИ 5,2–84,0) и натрия бикарбоната (OR = 1,2; 95 % ДИ 1,0–1,6). Только лидокаин и бретилюм смогли показать свою полезность при использовании в качестве средств первой помощи у пациентов с остановкой сердца [30].

Систематические обзоры и метаанализы эффективности и безопасности применения лидокаина в качестве антиаритмического средства. В одном из первых систематических обзоров, посвященных использованию лидокаина при остановке сердечной деятельности, обусловленной ФЖ и ЖТ с неэффективным сердечным выбросом, проанализированы данные десяти рандомизированных клинических исследований и семи наблюдательных исследований, опубликованных в англоязычной специализированной литературе с 1948 г. по октябрь 2012 г. К этому моменту критериям включения отвечали только несколько исследований эффективности лидокаина [9, 10, 16, 17, 24, 25, 28, 31]. Хотя добиться убедительных доказательств преимуществ лидокаина перед другими антиаритмическими препаратами не удалось, авторы рекомендовали назначение лидокаина на этапе проведения реанимации для увеличения выживаемости пациентов на момент их госпитализации (относительный риск (RR) = 1,90; 95 % ДИ, 1,16–3,11) [13].

В канадский метаанализ S. McLeod et al. были включены данные, опубликованные с 1948 г. по март 2017 г. Авторы отобрали восемь рандомизированных клинических исследований, посвященных изучению сравнительной эффективности антиаритмических препаратов при проведении реанимационных процедур на догоспитальном этапе у лиц старше 18 лет. Проведенный анализ продемонстрировал преимущество лидокаина перед плацебо (RR = 1,15; 95 % ДИ 1,03–1,28) и бретилия тозилатом (RR = 1,61; 95 % ДИ 1,00–2,63) в отношении восстановления циркуляции. И амиодарон (RR = 1,18; 95 % ДИ 1,08–1,30), и лидокаин (RR = 1,18; 95 % ДИ 1,07–1,30) увеличивали выживаемость пациентов на момент госпитализации в сравнении с группой плацебо, но преимуществ друг перед другом не имели. Располагая данными клинических исследований, завершающихся к моменту проведения метаанализа, авторы не смогли продемонстрировать убедительных преимуществ лидокаина (RR = 1,11; 95 % ДИ 0,95–1,30) и амиодарона (RR = 1,15; 95 % ДИ 0,99–1,34) по частоте выживаемости на момент выписки из стационара, в том числе пациентов с сохраненным неврологическим статусом. В разделе обсуждения и выводов канадские исследователи соглашались с тем, что оба препарата в равной степени заслуживают быть включенными в клинические рекомендации

благодаря их способности увеличивать выживаемость пациентов на догоспитальном этапе [5].

К аналогичным выводам об отсутствии преимуществ использования амиодарона и/или лидокаина и увеличении препаратами кратковременной выживаемости (на момент госпитализации) пришли и авторы метаанализа 2017 г., проведенного в Австралии [32].

Систематический обзор эффективности антиаритмических лекарственных средств при чувствительной к дефибрилляции остановке сердца был проведен M.U. Ali et al. с целью подготовки новых рекомендаций ILCOR 2018 г. Как и предыдущие авторы, они не обнаружили преимуществ какого-либо препарата во влиянии на выживаемость на момент выписки, в том числе на сохранение нормального неврологического статуса, но подтвердили более выраженную по сравнению с плацебо эффективность лидокаина в отношении восстановления нормальной гемодинамики (RR = 1,16; 95 % ДИ 1,03–1,29; $p = 0,01$). Стоит заметить, что одной из целей проведения обзора M.U. Ali et al. являлся поиск новых исследований эффективности антиаритмиков в педиатрии, однако кроме работы S. Valdes et al. [18] новых данных обнаружено не было [33].

Среди систематических обзоров, не включающих метаанализ, следует отметить статью T. Tagami, в выводах которой авторы рекомендуют использование лидокаина в случае отсутствия ответа на дефибрилляцию желудочков у пациентов с внебольничной остановкой сердца [18].

В заключение данного раздела нельзя не упомянуть систематический обзор и метаанализ S.U. Khan et al. [34]. Отличительной особенностью данного исследования послужило использование не только традиционного подхода, но и байесовской логики проведения метаанализа, что выгодно отличает его от рассмотренных выше аналогичных работ. Авторы поставили перед собой цель оценить эффективность трех антиаритмических препаратов – амиодарона, лидокаина, магния сульфата – в сравнении друг с другом и с плацебо на основании данных 11 отобранных исследований (5200 пациентов с остановкой сердца вследствие развития ЖТ с неэффективным сердечным выбросом и ФЖ; 7 рандомизированных клинических исследований, 2 проспективных и 2 ретроспективных исследования). Анализ выживаемости на момент выписки из стационара показал, что в группе амиодарона она составила 21 % (329 из 1526 человек), в группе лидокаина – 36 % (541 из 1470 человек), т.е. максимальное значение среди выбранных препаратов, в группе магния сульфата – 9 % (21 из 214 человек) и 18 % (329 из 1801 человека) в группе плацебо. Байе-

совский подход позволил установить преимущество лидокаина по этому показателю перед всеми остальными группами сравнения: группой амиодарона (OR = 2,18; 95 % ДИ 1,26–3,13), группой магния сульфата (OR = 2,03; 95 % ДИ 0,74–4,82) и группой плацебо (OR = 2,42; 95 % ДИ 1,39–3,54). Анализ вероятности (probability analysis) подтвердил эти выводы, в отличие от классического подхода, который не обнаружил различий между амиодароном и лидокаином.

Выживаемость на момент госпитализации, а также 24-часовая выживаемость (как обозначено в некоторых проанализированных авторами публикациях) составила 43 % (666 из 1530 человек) в группе амиодарона, 41 % (613 из 1470 человек) в группе лидокаина, 25 % (55 из 214 человек) в группе магния сульфата, 36 % (664 из 1804 человек) в группе плацебо. Статистически значимых различий между группами амиодарона и лидокаина (OR = 1,05; 95 % ДИ 0,75–1,46) и магния сульфата и плацебо (OR = 0,98; 95 % ДИ 0,58–1,64) не обнаружено. Байесовский подход позволил установить преимущество лидокаина (SUCRA (surface under the cumulative ranking, площадь под кумулятивной ранговой кривой) – 82 %) по сравнению с амиодароном (72 %), магния сульфатом (25 %) и плацебо (20 %) в выживаемости на момент госпитализации.

У 37 % пациентов (396 из 1049 человек) в группе амиодарона удалось достичь восстановления нормальной сердечной деятельности, в то время как в группе лидокаина их оказалось 41 % (479 из 1167 человек), а в группе магния сульфата – 32 % (69 из 214 человек). В группе плацебо этот показатель составил 35 % (537 из 1492 человек). Байесовский анализ не смог продемонстрировать преимуществ использования амиодарона и магния сульфата перед плацебо, и только назначение лидокаина сопровождалось статистически значимым увеличением восстановления кровообращения по сравнению как с плацебо (OR = 1,51; 95 % ДИ 1,06–2,37), так и с амиодароном (OR = 1,43; 95 % ДИ 0,98–2,42) и магния сульфатом (OR = 1,51; 95 % ДИ 0,86–2,88). Вероятностный анализ также показал преимущества лидокаина (SUCRA – 95 %) перед амиодароном (40 %) и магния сульфатом (33 %) в восстановлении нормальной гемодинамики.

Заключение

Основным преимуществом назначения лидокаина с целью проведения фармакотерапии ФЖ и ЖТ с неэффективным сердечным выбросом является достаточно высокий профиль его безопасности. Среди основных клинических прояв-

лений нежелательных реакций при применении лидокаина стоит выделить нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы, центральной нервной системы, желудочно-кишечного тракта, однако частота их развития невысока [35]. Диспепсические расстройства как побочный эффект лидокаина предположительно обусловлены превышением его максимальных терапевтических доз. Преимуществом применения лидокаина при ЖТ без ритма и/или ФЖ можно также считать способность препарата восстанавливать спонтанное кровообращение. В исследовании ROC-ALPS частота спонтанного восстановления сердечного ритма при внутривенном введении лидокаина для лечения желудочковых аритмий была значительно выше по сравнению с плацебо-контролем [11]. Особого внимания заслуживает возможность профилактического введения лидокаина для предупреждения возможного рецидива ФЖ или ЖТ в некоторых ситуациях: например, во время транспортировки в автомобиле скорой медицинской помощи, где лечение желудочковой аритмии может оказаться сложным (класс IIb; уровень доказательности C–LD) [36].

Описанные особенности лидокаина позволили уравнивать его в уровне предпочтений с амиодароном, что зафиксировано в обновленных рекомендациях ILCOR CoSTR, Американской кардиологической ассоциации и ECR (European Resuscitation Council) по лечению пациентов (2018 г.) [6, 36]. Таким образом, дальнейшее подтверждение эффективности и безопасности использования лидокаина в качестве антиаритмического средства с целью проведения фармакотерапии ФЖ и ЖТ с неэффективным сердечным выбросом на данный момент достаточно актуально.

Список литературы / References

1. Думанский Ю.В., Кабанова Н.В., Верхулецкий И.Е., Синепупов Н.А., Осипов А.Г., Синепупов Д.Н. Острые нарушения кровообращения. *Мед. неотлож. состояний*. 2012; (2): 71–87.
Dumanskii Yu.V., Kabanova N.V., Verkhuletskii I.E., Sinepupov N.A., Osipov A.G., Sinepupov D.N. Acute circulatory disorders. *Meditsina neotlozhnykh sostoyanii = Emergency Medicine*. 2012; (2): 71–87. [In Russian].
2. Шульман В.А., Никулина С.Ю., Кузель Д.А., Матюшин Г.В. Первичные аритмии: учебное пособие. *Соврем. пробл. науки и образования*. 2009; (1): 51–52.
Shul'man V.A., Nikulina S.Yu., Kuzhel' D.A., Matyushin G.V. Primary arrhythmias: a training manual. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*. 2009; (1): 51–52. [In Russian].

3. Koster R.W., Walker R.G., Chapman F.W. Recurrent ventricular fibrillation during advanced life support care of patients with prehospital cardiac arrest. *Resuscitation*. 2008; 78 (3): 252–257. doi: 10.1016/j.resuscitation.2008.03.231
4. Link M.S., Berkow L.C., Kudenchuk P.J., Halperin H.R., Hess E.P., Moitra V.K., Neumar R.W., O'Neil B.J., Paxton J.H., Silvers S.M., White R.D., Yannopoulos D., Donnino M.W. Part 7: Adult advanced cardiovascular life support. *Circulation*. 2015; 132 (18): 444–464. doi: 10.1161/CIR.0000000000000261
5. McLeod S.L., Brignardello-Petersen R., Worster A., You J., Iansavichene A., Guyatt G., Cheskes S. Comparative effectiveness of antiarrhythmics for out-of-hospital cardiac arrest: A systematic review and network meta-analysis. *Resuscitation*. 2017; 121: 90–97. doi: 10.1016/j.resuscitation.2017.10.012
6. Soar J., Nolan J.P., Bottiger B.W., Perkins G.D., Lott G., Carli P., Pellis T., Sandroni C., Skrifvars M.B., Smith G.B., Sunde K., Deakin Ch.D., Adult advanced life support section Collaborators. European resuscitation council guidelines for resuscitation 2015. Section 3. Adult advanced life support. *Resuscitation*. 2015; 95: 100–147. doi: 10.1016/j.resuscitation.2015.07.016
7. White R.D., Russell J.K. Refibrillation, resuscitation and survival in out-of-hospital sudden cardiac arrest victims treated with biphasic automated external defibrillators. *Resuscitation*. 2002; 55 (1): 17–23. doi: 10.1016/S0300-9572(02)00194-6
8. Бунин Ю.А. Особенности лечения нарушений ритма сердца при беременности: эффективность и безопасность. *Кардиосоматика*. 2013; 2 (4): 81–91.
9. Bunin Yu.A. Treatment for cardiac arrhythmias in pregnancy: efficiency and safety. *Cardiosomatika = Cardiosomatics*. 2013; 2 (4): 81–91. [In Russian].
10. Harrison E.E. Lidocaine in prehospital counter-shock refractory ventricular fibrillation. *Ann. Emerg. Med.* 1981; 10 (8): 420–423. doi: 10.1016/S0196-0644(81)80309-5
11. Herlitz J., Ekstrom L., Wennerblom B., Axelsson A., Bang A., Lindkvist J., Persson N.G., Holmberg S. Lidocaine in out-of-hospital ventricular fibrillation. Does it improve survival? *Resuscitation*. 1997; 33 (3): 199–205. doi: 10.1016/S0300-9572(96)01018-0
12. Kudenchuk P.J., Brown S.P., Daya M., Rea T., Nichol G., Morrison L.J., Leroux B., Vaillancourt C., Wittwer L., Callaway C.W., Christenson J., Egan D., Ornato J.P., Weisfeldt M.L., Stiell I.G., Idris A.H., Aufderheide T.P., Dunford J.V., Colella R.M., Vilke G.M., Brienza A.M., Desvigne-Nickens P., Gray P.C., Gray R., Seals N., Straight R., Dorian P. Resuscitation outcomes consortium investigators. Amiodarone, lidocaine, or placebo in out-of-hospital cardiac arrest. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374: 1711–1722. doi: 10.1056/NEJMoa1514204
13. Kudenchuk P.J., Leroux B.G., Daya M., Rea T., Vaillancourt C., Morrison L.J., Callaway C.W., Christenson J., Ornato J.P., Dunford J.V., Wittwer L., Weisfeldt M.L., Aufderheide T.P., Vilke G.M., Idris A.H., Stiell I.G., Colella M.R., Kaye T., Egan D.A., Desvigne-Nickens P., Gray P., Gray R., Straight R., Dorian P. and the Resuscitation outcomes consortium investigators. Antiarrhythmic drugs for non-shockable-turned-shockable out-of-hospital cardiac arrest: The amiodarone, lidocaine or placebo study (ALPS). *Circulation*. 2017; 136 (22): 2119–2131. doi:10.1161/circulationaha.117.028624
14. Huang C.H., Yu P.H., Tsai M.S., Chuang P.Y., Wang T.D., Chiang C.Y., Chang W.Ti., Ma M.H.M., Tang C.H., Chen W.J. Acute hospital administration of amiodarone and/or lidocaine in shockable patients presenting with out-of-hospital cardiac arrest: A nationwide cohort study. *Int. J. Cardiol.* 2017; 227: 292–298. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.11.101
15. Valdes S.O., Donoghue A.J., Hoyme D.B., Hammond R., Berg M.D., Berg R.A., Samson R.A. American heart association get with the guidelines-resuscitation investigators. Outcomes associated with amiodarone and lidocaine in the treatment of in-hospital pediatric cardiac arrest with pulseless ventricular tachycardia or ventricular fibrillation. *Resuscitation*. 2014; 85 (3): 381–386. doi: 10.1016/j.resuscitation.2013.12.008
16. Гайсёнок О.В. Особенности применения амиодарона в клинической практике: к вопросу о побочных эффектах препарата. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2010; 6 (6): 823–827.
17. Gaisenk O.V. The use of amiodarone in clinical practice: the problem of side effects. *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii = Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2010; 6 (6): 823–827. [In Russian].
18. Dorian P., Cass D., Schwartz B., Cooper R., Gelaznikas R., Barr A. Amiodarone as compared with lidocaine for shock-resistant ventricular fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346 (12): 884–890. doi: 10.1056/NEJMoa013029
19. Rea R.S., Kane-Gill S.L., Rudis M.I., Seybert A.L., Oyen L.J., Ou N.N., Stauss J.L., Kirisci L., Idrees U., Henderso S.O. Comparing intravenous amiodarone or lidocaine, or both, outcomes for inpatients with pulseless ventricular arrhythmias. *Crit. Care Med.* 2006; 34 (6): 1617–1623. doi: 10.1097/01.CCM.0000217965.30554.D8
20. Tagami T., Matsui H., Tanaka C., Kaneko J., Kuno M., Ishinokami S., Unemoto K., Fushimi K., Yasunaga H. Amiodarone compared with lidocaine for out-of-hospital cardiac arrest with refractory ventricular fibrillation on hospital arrival: a nationwide database study. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2016; 30 (5): 485–491. doi: 10.1007/s10557-016-6689-7
21. Pollak P.T., Wee V., Al-Hazmi A., Martin J., Zarnke K.B. The use of amiodarone for in-hospital cardiac arrest at two tertiary care centres. *Can. J. Cardiol.* 2006; 22 (3): 199–202. doi: 10.1016/s0828-282x(06)70896-0

20. Волков В.Е. Возможности рационального применения соталола в кардиологии. *Атмосфера. Новости кардиологии*. 2009; (1): 22–24.
- Volkov V.E. Possibilities of rational use of sotalol in cardiology. *Atmosfera. Novosti kardiologii = Atmosphere. Cardiology News*. 2009; (1): 22–24. [In Russian].
21. Ho D.S., Zecchin R.P., Richards D.A., Uther J.B., Ross D.L. Double-blind trial of lignocaine versus sotalol for acute termination of spontaneous sustained ventricular tachycardia. *Lancet*. 1994; 344 (8914): 18–23. doi: 10.1016/s0140-6736(94)91048-0
22. Kooroor P., Love A., Hall J., Kruit R., Sadick N., Ho D., Adelstein B.A., Ross D.L. Randomized double-blind trial of sotalol versus lignocaine in out-of-hospital refractory cardiac arrest due to ventricular tachyarrhythmia. *Intern. Med. J.* 2005; 35 (9): 518–525. doi: 10.1111/j.1445-5994.2005.00896.x
23. Pantazopoulos I.N., Troupis G.T., Pantazopoulos C.N., Xanthos T.T. Nifekalant in the treatment of life-threatening ventricular tachyarrhythmias. *World J. Cardiol.* 2011; 3 (6): 169–176. doi: 10.4330/wjc.v3.i6.169
24. Shiga T., Tanaka K., Kato R., Amino M., Matsudo Y., Honda T., Sagara K., Takahashi A., Katoh T., Urashima M., Ogawa S., Takano T., Kasanuki H. Refractory VT/VF, Prospective evaluation to differentiate lidocaine efficacy from nifekalant (RELIEF) study investigators. Nifekalant versus lidocaine for in-hospital shock-resistant ventricular fibrillation or tachycardia. *Resuscitation*. 2010; 81 (1): 47–52. doi: 10.1016/j.resuscitation.2009.09.027
25. Tahara Y., Kimura K., Kosuge M., Ebina T., Sumita S., Hibi K., Toyama H., Kosuge T., Moriwaki Y., Suzuki N., Sugiyama M., Umemura S. Comparison of nifekalant and lidocaine for the treatment of shock-refractory ventricular fibrillation. *Circ. J.* 2006; 70 (4): 442–446. doi: 10.1253/circj.70.442
26. Кулик В.Л., Бурда И.Ю., Макиенко Н.В., Власенко О.А., Савченко В.Н. Клиническая фармакология антиаритмических препаратов III класса. *Вісн. Харк. нац. ун-ту ім. В.Н. Каразіна. Сер. Медицина*. 2010; (19): 104–107.
- Kulik V.L., Burda I.Yu., Makienko N.V., Vlasenko O.A., Savchenko V.N. The clinical pharmacology of antiarrhythmic drugs class III. *Visnyk Kharkivs'koho natsional'noho universytetu imeni Vasylia Nazarovycha Karazina. Seriya «Medytsyna» = The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series «Medicine»*. 2010; (19): 104–107. [In Russian].
27. Haynes R.E., Chinn T.L., Copass M.K., Cobb L.A. Comparison of bretylium tosylate and lidocaine in management of out of hospital ventricular fibrillation: A randomized clinical trial. *Am. J. Cardiol.* 1981; 48 (2): 353–356. doi: 10.1016/0002-9149(81)90619-6
28. Olson D.W., Thompson B.M., Darin J.C., Milbrath M.H. A randomized comparison study of bretylium tosylate and lidocaine in resuscitation of patients from out-of-hospital ventricular fibrillation in a paramedic system. *Ann. Emerg. Med.* 1984; 13 (9): 807–810. doi: 10.1016/s0196-0644(84)80444-8
29. Суворов М.А., Суворов А.В., Кауров Я.В., Гнелицкий Г.И. Лечение нарушений ритма и проводимости сердца при острых отравлениях кардиотоксическими веществами. *Здоровье и образование в XXI в.* 2013; 15 (1–4): 232–233.
- Suvorov M.A., Suvorov A.V., Kaurov Ya.V., Gnelitsky G.I. Treatment of violations of rhythm and conductivity of heart at sharp poisoning of cardiotoxic substances. *Zdorov'ye i obrazovaniye v XXI veke = Health and Education in the 21st Century*. 2013; 15 (1–4): 232–233. [In Russian].
30. Stiell I.G., Wells G.A., Hebert P.C., Laupacis A., Weitzman B.N. Association of drug therapy with survival in cardiac arrest: limited role of advanced cardiac life support drugs. *Acad. Emerg. Med.* 1995; 2 (4): 264–273. doi: 10.1111/j.1553-2712.1995.tb03220.x
31. Igarashi M., Fujino T., Toyoda M., Sugino K., Sasao K., Sasamoto S., Otsuka T., Kobayashi K., Okano Y., Yosiwara K., Koyama N. Defibrillation effects of intravenous nifekalant in patients with out-of-hospital ventricular fibrillation. *Pacing Clin. Electrophysiol.* 2005; 28 (1): 155–157. doi: 10.1111/j.1540-8159.2005.00043.x
32. Chowdhury A., Fernandes B., Melhuish T.M., White L.D. Antiarrhythmics in cardiac arrest: A systematic review and meta-analysis. *Heart Lung Circ.* 2018; 27 (3): 280–290. doi: 10.1016/j.hlc.2017.07.004
33. Ali M.U., Fitzpatrick-Lewis D., Kenny M., Raina P., Atkins D.L., Soar J., Nolan J., Ristagno G., Sherifali D. Effectiveness of antiarrhythmic drugs for shockable cardiac arrest: A systematic review. *Resuscitation*. 2018; 132: 63–72. doi: 10.1016/j.resuscitation.2018.08.025
34. Khan S.U., Winnicka L., Sallem M.A., Rahman H., Rehman N. Amiodarone, lidocaine, magnesium or placebo in shock refractory ventricular arrhythmia: A Bayesian network meta-analysis. *Heart Lung.* 2017; 46 (6): 417–424. doi: 10.1016/j.hrtlng.2017.09.001
35. Suzuki M., Nagahori W., Mizukami A., Matsumura A., Hashimoto Y. A multicenter observational study of the effectiveness of antiarrhythmic agents in ventricular arrhythmias: A propensity-score adjusted analysis. *J. Arrhythm.* 2016; 32 (3): 186–190. doi: 10.1016/j.joa.2016.01.004
36. Panchal A.R., Berg K.M., Kudenchuk P.J., Rios M.D., Hirsch K.G., Link M.S., Kurz M.C., Chan P.S., Cabañas J.G., Morley P.T., Hazinski M.F., Donnino M.W. 2018 American heart association focused update on advanced cardiovascular life support use of antiarrhythmic drugs during and immediately after cardiac arrest: An update to the American heart association guidelines for cardiopulmonary resuscitation and em. *Circulation*. 2018; 138 (23): 740–749. doi: 10.1161/CIR.0000000000000613

Сведения об авторах:

Александр Васильевич Матвеев, к.м.н., ORCID: 0000-0002-6636-3950, e-mail: avmcsmu@gmail.com

Анатолий Евгеньевич Крашенинников, к.фарм.н., ORCID: 0000-0002-7791-6071,

e-mail: anatoly.krashennnikov@drugsafety.ru

Елена Александровна Егорова, к.фарм.н., ORCID: 0000-0003-4012-2523, e-mail: elena212007@rambler.ru

Елена Александровна Матвеева, ORCID: 0000-0001-7339-060X, e-mail: elena0matveeva@gmail.com

Information about the authors:

Aleksandr V. Matveev, candidate of medical sciences, ORCID 0000-0002-6636-3950, e-mail: avmcsmu@gmail.com.

Anatoliy Ye. Krashennnikov, candidate of pharmaceutical sciences, ORCID 0000-0002-7791-6071,

e-mail: anatoly.krashennnikov@drugsafety.ru

Elena A. Egorova, candidate of pharmaceutical sciences, ORCID 0000-0003-4012-2523,

e-mail: elena212007@rambler.ru

Elena A. Matveeva, ORCID 0000-0001-7339-060X, e-mail: elena0matveeva@gmail.com

Поступила в редакцию 13.06.2020

После доработки 16.07.2020

Принята к публикации 15.08.2020

Received 13.06.2020

Revision received 16.07.2020

Accepted 15.08.2020

Становление инвазивной ЭЭГ в хирургии эпилепсии (обзор литературы)

В.М. Джафаров, Д.А. Рзаев

*Федеральный центр нейрохирургии Минздрава РФ
630087, Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 132/1*

Резюме

Для определения объема хирургического вмешательства при медикаментозно-резистентной эпилепсии используются методы диагностики, направленные на поиск зоны начала эпилептических приступов. Среди всех методов диагностики «золотым стандартом» в определении эпилептогенной зоны является инвазивный ЭЭГ-видеомониторинг, к настоящему моменту имеющий богатую историю применения. В данной статье приведена историческая справка об инвазивной записи ЭЭГ с обзором литературы, касающимся техник проведения, анализа их преимуществ и недостатков, актуальных вопросов на сегодняшний день.

Ключевые слова: эпилепсия, ЭЭГ, инвазивный ЭЭГ-видеомониторинг, стерео-ЭЭГ, субдуральный ЭЭГ-мониторинг.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Авторы благодарят Г.И. Мойсак за критический анализ выполненной работы.

Автор для переписки: Джафаров В.М., e-mail: mvijayd@hotmail.com

Для цитирования: Джафаров В.М., Рзаев Д.А. Становление инвазивной ЭЭГ в хирургии эпилепсии (обзор литературы). *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (6): 23–33. doi: 10.15372/SSMJ20200603

Development of invasive EEG in epilepsy surgery (review)

V.M. Dzhaifarov, J.A. Rzaev

*Novosibirsk Center of Neurosurgery of Minzdrav of Russia
630087, Novosibirsk, Nemirovicha-Danchenko str., 132/1*

Abstract

There are different diagnostic methods that used for localization of the seizure onset zone in focal refractory epilepsy cases. Invasive video-EEG recording is the «gold standard» in determining the epileptogenic zone among other diagnostic methods. Invasive EEG already has a long history of using. This article provides historical review and analysis of the techniques, their advantages and disadvantages, current issues.

Key words: epilepsy, EEG, invasive video-EEG monitoring, stereo-EEG, subdural EEG monitoring.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. Authors would like to thank G.I. Moysak for critical review of this manuscript.

Correspondence author: Dzhaifarov V.M., e-mail: mvijayd@hotmail.com

Citation: Dzhaifarov V.M., Rzaev J.A. Development of invasive EEG in epilepsy surgery (review). *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (6): 23–33. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200603

Введение

Несмотря на значительные успехи в диагностике и лечении эпилепсии за последние годы, часть больных имеет рефрактерный к терапии характер течения заболевания. По эпидемиологическим данным около 30 % пациентов страдает фармакорезистентной эпилепсией, а 10 % являются кандидатами на хирургическое лечение [1, 2]. Для определения объема хирургического вмешательства используются методы диагностики, направленные на поиск эпилептогенной зоны (ЭЗ). Данная зона подразумевает скопление патологических клеток в мозге, ответственных за периодический запуск процессов возбудимости и, тем самым, за возникновение эпилептического приступа. Неинвазивные методы исследования, такие как скальповая электроэнцефалография (ЭЭГ), ЭЭГ-видеомониторинг, ЭЭГ высокой плотности, магнитоэнцефалография и др., не всегда отображают полноценную информацию о локализации эпилептогенной зоны [3]. В таких случаях среди всех методов диагностики «золотым стандартом» в определении зоны начала приступов является инвазивный ЭЭГ-видеомониторинг (инвазивная ЭЭГ) [4, 5]. Амплитуды потенциалов, записанные с помощью инвазивной ЭЭГ, в 2–58 раз больше, чем при скальповой ЭЭГ [6].

Быстрое распространение приступа по головному мозгу, имитация одних видов эпилепсии другими, наличие технических сложностей в проведении инвазивной ЭЭГ, пропуск дополнительной ЭЗ являются причинами некорректных выводов, что приводит к неудовлетворительным результатам хирургического лечения, которое может выполняться с неоправданным риском. С появлением многообразия техник проведения инвазивной ЭЭГ частота выявления зоны начала приступов стала существенно выше, но единый подход к выбору определенной техники в настоящее время отсутствует. Выбор методики инвазивного ЭЭГ-видеомониторинга может зависеть от многих факторов, что требует уточнения и структуризации.

Разумное определение объема инвазивной ЭЭГ у конкретного больного позволит получить полноценную информацию о зоне начала приступов и, соответственно, выбрать наиболее подходящий метод лечения. В обзоре дана историческая справка о становлении инвазивной ЭЭГ, описаны преимущества и недостатки каждой из техник и дальнейшие тенденции развития этого направления.

Появление и совершенствование инвазивной ЭЭГ. Первые подробные описания эпилепсии встречаются в эпоху Возрождения [7]. Од-

нако эпилептические приступы были описаны и ранее, имели название «падучих болезней», а носители этого недуга считались скорее физически больными, нежели магически околдованными или проклятыми оккультными процедурами. Многие известные люди разных эпох, такие как Сократ, Юлий Цезарь, Наполеон Бонапарт, Достоевский, Нобель, Ван Гог страдали эпилепсией. Врачи обращали внимание на проявление судорог и использовали различные попытки их купирования. Было отмечено, что травматические повреждения головы и новообразования головного мозга сопровождались эпилептическими судорогами. Хорсли был первым нейрохирургом, который рассматривал необходимость оперативного лечения больных с эпилепсией [8]. Хирургическое лечение эпилепсии стали применять задолго до появления скальповой и инвазивной ЭЭГ. Выделяют несколько ключевых факторов в становлении хирургии эпилепсии [8–10]: появление нейрохирургии, Первая и Вторая мировые войны, открытие ЭЭГ, междисциплинарный подход в изучении эпилепсии.

Открытие в XIX в. принципов асептики, антисептики и анестезии дало возможность хирургам расширить свои возможности оперативного лечения. Труды Харви Кушинга, американского хирурга и основоположника современной нейрохирургии, направленные на усовершенствование техники хирургии, анестезиологического подхода и мониторинга различных функций во время операции, позволили выделить нейрохирургию в отдельную хирургическую науку. Проводимые в конце XIX – начале XX в. Харви Кушингом и его учеником Уолтером Денди операции на головном мозге позволили многим хирургам, неврологам, исследователям-физиологам «заглянуть» внутрь черепной коробки. Уолтер Денди также совершенствовал технику, сделал множество открытий в нейрохирургии, позднее названных в его честь. Различные находки при оперативных вмешательствах способствовали уточнению типа патологического процесса, а также изучению важных функций головного мозга. Достижения этих известных людей обеспечили снижение уровня летальности и усовершенствование качества хирургической помощи больным с патологией головного мозга, что приблизило исследователей к решению проблемы эпилепсии.

Наряду с развитием хирургии головного мозга, Первая и Вторая мировые войны послужили причиной роста количества многочисленных травматических поражений головы, резко увеличилось число больных с симптомами эпилепсии. Вопрос хирургической коррекции последствий травм становился все более острым. Большой

вклад в решение этой проблемы внес немецкий невролог и хирург Отфрид Ферстер. Он проводил различные операции на головном и спинном мозге, на поврежденных периферических нервах, детально изучил картину эпилептического приступа, особенности неврологического статуса и результаты пневмоэнцефалографии. Используя эти данные, Ферстер начал выполнять операции на головном мозге под местной анестезией с электростимуляцией коры, создавая прообраз современных операций с нейрофизиологическим контролем. Он первым аргументировал важность полноты резекции патологического участка в мозге для достижения регресса приступов. При помощи электростимуляции Ферстер открыл известную в настоящее время дополнительную моторную кору.

Еще одним значимым условием развития хирургии эпилепсии стало открытие метода регистрации электрических потенциалов головного мозга (ЭЭГ) человека Хансом Бергером в 1924 г. [11]. ЭЭГ стала широко использоваться в клинической и исследовательской практике. Многие неврологи, такие как Фредерик Гиббс, Уильям Леннокс, Хэллоуэлл Дэвис, отмечали большую значимость ЭЭГ в диагностике эпилепсии, опухолевых образований головного мозга. Впервые были выявлены «молчание» ЭЭГ над опухолевой тканью и первый иктальный ЭЭГ-паттерн эпилептического приступа. Однако неинвазивная ЭЭГ имела недостатки: наличие артефактов, плохое качество записи из-за прохождения сигнала с поверхности головного мозга через толщину костных и мягких структур к электродам. Появлению первой инвазивной записи ЭЭГ в палате и ее дальнейшему совершенствованию способствовал междисциплинарный подход. Благодаря успешной кооперации нейрохирурга Уайлдера Пенфилда и невролога-нейрофизиолога Герберта Джаспера зародилась история Монреальского института неврологии, в котором было выполнено множество открытий в нейронауке. Стоит отметить, что именно Джаспер убедил Пенфилда устанавливать электроды внутрь черепа. Несколько позже во Франции были разработаны новые концепции инвазивной ЭЭГ при сотрудничестве нейрохирурга и невролога.

Основные этапы становления инвазивной ЭЭГ, которая неотделима от истории развития хирургии эпилепсии, условно делят на периоды, обусловленные развитием технических возможностей и накоплением знаний об эпилепсии [10]:

1) интраоперационный ЭЭГ-мониторинг (с 1934 г.),

2) экстраоперативный инвазивный ЭЭГ-мониторинг (с 1939 г.),

3) стерео-ЭЭГ (с 1960-х годов),

4) модификация техник (с 1980-х годов),

5) экспериментальные методики настоящего времени.

На основании получения межприступной активности головного мозга на ЭЭГ и самих приступов Джаспер придал особое значение «случайным спайкам». Он рассматривал их как маркер локальной эпилептогенной активности мозга. Другие же эквиваленты в виде острых, медленных волн играли менее важную роль, поскольку находились на расстоянии от предполагаемого очага эпилепсии. Основываясь на этих данных, нейрохирург Пенфилд и нейрофизиолог Джаспер в операционной проводили резекцию так называемой «ЭЭГ очерченной» области мозга. С накоплением опыта они пришли к выводу, что различные участки височной доли могут участвовать в эпилептогенезе. Совершенствовалась топическая диагностика приступов: при стимуляции нижней части височной доли Джасперу удалось получить приступы по типу автоматизмов, дополнительно Пенфилд зарегистрировал появление ауры при стимуляции крючка. В 1951 г. при проведении стимуляции миндалевидного тела был получен типичный приступ ауры и впервые поставлен вопрос о роли амигдало-гиппокампального комплекса в развитии височных приступов. В дальнейшем Джаспер и Пенфилд предположили, что успех операции зависит от полноты удаления всей эпилептогенной зоны. Неудаленная часть могла обуславливать рецидивы приступов и способствовать повторным вмешательствам. Анализируя вышеописанное, врачи пришли к выводу, что объем резекции должен быть расширен.

В апреле 1939 г. первым пациентом с инвазивной записью ЭЭГ в палате был мужчина 32 лет с травмой головы в результате дорожно-транспортного происшествия [12]. Эпилептические приступы, которые длились около 30 мин, проявлялись потерей сознания, наличием ауры, агрессивным поведением. При первом поступлении в стационар ему была проведена рентгенография черепа, по данным которой выявлен травматический дефект в теменной области. Пневмоэнцефалография обнаружила диффузную атрофию мозга, более выраженную на левой стороне. При повторном поступлении на лечение по данным ЭЭГ выявлена эпилептиформная активность в левой и правой височных областях. Поскольку было обнаружено несоответствие клинических и электрофизиологических данных, Пенфилд впервые имплантировал электроды на височные поверхности обеих височных долей. Анализ ЭЭГ показал патологическую активность на левой стороне, в связи с чем было выполнено удаление

эпилептогенной зоны под местной анестезией. С целью предупреждения развития негативных последствий хирургического вмешательства впервые использовалась интраоперационная стимуляция коры мозга для выявления сенсорных и моторных областей (картирование головного мозга). В послеоперационном периоде приступы у пациента не прекратились, и ЭЭГ не показала существенных улучшений. Сразу после операции больной находился в удовлетворительном состоянии, однако на следующий день развились нарушения речи вместе с фокальными и генерализованными приступами. Подтвержденная по ЭЭГ зона начала приступа локализовалась близко к границе речевой зоны, что не позволило провести повторное оперативное вмешательство.

С использованием субдурального ЭЭГ-мониторинга стало очевидно, что не только латеральная часть коры больших полушарий является эпилептогенной, но и глубинные структуры, вероятно, могут играть роль в развитии эпилептического приступа. На экспериментальных моделях животных в работах того периода показано, что источником эпилептиформной активности могут быть таламус и другие базальные ганглии. Однако значение таламокортикальных взаимосвязей и медленноволновой активности по-прежнему было не до конца понятным [13, 14]. При этом эффективной оказалась резекция глубинно расположенных медиальных структур височных долей при височной эпилепсии. Предполагалось, что структуры, соединяющие оба полушария головного мозга (передняя, задняя комиссуры, мозолистое тело), являются проводниками к гомологичным участкам головного мозга. Таким образом, необходимость в изучении глубинных структур головного мозга на предмет наличия в них эпилептогенных участков становилась все более актуальной.

В 1949 г. Роберт Хайн и Рассел Мейерс впервые в истории выполнили установку электродов в глубинные структуры мозга и выявили независимую эпилептиформную активность в глубинных и поверхностных участках головного мозга [15]. Этот пример послужил поводом для более подробного изучения кортикальных и субкортикальных структур. Однако в связи с отсутствием в то время специальных инструментов для установки электродов в необходимые участки головного мозга ее точность была очень низкой, что отражалось на расположении электродов относительно ЭЗ.

Точкой отсчета прецизионной имплантации электродов в желаемую область стала концепция французского нейрохирурга Жана Талайра [16], который связывал трехмерное пространство

с маловариабельными структурами (передняя и задняя комиссуры) в головном мозге, тем самым создав современную модель координат для стереотаксических операций на голове. По этим координатам с помощью специальной рамы Талайра заводил электроды в глубинные структуры головного мозга, в 1957 г. создав первый в мире стереотаксический атлас. Работая в госпитале Св. Анны в Париже, он завязал знакомство с неврологом-нейрофизиологом Жаном Банко, которое переросло в тесное и успешное сотрудничество. Их совместные труды по разработке системы для имплантации электродов в глубинные структуры позволили проводить анализ распространения приступа во времени и «в пространстве» головного мозга. Такую концепцию анализа ЭЭГ и метод имплантации они назвали стерео-ЭЭГ. Данный способ получил широкое распространение благодаря хорошей информативности, переносимости пациентами данной процедуры, при этом длительность записи ЭЭГ увеличилась от нескольких дней до недель.

Стерео-ЭЭГ позволила Талайру и Банко выдвинуть собственную гипотезу об ЭЗ [17]. В отличие от гипотезы Пенфилда и Джаспера, согласно которой маркером ЭЗ были интериктальные спайки и приступы, возникающие во время стимуляции области интереса, которую в дальнейшем резецировали, теория французских исследователей основывалась на точном выявлении начальных ЭЭГ-изменений при приступе. При этом изменения на ЭЭГ по Джасперу авторы предлагали соотнести с «ирритативной зоной», которая расценивалась скорее как функциональная, нежели структурная. Анатомо-клинико-электрофизиологические корреляты зоны начала приступов, зоны поражения и ирритативной зоны они назвали «эпилептогенной сетью».

Вплоть до 1980-х годов стерео-ЭЭГ была практически золотым стандартом инвазивного ЭЭГ-мониторирования у пациентов с эпилепсией. Затем вновь возрос интерес к применению субдуральных электродов и их модификаций, а также усовершенствованию техники. Этому способствовал ряд недостатков при использовании стерео-ЭЭГ, а именно дороговизна исследования, огромные затраты времени, необходимость опыта интерпретации результатов. Мариэлла Фишер-Уильямс продемонстрировала безопасность и успех использования субдуральных решеток [18]. Много преимуществ давали различные конфигурации электродов с широким покрытием поверхности головного мозга и детальным анализом функционально значимых зон. Кроме того, улучшались техники имплантации, стал использоваться подвисочный доступ для достиже-

ния глубинных медиальных структур эпилепсии. Несколько позже в Швейцарии были разработаны специальные электроды для установки через овальные отверстия основания черепа, способные регистрировать эпилептиформную активность с медиальных отделов височных долей. При сочетанном использовании данных электродов со скальповой ЭЭГ процедура приобрела полунвазивный характер [5].

В настоящее время инвазивная ЭЭГ не только обнаруживает ЭЗ, но и стимулирует их с целью прерывания развития эпилептического приступа. С 2000-х годов проводились исследования таких систем стимуляции «с обратной связью» [19]. Подобные системы, которые имплантируются в мозг больного, позволяют в автоматическом режиме регистрировать начинающийся эпилептический приступ и одновременно его прерывать путем электростимуляции ЭЗ. Для проведения подобной операции необходимо точное знание локализации зоны начала приступа, которое стало возможным благодаря инвазивной ЭЭГ и записи ЭЭГ-паттерна приступа. После операции устройство необходимо калибровать и проводить неоднократную проверку его способности регистрировать эпилептический приступ. Эффективность данной процедуры демонстрирует уменьшение частоты приступов на 40 % в первый год лечения, на 60 % за 3 года и на 66 % при 5-летнем наблюдении.

Будущим направлением регистрации приступов, возможно, станет эндоваскулярная методика имплантации электродов [20]. Она включает в себя установку в глубинные области мозга платиновых контактов диаметром не более 0,1 мм, проводимых по венозным или артериальным сосудам больного. Впервые подобная возможность ЭЭГ-записи была продемонстрирована Ричардом Пенном в 1973 г. С тех пор внутрисосудистые катетеры и стенты с электродами были модифицированы и в настоящее время позволяют относительно безопасно проводить запись ЭЭГ с минимальной травматичностью. Данные, получаемые с помощью подобных устройств, возможно, позволят выбирать вид оперативного лечения и уменьшат количество открытых инвазивных ЭЭГ. В настоящее время использование методики ограничено для рутинного применения ввиду невозможности проведения хронической записи ЭЭГ, ограничений в количестве областей мозга для ЭЭГ-мониторинга и артефактов на ЭЭГ, получаемых от тока крови. Требуется больше доказательных данных с современными системами на человеке. Несмотря на это, данная технология может быть перспективной для записи ЭЭГ не только при подозрении на эпилепсию, например,

в области височной доли, но и для интерфейсов компьютер – мозг.

Особенности современного этапа инвазивной ЭЭГ. Современная хирургия эпилепсии, основанная на широкой базе данных, позволяет достигнуть значительного снижения частоты приступов или купировать их вовсе, тем самым повышая уровень качества жизни пациентов. Многие дополнительные методы обследования (магнитоэнцефалография, позитронно-эмиссионная томография, однофотонная эмиссионная компьютерная томография, функциональная магнитно-резонансная томография (МРТ) и трактография, синхронные комбинированные методы обследования) позволяют получить информацию о локализации ЭЗ и их количестве для дальнейшего выбора вида оперативного вмешательства. К настоящему моменту накоплены сведения об эффективности и возможных осложнениях различных видов хирургических техник. Оперативное лечение проводится в крупных клиниках, имеющих широкое и современное оснащение, при участии междисциплинарной команды, которая занимается вопросами эпилепсии.

Существует единый подход к лечению больного, страдающего медикаментозно-резистентной эпилепсией: для определения лечебной тактики необходимо применение неинвазивных методов исследования, позволяющих с большой точностью определять вовлеченные в эпилепсию зоны мозга. С появлением в 1980-х годах компьютерной и магнитно-резонансной томографии отмечалось резкое снижение частоты проведения инвазивной ЭЭГ. Видимые поражения головного мозга на снимках часто совпадали с информацией, получаемой путем скальповой ЭЭГ. Так нейрохирурги могли планировать оперативное лечение без необходимости в дополнительных инвазивных диагностиках. И только в отдельных случаях при расхождении данных ЭЭГ и МРТ или при отсутствии эпилептогенного поражения на МРТ проводятся операции по установке интракраниальных электродов. Однако сохраняется некоторая приверженность хирургических клиник к использованию тех или иных методов диагностики эпилепсии. Особенно это прослеживается при выборе инвазивной ЭЭГ для поиска ЭЗ [10, 21]. К примеру, большинство университетов и институтов стран Северной Америки предпочитают субдуральные электроды в виде сеток, а в Европе по-прежнему используется стерео-ЭЭГ.

Интраоперационное использование ЭЭГ ограничено узким рядом показаний и выполняется лишь в некоторых центрах по лечению эпилеп-

сии. Применение интраоперационной ЭЭГ может применяться для [4]:

- 1) мониторингирования активности мозга при картировании функциональных зон;
- 2) определения границ и полноты резекции.

Однако имеют место вопросы при проведении интраоперационной ЭЭГ, в частности: какую роль играет ирритативная зона для определения прогноза? что делать с областью, где имеются зоны стойкой эпилептиформной активности после резекции эпилептогенного очага?

В настоящее время для проведения инвазивного ЭЭГ-видеомониторинга существует ряд показаний, которых придерживается хирургическое сообщество [5]: 1) расхождение данных о зоне начала приступа, полученных по результатам неинвазивных и инвазивных процедур; 2) зона начала приступа располагается близко к функциональной коре головного мозга; 3) определение границ резекции.

Имеет место возрастающий интерес к стерео-ЭЭГ во многих клинических центрах [10, 21, 22]. Такой тенденции способствуют проведение международных научных и образовательных конференций и мастер-классов, свободные перемещения по миру, взаимодействие с зарубежными коллегами, а также доступность технического оснащения и наличие накопленных литературных данных. Среди преимуществ стерео-ЭЭГ выделяют [23, 24]: 1) большой объем покрытия мозговой ткани; 2) возможность проведения процедуры с двух сторон; 3) возможность одновременной оценки потенциалов с поверхностных и глубинных структур; 4) наличие данных о распространении разряда приступа в пространственно-временном отношении; 5) хорошая переносимость процедуры пациентами; 6) точность расположения электродов. Недостатками стерео-ЭЭГ считают: 1) невозможность ее проведения в детском возрасте при толщине кости менее 3 мм; 2) сложность планирования и интерпретации данных; 3) ограниченное покрытие коркового слоя мозга; 4) дороговизну метода; 5) ограниченные возможности для картирования функциональных зон мозга.

Совершенствуются различные методы установки внутримозговых электродов. При выполнении стерео-ЭЭГ используются стереотаксические рамы и технологии безрамной навигации, которые позволяют устанавливать электроды по заранее сформированным траекториям на стереотаксических моделях головного мозга. Траектории создаются на основании данных МРТ и компьютерной томографии (КТ) с коротким шагом исследования для «объединения» модели головного мозга больного с математической си-

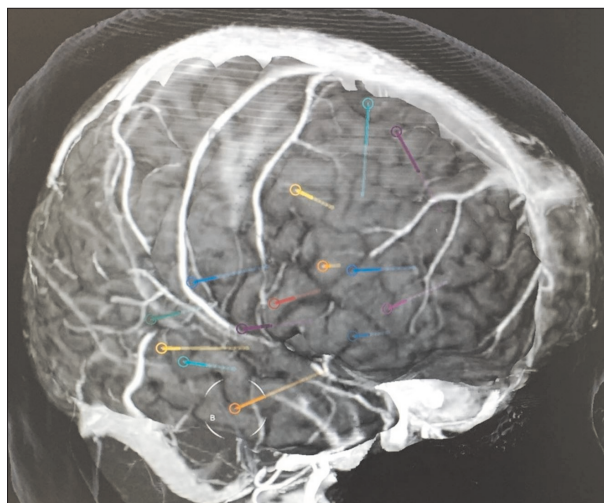


Рис. 1. Схема планирования установки электродов для стерео-ЭЭГ

Fig. 1. The stereoelectroencephalography planning

стемой координат. При использовании рамной технологии навигации на голову больного на время операции крепится стереотаксическая рама. С ней выполняются МРТ- и КТ-исследования, во время которых происходит слияние модели мозга и системы координат с помощью соответствующего программного обеспечения. Безрамная методика проводится в несколько упрощенной технологии, в которой специальные фиксаторы крепятся к голове больного для последующего КТ-исследования и дальнейшей программной обработки данных. Для максимальной точности попадания электродов в интересующие области мозга может применяться роботизированная техника: повторяя вышеописанные методы создания стереотаксических систем мозга, она имплантирует электроды по заданным параметрам под строгим контролем хирурга. Пример проведения стерео-ЭЭГ представлен на рис. 1, 2.

Для субдуральных сеток (решеток) преимущества заключаются в следующем [4]: 1) широкое покрытие коры головного мозга; 2) возможность определения границ резекции и картирования функциональной зоны; 3) имеется визуальный контроль установки электродов. Недостатки субдуральных электродов: 1) необходимость большой краниотомии; 2) сложность проведения билатеральной имплантации; 3) невозможность регистрации потенциалов с глубинных структур. Пример наложения субдуральных сеток показан на рис. 3, 4. Субдуральные полоски отличаются меньшей инвазией, «слепым» методом установки (под контролем интраоперационного рентгена), хорошей переносимостью операции при двусторонней имплантации. Установка электродов



Рис. 2. Интраоперационная фотография. Отображена минимальная инвазивность стерео-ЭЭГ при широком охвате областей мозга

Fig. 2. Intraoperative photo. The minimal invasiveness and wide coverage of brain are presented

овального отверстия является полуинвазивным методом, поскольку сочетается со скальповой ЭЭГ, хорошо переносится пациентами даже при двусторонней имплантации, имеет низкую частоту осложнений. Из минусов можно отметить то,

что передние отделы гиппокампа, миндалина, расположенные в медиальных отделах височной доли, остаются без покрытия электродами.

Эффективность и частота осложнений перечисленных методов вариabельны (табл. 1). В целом невозможно утверждать, что какая-то одна методика имеет однозначное преимущество для рутинного использования (табл. 2) [36, 37]. Кроме того, проводятся исследования по выявлению предикторов успешного выявления ЭЗ (взаимосвязь с этиологией эпилепсии, типом приступов, категориями больных и т.д.).

Детальный анализ ЭЗ с помощью инвазивной ЭЭГ в будущем позволит улучшить исходы хирургических операций. В настоящее время может проводиться анализ не только ЭЭГ-паттерна приступа (иктальная запись), но и высокочастотных осцилляций межприступной активности [38]. Чаще исследуется ночная межприступная активность, поскольку влияние артефактов и физиологических осцилляций минимально. Данный биологический маркер по многим наблюдениям различных исследователей может дополняться к идентификации ЭЗ. Резекция участков иктальной активности в сочетании с областью высокочастотных осцилляций приводит к лучшим результатам лечения. Согласно данным мультицентрового проспективного исследования, в группе пациентов с удаленной областью высокочастотных осцилляций чаще наблюдалось полное исчезновение

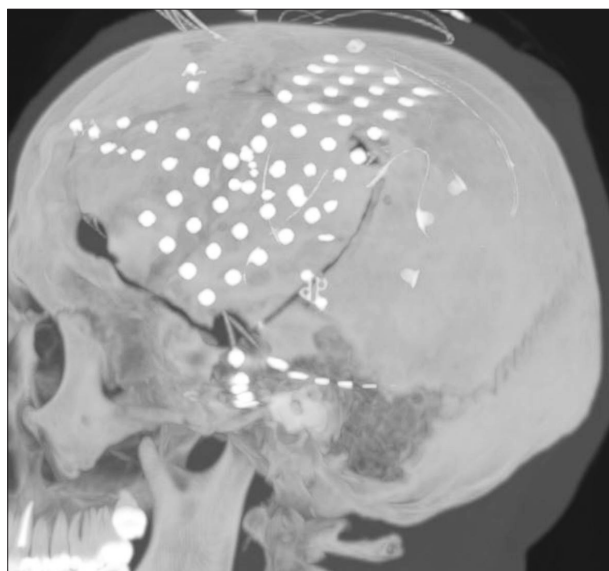


Рис. 3. КТ головного мозга в проекции максимальной интенсивности (MIP). Отображено расположение электродных сеток и полосок на височной, лобной, теменной долях

Fig. 3. Maximal intensive projection (MIP) of head CT. Subdural grids and strips are placed on temporal, frontal and parietal lobes

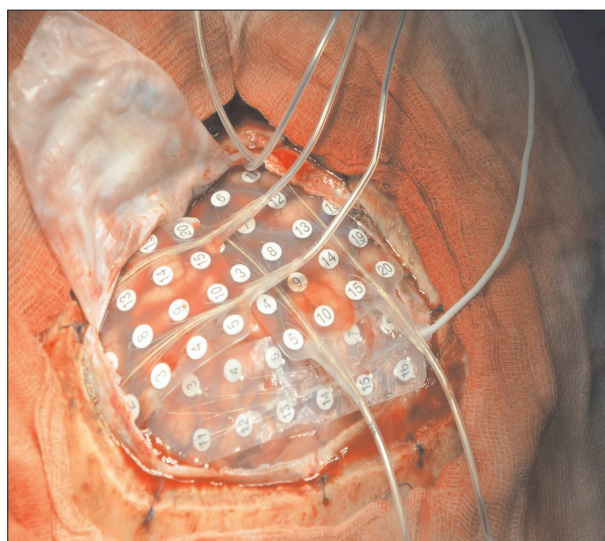


Рис. 4. Интраоперационная фотография. В области краниотомии визуализируются имплантированные на поверхность лобной и височной долей субдуральные сетки электродов

Fig. 4. Intraoperative photo. In the craniotomy implanted grid electrodes are located on surface of temporal and frontal lobes

Таблица 1. Сведения по инвазивной ЭЭГ из разных источников за 2000–2020 гг., включающих крупные выборки пациентов

Table 1. Different large patient series with invasive EEG for 2000–2020

Страна	Вид публикации	Возрастная характеристика больных	Эпилепсия	Количество пациентов	Вид мониторинга	Количество больных с резективной хирургией, %	Средний срок наблюдения, мес.	Количество больных после операции без приступов, %	Частота осложнений, %	Ссылка
Италия	Ретроспективная серия	Взрослые и дети	Разные виды	211	Стерео-ЭЭГ	82	12	56	5,6	[25]
США	Ретроспективная серия	Взрослые и дети	Разные виды	200	Стерео-ЭЭГ	87	24	68	4,5	[26]
Китай	Ретроспективная серия	Дети	Разные виды	137	Субдуральные решетки и глубинные электроды	97	24	49	21	[27]
США	Ретроспективная серия	Взрослые и дети	Разные виды	91	Субдуральные решетки и полоски	77	42	34	11	[28]
США	Ретроспективная серия	Взрослые и дети	Разные виды	102	Субдуральные решетки	82	22	70	Нет данных	[29]
США	Ретроспективная серия	Взрослые	Височная	42	Электроды овального отверстия	63	22,5	72	4,8	[30]
Франция	Ретроспективная серия	Дети	Височная	38	Электроды овального отверстия	71	77	93	2,6	[31]
Бразилия	Ретроспективная серия	Взрослые и дети	Височная	64	Электроды овального отверстия	52	Нет данных	67	Нет данных	[32]
Канада	Ретроспективная серия	Взрослые	Височная	139	Субдуральные полоски	94	36	53	3	[33]
Великобритания	Ретроспективная серия	Взрослые	Височная	57	Субдуральные полоски	30	40,4	55	5	[34]
Канада	Ретро-, проспективная серия	Взрослые	Разные виды	450	Стерео-ЭЭГ и субдуральные полоски	44	Нет данных	Нет данных	5	[35]

Таблица 2. Сравнительные характеристики методов инвазивной ЭЭГ

Table 2. Comparative features of invasive EEG modalities

Характеристика	ЭЭГ с субдуральными полосками	ЭЭГ с субдуральными сетками	ЭЭГ с электродами овального отверстия	Стерео-ЭЭГ
Точность установки	-	++	++	++
Частота осложнений	+	--	++	+
Билатеральная имплантация электродов	+	--	++	+
Регистрация с кортикальной поверхности	++	++	--	-
Регистрация с глубинных отделов	--	--	+	++
Возраст пациентов	Взрослые и дети	Взрослые и дети	С 2–3 лет	С 2–3 лет
Переносимость операции пациентами	Хорошая	Плохая	Отличная	Хорошая
Объем операции	+	--	++	--
Картирование коры мозга	+	++	--	--

приступов, чем в группе больных, у которых она не удалялась [39]. Многие проблемы, такие как дифференциация патологических высокочастотных и физиологических осцилляций, методы и технические ограничения их регистрации, значение в оценке ЭЗ, остаются не решенными. Важно, что некоторые пациенты могут избавиться от судорог после операции, несмотря на оставшиеся зоны головного мозга с высокочастотными осцилляциями, что приводит к дополнительным вопросам и пересмотру значения последних. По мере накопления данных в доказательной медицине алгоритмы диагностики и лечения пациентов с эпилепсией будут совершенствоваться.

Заключение

Через 5 лет после первой публикации о регистрации у человека ЭЭГ для определения ЭЗ была выполнена кортикография. К настоящему моменту инвазивная ЭЭГ уже имеет богатую историю ее применения. Используемые методы инвазивной ЭЭГ могут иметь взаимодополняющий характер, позволяя увеличить частоту выявления ЭЗ и подобрать соответствующий вид хирургического вмешательства. Для оптимизации вмешательств при эпилепсии и выработки определенных клинических алгоритмов требуется проведение дополнительных исследований с достаточным уровнем доказательности и сравнением эффективности методик. Новые перспективные технологии с использованием обратной связи, мини-инвазивные техники ЭЭГ и хирургическое лечение позволят повысить качество помощи больным с эпилепсией.

Список литературы / References

1. Крылов В.В., Гехт А.Б., Трифонов И.С., Лебедева А.В., Каймовский И.Л., Синкин М.В., Григорьева Е.В., Гришкина М.Н., Шишкина Л.В., Кочеткова О.О. Исходы хирургического лечения пациентов с фармакорезистентными формами эпилепсии. *Журн. неврологии и психиатрии*. 2016; 116 (9): 13–18. doi:10.17116/jnevro20161169213-18
2. Krylov V.V., Guekht A.B., Trifonov I.S., Lebedeva A.V., Kaimovsky I.L., Sinkin M.V., Grigorieva E.V., Grishkina M.N., Shyshkina L.V., Kochetkova O.O. Outcomes of surgical treatment of patients with pharmacoresistant epilepsy. *Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii imeni Sergeya Sergeevicha Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2016; 116 (9): 13–18. [In Russian]. doi:10.17116/jnevro20161169213-18
3. Banerjee P., Filippi D., Hauser W.A. The descriptive epidemiology of epilepsy – A review. *Epilepsy Res.* 2009; 85 (1): 31–45. doi:10.1016/j.epilepsyres.2009.03.003
4. Jin P., Wu D., Li X., Ren L., Wang Y. Towards precision medicine in epilepsy surgery. *Ann. Transl. Med.* 2016; 4 (2): 24. doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2015.12.65
5. Jayakar P., Gotman J., Harvey A., Palmini A., Tassi L., Schomer D., Dubeau F., Bartolomei F., Yu A., Kršek P., Velis D., Kahane P. Diagnostic utility of invasive EEG for epilepsy surgery: Indications, modalities, and techniques. *Epilepsia*. 2016; 57 (11): 1735–1747. doi: 10.1111/epi.13515
6. Taussig D., Montavont A., Isnard J. Invasive EEG explorations. *Neurophysiol. Clin.* 2015; 45 (1): 113–119. doi:10.1016/j.neucli.2014.11.006
7. Fisch B. Spehlmann's EEG Primer. Amsterdam: Elsevier, 1997. 642 p.

7. Girvin J. History of epilepsy surgery. In: *Operative Techniques in Epilepsy*. Switzerland: Springer International Publishing, 2014. 307 p.
8. Olivier A., Boling W., Tanriverdi T. History of epilepsy surgery. In: *Techniques in Epilepsy Surgery*. United Kingdom: Cambridge University Press, 2012. 298 p.
9. Тягун Н.С., Мухин К.Ю. Развитие хирургии эпилепсии со второй половины XIX до середины XX века. *Рус. журн. дет. неврологии*. 2009; 4 (3): 41–46.
10. Tyagun N.S., Mukhin E.Yu. Development of epilepsy surgery in the 2-nd half of XIX through mid-XX century. *Russkiy zhurnal detskoy neurologii = Russian Journal of Child Neurology*. 2009; 4 (3): 41–46. [In Russian].
11. Reif P., Strzelczyk A., Rosenow F. The history of invasive EEG evaluation in epilepsy patients. *Seizure*. 2016; 41: 191–195. doi:10.1016/j.seizure.2016.04.006
12. Berger H. Über das elektrenkephalogramm des menschen. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*. 1929; 87: 527–570. doi: 10.1055/s-0028-1130334
13. Berger H. About the human electroencephalogram. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten = Archives for Psychiatry and Nervous Diseases*. 1929; 87: 527–570. [In German]. doi: 10.1055/s-0028-1130334
14. Almeida A., Martinez V., Feindel W. The first case of invasive EEG monitoring for the surgical treatment of epilepsy: Historical significance and context. *Epilepsia*. 2005; 46 (7): 1082–1085. doi:10.1111/j.1528-1167.2005.66404.x
15. Jasper H., Marsan C., Stoll J. Experimental studies of the subcortical projections of local cortical epileptiform discharge. *Trans. Am. Neurol. Assoc.* 1951; 56: 3–9.
16. Lennox M., Brody B. Paroxysmal slow waves in the electro-encephalograms of patients with epilepsy and with subcortical lesions. *J. Nerv. Ment. Dis.* 1946; 104 (3): 237–248. doi:10.1097/00005053-194609000-00001
17. Hayne R., Meyers R., Knott J. Characteristics of electrical activity of human corpus striatum and neighboring structures. *J. Neurophysiol.* 1949; 12 (3): 185–196. doi:10.1152/jn.1949.12.3.185
18. Talairach J., Bancaud J., Bonis A., Szikla G., Tournoux P. Functional stereotaxic exploration of epilepsy. *Confin. Neurol.* 1962; 22 (3-5): 328–331. doi:10.1159/000104378
19. Talairach J., Bancaud J. Lesion, «irritative» zone and epileptogenic focus. *Confin. Neurol.* 1966; 27 (1): 91–94. doi:10.1159/000103937
20. Northfield D. Experiment and neurological surgery. *Br. Med. J.* 1968; 4 (5629): 471–477. doi:10.1136/bmj.4.5629.471
21. Matias C., Sharan A., Wu C. Responsive neurostimulation for the treatment of epilepsy. *Neurosurg. Clin. N. Am.* 2019; 30 (2): 231–242. doi:10.1016/j.nec.2018.12.006
22. Sefcik R., Opie N., John S., Kellner C., Mocco J., Oxley T. The evolution of endovascular electroencephalography: historical perspective and future applications. *Neurosurg. Focus.* 2016; 40 (5): E7. doi:10.3171/2016.3.focus15635
23. Katz J., Abel T. Stereoelectroencephalography versus subdural electrodes for localization of the epileptogenic zone: what is the evidence? *Neurotherapeutics*. 2019; 16 (1): 59–66. doi: 10.1007/s13311-018-00703-2
24. Зуев А.А., Головтеев А.Л., Педяш Н.В., Калыбаева Н.А., Броннов О.Ю. Возможности хирургического лечения фармакорезистентной эпилепсии с использованием робот-ассистированной имплантации глубоких электродов для проведения инвазивной стереоэлектроэнцефалографии. *Нейрохирургия*. 2020; 22 (1): 12–20. doi:10.17650/1683-3295-2020-22-1-12-20
25. Zuev A.A., Golovtsev A.L., Pedyash N.V., Kalybaeva N.A., Bronov O.Yu. Possibilities for surgical treatment of the pharmacoresistant form of epilepsy using robot-assisted implantation of deep electrodes for invasive stereoelectroencephalography. *Neurokhirurgiya = Neurosurgery*. 2020; 22 (1): 12–20. [In Russian]. doi:10.17650/1683-3295-2020-22-1-12-20
26. Podkorytova I., Hoes K., Lega B. Stereo-encephalography versus subdural electrodes for seizure localization. *Neurosurg. Clin. N. Am.* 2016; 27 (1): 97–109. doi:10.1016/j.nec.2015.08.008
27. Minotti L., Montavont A., Scholly J., Tyvaert L., Taussig D. Indications and limits of stereoelectroencephalography (SEEG). *Neurophysiol. Clin.* 2018; 48 (1): 15–24. doi:10.1016/j.neucli.2017.11.006
28. Cossu M., Cardinale F., Castana L., Citterio A., Francione S., Tassi L., Benabid A., Russo G. Stereoelectroencephalography in the presurgical evaluation of focal epilepsy: a retrospective analysis of 215 procedures. *Neurosurgery*. 2005; 57 (4): 706–718. doi:10.1227/01.neu.0000176656.33523.1e
29. Serletis D., Bulacio J., Bingaman W., Najm I., González-Martínez J. The stereotactic approach for mapping epileptic networks: a prospective study of 200 patients. *J. Neurosurg.* 2014; 121 (5): 1239–1246. doi:10.3171/2014.7.jns132306
30. Yang P., Zhang H., Pei J., Tian J., Lin Q., Mei Z., Zhong Z., Jia Y., Chen Z., Zheng Z. Intracranial electroencephalography with subdural and/or depth electrodes in children with epilepsy: Techniques, complications, and outcomes. *Epilepsy Res.* 2014; 108 (9): 1662–1670. doi:10.1016/j.eplesyres.2014.08.011
31. Vale F., Pollock G., Dionisio J., Benbadis S., Tatum W. Outcome and complications of chronically implanted subdural electrodes for the treatment of medically resistant epilepsy. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2013; 115 (7): 985–990. doi:10.1016/j.clineuro.2012.10.007
32. Mullin J., Sexton D., Al-Omar S., Bingaman W., Gonzalez-Martinez J. Outcomes of subdural

- grid electrode monitoring in the stereoelectroencephalography era. *World Neurosurg.* 2016; 89: 255–258. doi:10.1016/j.wneu.2016.02.034
30. Sheth S., Aronson J., Shafi M., Phillips H., Velez-Ruiz N., Walcott B., Kwon C., Mian M., Dykstra A., Cole A., Eskandar E. Utility of foramen ovale electrodes in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.* 2014; 55 (5): 713–724. doi:10.1111/epi.12571
31. Nilsson D., Fohlen M., Jalin C., Dorfmueller G., Bulteau C., Delalande O. Foramen ovale electrodes in the preoperative evaluation of temporal lobe epilepsy in children. *Epilepsia.* 2009; 50 (9): 2085–2096. doi:10.1111/j.1528-1167.2009.02135.x
32. Velasco T., Sakamoto A., Alexandre V., Walz R., Dalmagro C., Bianchin M., Araújo D., Santos A., Leite J., Assirati J., Carlotti C. Foramen ovale electrodes can identify a focal seizure onset when surface eeg fails in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.* 2006; 47 (8): 1300–1307. doi:10.1111/j.1528-1167.2006.00547.x
33. Massot-Tarrús A., Steven D., McLachlan R., Mirsattari S., Diosy D., Parrent A., Blume W., Girvin J., Burneo J. Outcome of temporal lobe epilepsy surgery evaluated with bitemporal intracranial electrode recordings. *Epilepsy Res.* 2016; 127: 324–330. doi:10.1016/j.epilepsyres.2016.08.008
34. Valentín A., Hernando-Quintana N., Moles-Herbera J., Jimenez-Jimenez D., Mourente S., Malik I., Selway R., Alarcón G. Depth versus subdural temporal electrodes revisited: Impact on surgical outcome after resective surgery for epilepsy. *Clin. Neurophysiol.* 2017; 128 (3): 418–423. doi:10.1016/j.clinph.2016.12.018
35. Joswig H., Lau J., Abdallat M., Parrent A., MacDougall K., McLachlan R., Burneo J., Steven D. Stereoelectroencephalography versus subdural strip electrode implantations: feasibility, complications, and outcomes in 500 intracranial monitoring cases for drug-resistant epilepsy. *Neurosurgery.* 2020; 87 (1): E23–E30. doi:10.1093/neuros/nyaa112
36. Yan H., Katz J., Anderson M., Mansouri A., Remick M., Ibrahim G., Abel T. Method of invasive monitoring in epilepsy surgery and seizure freedom and morbidity: A systematic review. *Epilepsia.* 2019; 60 (9): 1960–1972. doi:10.1111/epi.16315
37. Toth M., Papp K., Gede N., Farkas K., Kovacs S., Isnard J., Hagiwara K., Gyimesi C., Kuperczko D., Doczi T., Janszky J. Surgical outcomes related to invasive EEG monitoring with subdural grids or depth electrodes in adults: A systematic review and meta-analysis. *Seizure.* 2019; 70: 12–19. doi:10.1016/j.seizure.2019.06.022
38. Park C., Hong S. High frequency oscillations in epilepsy: detection methods and considerations in clinical application. *J. Epilepsy Res.* 2019; 9 (1): 1–13. doi:10.14581/jer.19001
39. Jacobs J., Wu J., Perucca P., Zelmann R., Mader M., Dubeau F., Mathern G., Schulze-Bonhage A., Gotman J. Removing high-frequency oscillations. *Neurology.* 2018; 91 (11): e1040–e1052. doi:10.1212/wnl.00000000000006158

Сведения об авторах:

Виджай Мансович Джафаров, ORCID: 0000-0002-5337-8715, e-mail: mvijayd@hotmail.com
Джамиль Афетович Рзаев, д.м.н., ORCID: 0000-0002-1209-8960, e-mail: jamilrzaev@gmail.com

Information about the authors:

Vidzhai M. Dzhaferov, ORCID: 0000-0002-5337-8715, e-mail: mvijayd@hotmail.com
Jamil A. Rzaev, doctor of medical science, ORCID: 0000-0002-1209-8960, e-mail: jamilrzaev@gmail.com

Поступила в редакцию 07.07.2020
 После доработки 23.07.2020
 Принята к публикации 04.09.2020

Received 07.07.2020
 Revision received 23.07.2020
 Accepted 04.09.2020

Дофаминергическая система и ее взаимосвязь с гипоталамо-гипофизарно-гонадной и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системами (обзор литературы)

И.Н. Молодовская

*ФИЦ комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН
163000, г. Архангельск, наб. Северной Двины, 23*

Резюме

Выполнен обзор данных литературы об активности центральной и периферической дофаминергической системы, а также ее взаимосвязи с гипоталамо-гипофизарно-гонадной и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системами. Уровень дофамина у людей варьирует в зависимости от территории их проживания, при этом данные о его возрастной динамике противоречат друг другу, что не позволяет сделать однозначный вывод о снижении или повышении содержания нейротрансмиттера в плазме крови с возрастом. Большинство исследований сосредоточено на функциях дофамина в центральной нервной системе. Симптомы некоторых заболеваний головного мозга, включая шизофрению, болезнь Паркинсона, синдром дефицита внимания и гиперактивности, депрессию, смягчаются фармакологической модуляцией его передачи. Вместе с тем существуют доказательства функциональной роли периферического дофамина. В то время как дофамин центральной дофаминергической системы ингибирует секрецию тиротропина, на периферии синтезируемый симпатoadреналами нервными клетками, гепариноцитами и парафолликулярными клетками щитовидной железы нейротрансмиттер стимулирует образование и выброс йодтиронинов. Нейропротекторные эффекты половых стероидов определяют распространенность исследований их роли в сохранении и поддержании активности дофаминергической системы, которая, в свою очередь, влияет на уровень половых гормонов, усиливая активность ароматазы, ингибируя синтез или секрецию пролактина, регулируя содержание гонадотропинов и стероидогенез в клетках Лейдига. Периферические и центральные дофаминовые системы чувствительны к воздействию окружающей среды, что указывает на взаимосвязь периферического и центрального звеньев.

Ключевые слова: дофамин, дофаминергическая система, половые гормоны, тиреоидные гормоны.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Автор выражает благодарность сотрудникам лаборатории эндокринологии имени проф. А.В. Ткачева ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН в лице доктора биологических наук Е.В. Типисовой, кандидата биологических наук В.А. Попковой, кандидата биологических наук А.Э. Елфимовой за оказанную помощь в сборе и анализе библиографических данных. Работа выполнена в соответствии с планом ФНИР (фундаментальных научно-исследовательских работ) ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН по теме «Выяснение модулирующего влияния содержания катехоламинов в крови на гормональный профиль у человека и гидробионтов Европейского Севера» (номер гос. регистрации АААА-А19-119120990060-0).

Автор для переписки: Молодовская И.Н., e-mail: pushistiy-86@mail.ru

Для цитирования: Молодовская И.Н. Дофаминергическая система и ее взаимосвязь с гипоталамо-гипофизарно-гонадной и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системами (обзор литературы). *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (6): 34–43. doi: 10.15372/SSMJ20200604

Dopaminergic system and its relationship with the hypothalamic-pituitary-gonadal and hypothalamic-pituitary-thyroid systems (review)

I.N. Molodovskaya

*N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of UrO RAS
163000, Arkhangelsk, Severnoy Dviny emb., 23*

Abstract

This article reviews literature data on the activity of the central and peripheral dopaminergic systems, as well as its relationship with the hypothalamic-pituitary-gonadal and hypothalamic-pituitary-thyroid systems. Studies have shown that dopamine levels vary depending on the territory of residence, while the data on the age dynamics of the plasma dopamine level contradict each other, which does not allow an unambiguous conclusion about a decrease or increase in its level with age. Most studies focus on the functions of dopamine in the central nervous system. Symptoms of several brain diseases, including schizophrenia, Parkinson's disease, attention deficit and hyperactivity disorders and depression, are alleviated by the pharmacological modulation of dopamine transmission. However, there is evidence of a functional role of peripheral dopamine. While dopamine of the central dopaminergic system inhibits the secretion of thyrotropin, dopamine synthesized by sympathoadrenal nerve cells, heparinocytes, and thyroid parafollicular cells on the periphery stimulates the formation and release of iodothyronines. The neuroprotective effects of sex steroids determine the prevalence of studies of their role in preservation and maintaining the activity of the dopaminergic system. The dopaminergic system also affects the levels of sex hormones, enhancing aromatase activity, inhibiting the synthesis or secretion of prolactin, regulating the levels of gonadotropins and steroidogenesis in Leydig cells. The peripheral and central dopamine systems are sensitive to environmental influences, which indicate the relationship between the peripheral and central links.

Key words: dopamine, dopaminergic system, sex hormones, thyroid hormones.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The author is grateful to the staff of the laboratory of endocrinology named after prof. A.V. Tkachev in the person of Doctor of Biological Sciences E.V. Tipisova, Candidate of Biological Sciences V.A. Popcova, Candidate of Biological Sciences A.E. Elfimova for the assistance in collecting and analyzing bibliographic data. The reported study was funded by the FCIARctic according to the research project: «Elucidation of the modulating effect of the catecholamine levels on the hormonal profile in humans and aquatic organisms of the European North» (AAAA-A19-119120990060-0).

Correspondence author: Molodovskaya I.N., e-mail: pushistiy-86@mail.ru

Citation: Molodovskaya I.N. Dopaminergic system and its relationship with the hypothalamic-pituitary-gonadal and hypothalamic-pituitary-thyroid systems (review). *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (6): 34–43. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200604

Введение

Дофамин является катехоламиновым нейротрансмиттером, который также выступает в роли предшественника в синтезе других нейротрансмиттеров, включая норадреналин и адреналин. Дофаминергические системы участвуют во многих функциях (исполнение, обучение, вознаграждение, мотивация, нейроэндокринный контроль), и нарушение их работы может быть связано с множеством заболеваний и расстройств. Выделяют центральную и периферическую дофаминергическую системы. Большинство исследований было сосредоточено на функциях дофамина в центральной нервной системе, при этом существуют обширные данные о его периферических источниках и эффектах, а также о широко распространенной экспрессии дофаминергических рецепторов в периферических тканях.

Дофаминергические нейроны среднего мозга служат основным источником дофамина в центральной нервной системе млекопитающих. Дофамин, активный в мезолимбическом, нигростеральном, тубероинфундибулярном и мезокортикальном путях вознаграждения химический

мессенджер, играет центральную роль в системе вознаграждений, обучении, сексуальном поведении, контроле тошноты и рвоты, в восприятии боли, в регуляции сна, настроения и внимания, в гипоталамическом контроле эндокринной функции гипофиза (подавлении выработки пролактина). Кроме того, он также участвует в управлении движением, эмоциями и в усвоении новых знаний [1]. Дофаминергические нейроны широко распространены и обнаруживаются в гипоталамусе, обонятельной луковице, черной субстанции среднего мозга и вентральной области покрышки, а также в периакведуктальном сером веществе мозга и сетчатке глаз. Разнообразие физиологических эффектов дофамина опосредовано пятью различными подтипами рецепторов, связанных с G-белком. Два подтипа D_1 -подобных рецепторов (D_1 и D_5) взаимодействуют с G-белком и активируют аденилатциклазу, другие принадлежат к D_2 -подобному подсемейству (D_2 , D_3 и D_4), ингибируют аденилатциклазу и активируют K^+ -каналы [2, 3].

Существуют данные, указывающие на то, что дофаминергическая дисфункция вызывает симптомы болезни Паркинсона, шизофрении, обес-

сивно-компульсивного расстройства, синдрома дефицита внимания и гиперактивности. Также хорошо известно, что эйфорические реакции, вызываемые наркотиками, такими как амфетамин и кокаин, опосредованы центральной дофаминергической системой [4, 5].

Периферическая дофаминергическая система функционально отличается от центральной ввиду неспособности дофамина преодолевать гематоэнцефалический барьер. Ее физиологическая роль заключается в регуляции функции почек, иммунной, сердечно-сосудистой, симпатической и гормональной систем организма. Источниками периферического дофамина служат симпатические нервы, мозговой слой надпочечников и нейроэндокринные клетки (апудоциты, или клетки APUD-системы), распространенные в эпителии желудочно-кишечного тракта, пищевода, поджелудочной железы и почек [6]. Таким образом, периферический синтез дофамина является как зависимым, так и независимым от нейронных элементов. Во-первых, изменения его уровня в плазме в основном определяются активностью симпатических нервов, которые могут выделять дофамин в паренхиму органов-мишеней. Во-вторых, нейротрансмиттер может высвобождаться непосредственно в кровоток из синтезирующих катехоламин клеток мозгового слоя надпочечников подобно норадреналину и адреналину. Кроме того, клетки APUD-системы являются дополнительным источником дофамина в периферических тканях. При этом В. Rubí и Р. Maechler предположили, что периферические источники дофамина связаны функционально и могут иметь общую регуляцию [6].

Возрастные изменения концентрации дофамина в плазме крови интересовали многих исследователей. Однако данные, представленные в литературе, несколько противоречат друг другу и не позволяют сделать однозначный вывод о динамике дофамина с возрастом. Согласно О.В. Коркушко с соавторами, при старении уровень дофамина, как и адреналина, практически не изменяется, а концентрация предшественника дофамина 3,4-диоксифенилаланина (ДОФА) уменьшается [7]. Другими исследователями показано отсутствие зависимости содержания в крови ДОФА от возраста [8]. К. Hashizume et al. установили повышение плазматического уровня норадреналина и дофамина с возрастом [9]. Что касается норадреналина, то в других исследованиях его концентрация с возрастом снижалась [10] или не изменялась [11]. При этом падению содержания дофамина, отмеченному у пациентов с болезнью Паркинсона, сопутствует депрессия, снижение сексуальной активности и уменьше-

ние скорости анаболических реакций [12]. Понижение уровня дофамина с возрастом отмечали также в экспериментах, проведенных на самцах крыс [13]. Кроме того, экспериментальные данные свидетельствуют о возрастном снижении чувствительности к катехоламинам в миоцитах [14].

Интересно отметить, что уровень дофамина может зависеть как от территории проживания, так и от продолжительности пребывания в суровых климатических условиях. Так, при обследовании молодых людей, проходивших службу в Ставропольском крае, Н.Н. Околитко установила, что у выходцев из Северо-Западного федерального округа содержание дофамина в крови выше, чем у военнослужащих, прибывших из Центрального и Южного федеральных округов. Данное отличие автор связывает с климато-географическими условиями постоянного места жительства [15]. М.Т. Луценко отмечает более высокое содержание дофамина у проживающих в экстремальных условиях Северо-Востока РФ в течение 10–15 лет по сравнению с теми, кто находится в данных условиях не более трех лет [16].

Взаимоотношение дофаминергической и гипоталамо-гипофизарно-гонадной систем. В мозгу половые гормоны действуют как нейроактивные стероиды, регулирующие функцию нейроэндокринных диэнцефальных структур, таких как гипоталамус. Кроме того, стероиды могут оказывать физиологическое воздействие на средний мозг, кору и лимбическую долю головного мозга, влияя на такие виды поведения, как память, обучение, настроение и вознаграждение [17]. Экспериментальные исследования нигростриальной области мозга крыс выявили наличие рецепторов к тестостерону и эстрадиолу [18–20]. Согласно наблюдениям одних исследователей, эстрадиол способен сокращать участки связывания D₂-рецепторов [21, 22], в то время как другие, наоборот, отмечают увеличение их числа [23], а третьи – отсутствие изменения в плотности таких участков [24]. При этом стерилизация самок крыс приводила к снижению количества D₁- и D₂-рецепторов мозга [24, 25].

Повреждение нигростриального дофаминергического пути приводит к одному из наиболее распространенных нейродегенеративных заболеваний – болезни Паркинсона, которая у женщин наблюдается в два раза реже, чем у мужчин, что может быть связано с различным соотношением уровней половых гормонов [26]. Благодаря нейропротекторному действию эстрадиол у женщин поддерживает содержание дофамина на необходимом уровне, в то время как у мужчин тестостерон либо не оказывает никакого эффекта, либо способствует снижению содержания дофамина

[4]. В то же время лечение пациентов, страдающих паркинсонизмом, содержащими тестостерон препаратами продемонстрировало положительный эффект на физическую активность [27] и психическое здоровье [28–30].

В последние десятилетия влияние эстрогенов на моноаминовые нейротрансмиттеры головного мозга, связанные с мотивированным поведением, обучением и передвижением, было предметом многих исследований [21, 31, 32]. В ряде работ показано, что введение эстрадиола способствует снижению уровня дофамина переносчика (транспортера дофамина), который связывает нейротрансмиттер и осуществляет его обратный захват из синапса в нейрон, в результате чего внеклеточный уровень дофамина повышается [22, 33–35]. Это может быть связано со способностью эстрадиола ингибировать экспрессию данного транспортера [36, 37]. Возрастное падение числа дофаминовых переносчиков у здоровых мужчин [38] может быть результатом увеличения содержания сывороточного эстрадиола.

Повышение уровня дофамина в периферической крови у лиц, не страдающих нейродегенеративными заболеваниями, может быть связано также с недостатком катехол-О-метилтрансферазы (COMT), участвующей в катаболизме дофамина. COMT является повсеместно распространенным ферментом, который высоко экспрессируется в большинстве тканей. В то же время эстрадиол метаболизируется в печени до 2-гидроксиэстрадиола, который, циркулируя в крови, может быть преобразован при участии COMT в 2-метоксиэстрадиол. Известно, что опосредованное COMT-превращение эстрадиола в биологически более активный метаболит метоксиэстрадиол, оказывает кардиозащитные эффекты и предотвращает катаболизм катехоламинов: производные эстрадиола активно конкурируют с катехоламинами за связывание с COMT, что увеличивает катехоламинергическую передачу [39]. Кроме того, эстрадиол уменьшает содержание циркулирующей моноаминоксидазы – одного из основных ферментов, участвующих в инактивации моноаминов [40].

Экспериментальные исследования с использованием крыс выявили противоречивые результаты эффекта тестостерона на концентрацию дофамина; в одних работах концентрация моноамина повышалась [41], в других – снижалась [42, 43], в третьих – не изменялась [44, 45]. Так, показано, что тестостерон увеличивает экспрессию мРНК COMT и моноаминоксидазы в черной субстанции головного мозга самцов крыс и повышает уровень дофамина переносчика, что подразумевает возрастание оборота дофамина и приводит к снижению его содержания [18], а го-

надэктомия у самцов приматов ассоциирована со снижением числа переносчиков дофамина [46]. Другие источники, напротив, свидетельствуют о том, что гонадэктомия самцов крыс не влияет на плотность D₁- и D₂-рецепторов [47] и концентрацию дофамина [48]. Существуют также исследования, в которых тестостерон подавляет функцию дофамина переносчика [49].

Дофамин регулирует сексуальное поведение мужчин, действуя в медиальной преоптической зоне гипоталамуса совместно с тестостероном [50]. Эксперименты на самцах крыс показали повышение высвобождения дофамина в медиальную преоптическую зону гипоталамуса в период прекопуляторного поведения в присутствии течной самки и во время копуляции, необходимым условием для этого является наличие тестостерона в данной области мозга. При этом у кастрированных самцов дофаминовый ответ отсутствовал, восстанавливаясь при проведении терапии с использованием тестостерона [51, 52]. Дофаминергическая система в то же время регулирует уровень тестостерона: так, ингибиторы обратного захвата дофамина снижают содержание тестостерона в сыворотке крови самцов крыс [53].

Описаны некоторые эффекты периферического дофамина в модулировании функции половых желез. Дофамин регулирует соотношение тестостерона к эстрадиолу, изменяя уровень ароматазы [54, 55] – фермента, определяющего функцию тестостерона в активации сексуального поведения мужчин [56]. Тестостерон превращается в эстрадиол в мышечной, жировой или центральной нейроэндокринной тканях [57]. В литературе описана способность моноаминов регулировать ароматазную активность в определенных областях мозга, что позволяет сигналам окружающей среды оказывать влияние на данный фермент [58]. Экспериментально доказано, что к механизмам влияния дофамина на ароматизацию тестостерона относятся активация транскрипции гена ароматазы посредством системы вторичных мессенджеров [54, 59, 60] и подавление Ca²⁺-зависимого фосфорилирования, основного пути инактивации фермента [61].

Помимо прямого выделяют и опосредованное влияние дофамина на активность ароматазы, связанное с его способностью подавлять синтез и секрецию пролактина [62–64], основного ингибитора фермента [65]. Кроме того, моноамин ингибирует пролиферацию лактотрофов [66], а нарушение данного процесса может вызвать развитие гиперплазии гипофиза [67]. В последнее время использование стимуляторов рецепторов дофамина является оптимальным лечением такой патологии гипофиза, как гиперпролактинемия

[68]. Чтобы регулировать свою собственную секрецию, пролактин обеспечивает обратную связь, увеличивая секрецию и синтез дофамина за счет изменения активности тирозингидроксилазы, ключевого фермента биосинтеза катехоламинов [69].

Дофамин оказывает действие на клетки-мишени, активируя не только дофаминовые, но и адренергические рецепторы (альфа- и бета-типов), локализованные в тестикулах млекопитающих на клетках Лейдига и Сертоли [70]. Так, активация нейротрансмиттером β_2 -адренорецепторов запускает стероидогенез в клетках Лейдига [71]. В то же время в экспериментальных исследованиях на крысах введение с пищей агонистов дофамина привело к снижению функции клеток Лейдига (к сокращению количества рецепторов к лютеинизирующему гормону и, как следствие, к уменьшению синтеза тестостерона, на фоне повышения ароматазной активности) [72].

Исследования срединного возвышения гипоталамуса показали, что дофамин, связываясь с D_2 -рецепторами, подавляет возбудимость нейронов, синтезирующих гонадотропин-рилизинг-гормон [73], что определяет его участие в секреции гонадотропных гормонов [74–76]. Однако доказательства противоречивы, и кроме ингибирующего известно также и о стимулирующем эффекте дофамина. Так, в исследованиях нервных окончаний, выделенных из гипоталамуса крыс, обнаружено, что нейромедиатор в более низких концентрациях, чем те, которые использовались ранее, стимулирует синтез гонадотропин-рилизинг-гормона [77].

Взаимоотношение дофаминэргической и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной систем. Гормоны щитовидной железы имеют решающее значение во время развития и во взрослом организме. Экспериментальные исследования выявили связь дофаминэргической системы с элементами гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы [78]. Одним из источников периферического дофамина служит симпатoadреналовая система, состоящая из симпатических нервных окончаний и мозгового слоя надпочечников. Термогенные эффекты йодтиронинов обеспечиваются их совместным действием с симпатoadреналовой системой для поддержки постоянной температуры тела. Известно, что в периферических тканях, особенно в бурой жировой ткани, катехоламины стимулируют дейодиназу второго типа – фермент, способствующий превращению тироксина в биологически более активный метаболит трийодтиронин [79].

Катехоламиновые структуры головного мозга регулируют тиреоидную активность уже на уровне гипофиза. Известно, что одним из важнейших

гормонов в организме человека на всех этапах онтогенеза является тиреотропный гормон (ТТГ), управляющий функцией щитовидной железы. Синтез ТТГ находится в прямой зависимости от активности тиреотропин-рилизинг-гормона, запускающего транскрипцию гена β -субъединицы ТТГ, а дофамин лимитирует скорость этого процесса [80]. Хорошо известно и о стимулирующем влиянии нейротрансмиттера на секрецию соматостатина, подавляющего выделение ТТГ [81]. Ингибирующее действие дофамина на ТТГ подтверждено рядом экспериментальных исследований. Так, будучи введенным здоровым людям внутривенно в фармакологических дозах (0,1 мкг/кг/мин), он ингибирует секрецию ТТГ [82]. Использование ингибиторов дофамина соотносится с повышением концентрации ТТГ [83]. Интересно отметить, что дофамин стимулирует секрецию тиреотропин-рилизинг-гормона гипоталамуса крыс, но при этом снижает сыровоточный уровень ТТГ. Таким образом, можно предположить, что дофамин одновременно стимулирует активность гипоталамуса и подавляет деятельность тиреотропоцитов гипофиза [84].

Известно о синергичном взаимодействии тиреоидной и симпатoadреналовой систем в ходе адаптации организма к холоду. Экспериментальные исследования гипотиреоидных крыс выявили компенсаторное повышение синтеза катехоламинов в условиях холодового воздействия, связанное с изменением активности дофамин- β -гидроксилазы [85].

Ряд исследований выявили модуляцию тиреоидными гормонами важнейших нейротрансмиттерных систем мозга, включая дофаминэргическую. Тиреотропин-рилизинг-гормон повышает выброс дофамина из нервных окончаний [86]. Показано, что состояние дофаминовых рецепторов и активность тирозингидроксилазы зависят от тиреоидного статуса. Так, гипотиреоз ведет к повышению чувствительности и концентрации дофаминовых рецепторов [83, 87] и одновременно снижает скорость синтеза катехоламинов в различных областях мозга [88], провоцируя гиперпролактинемия [89], и в то же время ускоряет образование дофамина в надпочечниках [90]. Возможно, это связано с гетерогенной реактивностью к недостатку гормонов щитовидной железы в центральной нервной системе и на периферии.

А. Melander указывает на наличие в составе щитовидной железы ряда обеспечивающих аминэргическую регуляцию ее активности аминсодержащих клеток (симпатoadреналовые нервные клетки, гепариноциты, парафолликулярные клетки). Одним из эффектов ТТГ на тиреоидные клетки является запуск образования гепарино-

цитов и активация выпуска из них дофамина, который оказывает паракринное действие на тиреоциты благодаря наличию на их поверхности α -адренергических рецепторов, тем самым напрямую запуская синтез йодтиронинов [91]. При этом тесная иннервация фолликулярных клеток симпатическими нервными волокнами представляет собой морфологическую основу бессосудистого влияния на клетки щитовидной железы [92].

Таким образом, дофаминергической системе принадлежит ключевая роль в центральной нервной системе, в то же время она играет немаловажную роль и на периферии, в том числе в физиологической регуляции гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной и гипоталамо-гипофизарно-гонадной систем. Преимущественный вклад в увеличение плазматического уровня дофамина вносят симпатические нервы, что в целом отражает общую активность симпатoadrenalовой системы. Другими источниками периферического дофамина кроме симпатических терминалий выступают хромоаффинные клетки мозгового слоя надпочечников и клетки APUD-системы.

Список литературы / References

1. Шпаков А.О., Деркач К.В., Сухов И.Б. Дофаминовая сигнальная система мозга при сахарном диабете 2-го типа и метаболическом синдроме. *Цитология*. 2016; 58 (3): 167–177.
2. Shpakov A.O., Derkach K.V., Sukhov I.B. The brain dopamine signaling system in type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Tsitologiya = Cell and Tissue Biology*. 2016; 58 (3): 167–177. [In Russian].
3. Gurevich E.V., Gainetdinov R.R., Gurevich V.V. G protein-coupled receptor kinases as regulators of dopamine receptor functions. *Pharmacol. Res.* 2016; 111: 1–16 doi: 10.1016/j.phrs.2016.05.010
4. Yin J., Chen K.M., Clark M.J., Hijazi M., Kumari P., Bai X., Sunahara R.K., Barth P., Rosenbaum D.M. Structure of a D2 dopamine receptor–G-protein complex in a lipid membrane. *Nature*. 2020; 584: 125–129. doi: 10.1038/s41586-020-2379-5
5. Dela Peña I., Gevorkiana R., Shi W.X. Psychostimulants affect dopamine transmission through both dopamine transporter-dependent and independent mechanisms. *Eur. J. Pharmacol.* 2015; 764: 562–570. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.07.044
6. O’Connell K.S., McGregor N.W., Lochner C., Emsley R., Warnich L. The genetic architecture of schizophrenia, bipolar disorder, obsessive-compulsive disorder and autism spectrum disorder. *Mol. Cell Neurosci.* 2018; 88: 300–307. doi: 10.1016/j.mcn.2018.02.010
7. Rubí B., Maechler P. Minireview: New roles for peripheral dopamine on metabolic control and tumor growth: let’s seek the balance. *Endocrinol.* 2010; 151 (12): 5570–5581. doi: 10.1210/en.2010-0745
8. Коркушко О.В., Асанов Э.О., Писарук А.В., Беликова М.В. Реакция симпатoadrenalовой системы на гипоксический стресс у пожилых людей. *Пробл. старения и долголетия*. 2007; 16 (1): 3–10.
9. Korkushko O.V., Asanov E.O., Pissaruk A.V., Belikova M.V. Sympathoadrenal system response to hypoxic stress in the elderly people. *Problemy stareniya i dolgoletiya = Aging and Longevity Problems*. 2007; 16 (1): 3–10. [In Russian].
10. Esler M.D., Thompson J.M., Kaye D.M., Turner A.G., Jennings G.L., Cox H.S., Lambert G.W., Seals D.R. Effects of aging on the responsiveness of the human cardiac sympathetic nerves to stressors. *Circulation*. 1995; 91 (2): 351–358. doi: 10.1161/01.cir.91.2.351
11. Hashizume K., Yamamoto A., Ogihara T. Free and total dopamine in human plasma: effect of posture, age and some pathophysiological conditions. *Hypertens. Res.* 1995; 18 (1): 205–207. doi: 10.1291/hypres.18.SupplementI_S205
12. Фролькис В.В. Стресс-возраст-синдром. *Физиол. журн. СССР*. 1991; 37 (3): 3–11.
13. Frol’kis V.V. Stress-age-syndrome. *Fiziologicheskii zhurnal imeni Ivana Mikhaylovicha Sechenova Soyuz Sovetskikh Sotsialisticheskikh Respublik = Journal of Physiology of USSR*. 1991; 37 (3): 3–11. [In Russian].
14. Ng A.V., Callister R., Johnson D.G., Seals D.R. Sympathetic neural reactivity to stress does not increase with age in healthy humans. *Am. J. Physiol.* 1994; 267: 344–353. doi: 10.1152/ajpheart.1994.267.1.H344
15. Левин О.С., Артемьев Д.В., Бриль Е.В., Кулуа Т.К. Болезнь Паркинсона: современные подходы к диагностике и лечению. *Практ. медицина*. 2017; 102 (1): 45–51.
16. Levin O.S., Artemyev D.V., Bril E.V., Kulua T.K. Parkinson’s disease: modern approaches to diagnosis and treatment. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*. 2017; 102 (1): 45–51. [In Russian].
17. Белоусова И.И. Возрастные особенности гормональной и нейрохимической регуляции репродуктивной функции самцов крыс с различным темпом старения: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 2012.
18. Belousova I.I. Age-related features of hormonal and neurochemical regulation of the reproductive function of male rats with different aging rates: abstract of thesis. ... cand.biol. sciences. Novosibirsk, 2012. [In Russian].
19. Ali D.C., Naveed M., Gordon A., Majeed F., Saeed M., Ogbuke M.I., Atif M., Zubair H.M., Changxing L. β -Adrenergic receptor, an essential target in cardiovascular diseases. *Heart Fail. Rev.* 2020; 25: 343–354. doi: 10.1007/s10741-019-09825-x
20. Околитко Н.Н. Адаптивные возможности организма военнослужащих Центрального, Южного и Северо-Западного федеральных округов в условиях Ставропольского гарнизона: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Майкоп, 2009.

Okolito N.N. Adaptive capabilities of the body of the military personnel of the Central, Southern and North-Western Federal Districts in the conditions of the Stavropol garrison: abstract dis. ... cand. biol. sciences. Maykop, 2009. [In Russian].

16. Луценко М.Т. Морфологические и нейро-гуморальные механизмы адаптации дыхательной системы у лиц, проживающих в условиях северо-востока России. 13-й Международный конгресс по Приполярной медицине: сб. тр. конгр., Новосибирск, 12–16 июня 2006 г. Новосибирск, 2006. 169–170.

Lutsenko M.T. Morphological and neurohumoral adaptation mechanisms of the respiratory system in individuals living in the north-east of Russia. 13th International Congress on Circumpolar Medicine: proc. Congr., Novosibirsk, June 12–16, 2006. Novosibirsk, 2006. 169–170. [In Russian].

17. Taxier L.R., Gross K.S., Frick K.M. Oestradiol as a neuromodulator of learning and memory. *Nat. Rev. Neurosci.* 2020; 21: 535–550. doi: 10.1038/s41583-020-0362-7

18. Purves-Tyson T.D., Owens S.J., Double K.L., Desai R., Handelsman D.J., Weickert C.S. Testosterone induces molecular changes in dopamine signaling pathway molecules in the adolescent male rat nigrostriatal pathway. *PLoS One*. 2014; 9 (3): e91151. doi: 10.1371/journal.pone.0091151

19. Ravizza T., Galanopoulou A.S., Velísková J., Moshé S.L. Sex differences in androgen and estrogen receptor expression in rat substantia nigra during development: an immunohistochemical study. *Neuroscience*. 2002; 115: 685–696. doi: 10.1016/s0306-4522(02)00491-8

20. Zhang T., Wang Y., Kang Y., Wang L., Zhao H., Ji X., Huang Y., Yan W., Cui R., Zhang G., Shi G. Testosterone enhances mitochondrial complex V function in the substantia nigra of aged male rats. *Aging (Albany NY)*. 2020; 12 (11): 10398–10414. doi: 10.18632/aging.103265

21. Gillies G.E., McArthur S. Estrogen actions in the brain and the basis for differential action in men and women: a case for sex-specific medicines. *Pharmacol. Rev.* 2010; 62 (2): 155–198. doi: 10.1124/pr.109.002071

22. Yoest K.E., Cummings J.A., Becker J.B. Estradiol, dopamine and motivation. *Cent. Nerv. Syst. Agents Med. Chem.* 2014; 14 (2): 83–89. doi: 10.2174/1871524914666141226103135

23. Levey G.S., Klein I. Catecholamine-thyroid hormone interactions and the cardiovascular manifestations of hyperthyroidism. *Am. J. Med.* 1990; 88 (6): 642–646. doi: 10.1016/0002-9343(90)90533-j

24. Lammers C.H., D'Souza U., Qin Z.H., Lee S.H., Yajima S., Mouradian M.M. Regulation of striatal dopamine receptors by estrogen. *Synapse*. 1999; 34 (3): 222–227. doi: 10.1002/(SICI)1098-2396(19991201)34:3<222::AID-SYN6>3.0.CO;2-J

25. Bossé R., Di Paolo T. The modulation of brain dopamine and CABA_A receptors by estradiol: A clue for

CNS changes occurring at menopause. *Cell. Mol. Neurobiol.* 1996; 16 (2): 199–212. doi: 10.1007/bf02088176

26. Cerri S., Mus L., Blandini F. Parkinson's disease in women and men: What's the difference? *J. Parkinsons Dis.* 2019; 9 (3): 501–515. doi: 10.3233/JPD-191683

27. Zhang G., Shi G., Tan H., Kang Y., Cui H. Intranasal administration of testosterone increased immobile-sniffing, exploratory behavior, motor behavior and grooming behavior in rats. *Horm. Behav.* 2011; 59 (4): 477–483. doi: 10.1016/j.yhbeh.2011.01.007

28. Avsar O. Is testosterone perspective available for neurodegenerative diseases? *Neuropsychiatry*. 2018; 8 (5): 1482–1489. doi: 10.4172/neuropsychiatry.1000481

29. Kenangil G., Orken D.N., Ur E., Forta H., Celik M. The relation of testosterone levels with fatigue and apathy in Parkinson's disease. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2009; 111 (5): 412–414. doi: 10.1016/j.clineuro.2008.11.019

30. Okun M.S., Wu S.S., Jennings D., Marek K., Rodriguez R.L., Fernandez H.H. Testosterone level and the effect of levodopa and agonists in early Parkinson disease: results from the INSPECT cohort. *J. Clin. Mov. Disord.* 2014; 1: 8. doi: 10.1186/2054-7072-1-8

31. Krolick K.N., Zhu Q., Shi H. Effects of estrogens on central nervous system neurotransmission: implications for sex differences in mental disorders. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2018; 160: 105–171. doi: 10.1016/bs.pmbts.2018.07.008

32. Raghava N., Das B.C., Ray S.K. Neuroprotective effects of estrogen in CNS injuries: insights from animal models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2017; 6: 15–29. doi: 10.2147/NAN.S105134

33. Chavez C., Hollaus M., Scarr E., Pavey G., Gogos A., van den Buuse M. The effect of estrogen on dopamine and serotonin receptor and transporter levels in the brain: an autoradiography study. *Brain Res.* 2010; 1321: 51–59. doi: 10.1016/j.brainres.2009.12.093

34. Thompson T.L., Certain M.E. Estrogen mediated inhibition of dopamine transport in the striatum. *Eur. J. Pharmacol.* 2005; 511 (2-3): 121–126. doi: 10.1016/j.ejphar.2005.02.005

35. Watson C.S., Jeng Y.J., Guptarak J. Endocrine disruption via estrogen receptors that participate in nongenomic signaling pathways. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2011; 127 (1-2): 44–50. doi: 10.1016/j.jsbmb.2011.01.015

36. Karakaya S., Kipp M., Beyer C. Oestrogen regulates the expression and function of dopamine transporters in astrocytes of the nigrostriatal system. *J. Neuroendocrinol.* 2007; 19: 682–690. doi: 10.1111/j.1365-2826.2007.01575.x

37. Labrie F., Ferland L., Beaulieu M. Sex steroids interact with dopamine at the hypothalamic and pituitary levels to modulate prolactin secretion. *J. Steroid Biochem.* 1980; 12: 323–330. doi: 10.1016/0022-4731(80)90287-3

38. Dreher J.C., Meyer-Lindenberg A., Kohn P., Berman K.F. Age-related changes in midbrain dopaminergic regulation of the human reward system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008; 105 (39): 15106–15111. doi: 10.1016/j.euroneuro.2008.08.003
39. Matt S.M., Gaskill P.J. Where is dopamine and how do immune cells see it?: dopamine-mediated immune cell function in health and disease. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2020; 15: 114–164. doi: 10.1007/s11481-019-09851-4
40. Hernández-Hernández O.T., Martínez-Mota L., Herrera-Pérez J.J. Role of estradiol in the expression of genes involved in serotonin neurotransmission: implications for female depression. *Curr. Neuropharmacol.* 2019; 17 (5): 459–471. doi: 10.2174/1570159X16666180628165107
41. de Souza Silva M.A., Mattern C., Topic B., Buddenberg T.E., Huston J.P. Dopaminergic and serotonergic activity in neostriatum and nucleus accumbens enhanced by intranasal administration of testosterone. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2009; 19 (1): 53–63. doi: 10.1016/j.euroneuro.2008.08.003
42. Engel J., Ahlenius S., Almgren O., Carlsson A., Larsson K., Södersten P. Effects of gonadectomy and hormone replacement on brain monoamine synthesis in male rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1979; 10 (1): 149–154. doi: 10.1016/0091-3057(79)90181-3
43. Tomas-Camardiel M., Sanchez-Hidalgo M.C., Sanchez del Pino M.J., Navarro A., Machado A., Cano J. Comparative study of the neuroprotective effect of dehydroepiandrosterone and 17 β -estradiol against 1-methyl-4-phenylpyridinium toxicity on rat striatum. *Neuroscience*. 2002; 109 (3): 569–584. doi: 10.1016/s0306-4522(01)00502-4
44. Goudsmit E., Feenstra M.G., Swaab D.F. Central monoamine metabolism in the Brown-Norway rat in relation to aging and testosterone. *Brain Res. Bull.* 1990; 25 (5): 755–763. doi: 10.1016/0361-9230(90)90054-4
45. Myers R.E., Anderson L.I., Dluzen D.E. Estrogen, but not testosterone, attenuates methamphetamine-evoked dopamine output from superfused striatal tissue of female and male mice. *Neuropharmacology*. 2003; 44 (5): 624–632. doi: 10.1016/s0028-3908(03)00043-1
46. Mizrahi R., Suridjan I., Kenk M., George T.P., Wilson A., Houle S., Rusjan P. Dopamine response to psychosocial stress in chronic cannabis users: a PET study with [^{11}C]-(+)-PHNO. *Neuropsychopharmacology*. 2013; 38 (4): 673–682. doi: 10.1038/npp.2012.232
47. Andersen S.L., Thompson A.P., Krenz E., Teicher M.H. Pubertal changes in gonadal hormones do not underline adolescent dopamine receptor overproduction. *Psychoneuroendocrinology*. 2002; 27 (6): 683–691. doi: 10.1016/s0306-4530(01)00069-5
48. Bitar M.S., Ota M., Linnoila M., Shapiro B.H. Modification of gonadectomy-induced increases in brain monoamine metabolism by steroid hormones in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2001; 16 (6): 547–557. doi: 10.1016/0306-4530(91)90038-u
49. Cui R., Kang Y., Wang L., Li S., Ji X., Yan W., Zhang G., Cui H., Shi G. Testosterone propionate exacerbates the deficits of nigrostriatal dopaminergic system and downregulates nrf2 expression in reserpine-treated aged male rats. *Front. Aging Neurosci.* 2017; 9: 172. doi: 10.3389/fnagi.2017.00172
50. Hull E.M., Dominguez J.M. Sexual behavior in male rodents. *Horm. Behav.* 2007; 52 (1): 45–55. doi: 10.1016/j.yhbeh.2007.03.030
51. Dirami G., Cooke B.A. Effect of a dopamine agonist on luteinizing hormone receptors, cyclic AMP production and steroidogenesis in rat Leydig cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1998; 150 (2): 393–401. doi: 10.1006/taap.1998.8429
52. Ely D., Toot J., Salisbury R., Ramirez R. Androgens alter brain catecholamine content and blood pressure in the testicular feminized male rat. *Clin. Exp. Hypertens.* 2011; 33 (2): 124–132. doi: 10.3109/10641963.2010.531840
53. Rehavi M., Attali G., Gil-Ad I., Weizman A. Suppression of serum gonadal steroids in rats by chronic treatment with dopamine and serotonin reuptake inhibitors. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2000; 10 (3): 145–150. doi: 10.1016/S0924-977X(00)00066-3
54. Xing L., Esau C., Trudeau V.L. Direct regulation of aromatase b expression by 17 β -estradiol and dopamine D1 receptor agonist in adult radial glial cells. *Front. Neurosci.* 2015; 9: 504. doi: 10.3389/fnins.2015.00504
55. Xing L., McDonald H., da Fonte D.F., Gutierrez-Villagomez J.M., Trudeau V.L. Dopamine D1 receptor activation regulates the expression of the estrogen synthesis gene aromatase B in radial glial cells. *Front. Neurosci.* 2015; 9: 310. doi: 10.3389/fnins.2015.00310
56. Barrado M.J.G., Blanco E.J., Hernández M.C., Osma M.C.I., Carretero M., Herrero J.J., Burks D.J., Carretero J. Local transformations of androgens into estradiol by aromatase p450 is involved in the regulation of prolactin and the proliferation of pituitary prolactin-positive cells. *PLoS One*. 2014; 9 (6): e101403. doi: 10.1371/journal.pone.0101403
57. Bhatnagar A.S. The discovery and mechanism of action of letrozole. *Breast Cancer Res. Treat.* 2007; 105 (1): 7–17. doi: 10.1007/s10549-007-9696-3
58. Balthazart J., Ball G.F. New insights into the regulation and function of brain estrogen synthase (aromatase). *Trends Neurosci.* 1998; 21 (6): 243–249. doi: 10.1016/s0166-2236(97)01221-6
59. Aversa A., Isidori A.M., Greco E.A., Giannetta E., Gianfrilli D., Spera E., Fabbri A. Hormonal supplementation and erectile dysfunction. *Eur. Urol.* 2004; 45 (5): 535–538. doi: 10.1016/j.eururo.2004.01.005
60. de Bournonville M.P., Vandries L.M., Ball G.F., Balthazart J., Cornil C.A. Site-specific effects of aromatase inhibition on the activation of male sexual behavior in male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Horm. Behav.* 2019; 108: 42–49. doi: 10.1016/j.yhbeh.2018.12.015

61. Balthazart J., Baillien M., Ball G.F. Interactions between kinases and phosphatases in the rapid control of brain aromatase. *J. Neuroendocrinol.* 2005; 17 (9): 553–559. doi: 10.1111/j.1365-2826.2005.01344.x
62. Ayano G. Dopamine: receptors, functions, synthesis, pathways, locations and mental disorders: review of literatures. *J. Ment. Disord. Treat.* 2016; 2: 120. doi:10.4172/2471-271X.1000120
63. Gonzalez-Iglesias A.E., Murano T., Li S., Tomić M., Stojilkovic S.S. Dopamine inhibits basal prolactin release in pituitary lactotrophs through pertussis toxin-sensitive and insensitive signaling pathways. *Endocrinology.* 2008; 149 (4): 1470–1479. doi: 10.1210/en.2007-0980
64. Gragnoli C., Reeves G.M., Reazer J., Postolache T.T. Dopamine–prolactin pathway potentially contributes to the schizophrenia and type 2 diabetes comorbidity. *Transl. Psychiatry.* 2016; 6 (4): e785. doi: 10.1038/tp.2016.50
65. Krasnow J.S., Hickey G.J., Richards J.S. Regulation of aromatase mRNA and estradiol biosynthesis in rat ovarian granulosa and luteal cells by prolactin. *Mol. Endocrinol.* 1990; 4 (1): 13–21. doi: 10.1210/mend-4-1-13
66. Bernard V., Young J., Chanson P., Binart N. New insights in prolactin: pathological implications. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2015; 11: 265–275. doi: 10.1038/nrendo.2015.36
67. Rattanukul C., Lenbury Y. A mathematical model of prolactin secretion: Effects of dopamine and thyrotropin-releasing hormone. *Math. Comp. Model.* 2009; 49 (9-10): 1883–1892. doi: 10.1016/j.mcm.2008.11.016
68. Bailey A.R., Burchett K.R. Effect of low-dose dopamine on serum concentration of prolactin in critically ill patients. *Br. J. Anaesth.* 1997; 78 (1): 97–99. doi: 10.1093/bja/78.1.97
69. Arbogast L.A., Voogt J.L. Prolactin receptors are colocalized in dopaminergic neurons in fetal hypothalamic cell cultures: effect of prolactin on tyrosine hydroxylase activity. *Endocrinology.* 1997; 138 (7): 3016–3023. doi: 10.1210/endo.138.7.5227
70. Huo S., Zhong X., Wu X., Li Y. Effects of norepinephrine and acetylcholine on the development of cultured Leydig Cells in mice. *J. Biomed. Biotechnol.* 2012; 2012: 503093. doi: 10.1155/2012/503093
71. Mayerhofer A., Bartke A., Began T. Catecholamines stimulate testicular steroidogenesis *in vitro* in the Siberian hamster, *Phodopus sungorus*. *Biol. Reprod.* 1993; 48 (4): 883–888. doi: 10.1095/biolreprod48.4.883
72. Putnam S.K., Sato S., Hull E.M. Effects of testosterone metabolites on copulation and medial preoptic dopamine release in castrated male rats. *Horm. Behav.* 2003; 44 (5): 419–426. doi: 10.1016/j.yhbeh.2003.06.006
73. Marcano de Cotte D., de Menezes C.E., Bennett G.W., Edwardson J.A. Dopamine stimulates the degradation of gonadotropin releasing hormone by rat synaptosomes. *Nature.* 1980; 283: 487–489. doi: 10.1038/283487a0
74. Henderson H.L., Townsend J., Tortorese D.J. Direct effects of prolactin and dopamine on the gonadotroph response to GnRH. *J. Endocrinol.* 2008; 197: 343–350. doi: 10.1677/JOE-07-0536
75. Hodson D.J., Henderson H.L., Townsend J., Tortorese D.J. Photoperiodic modulation of the suppressive actions of prolactin and dopamine on the pituitary gonadotropin responses to gonadotropin-releasing hormone in sheep. *Biol. Reprod.* 2012; 86 (4): 122. doi: 10.1095/biolreprod.111.096909
76. Liu X., Herbison A.E. Dopamine regulation of gonadotropin-releasing hormone neuron excitability in male and female mice. *Endocrinology.* 2013; 154 (1): 340–350. doi: 10.1210/en.2012-1602
77. Siris S.G., Siris E.S., van Kammen D.P., Docherty J.P., Alexander P.E., Bunney W.E. Effects of dopamine blockade on gonadotropins and testosterone in men. *Am. J. Psychiatry.* 1980; 137 (2): 211–214. doi: 10.1176/ajp.137.2.211
78. Mohammadi S., Dolatshahi M., Rahmani F. Shedding light on thyroid hormone disorders and Parkinson disease pathology: mechanisms and risk factors. *J. Endocrinol. Invest.* 2020; 127 (2). doi: 10.1007/s40618-020-01314-5
79. Coiro V., Volpi R., Cataldo S., Capretti L., Caffari G., Pilla S., Chiodera P. Dopaminergic and cholinergic involvement in the inhibitory effect of dexamethasone on the TSH response to TRH. *J. Investig. Med.* 2000; 48 (2): 133–136.
80. Pereira J.C., Pradella-Hallinan M., de Lins Pessoa H. Imbalance between thyroid hormones and the dopaminergic system might be central to the pathophysiology of restless legs syndrome: a hypothesis. *Clinics (Sao Paulo).* 2010; 65 (5): 548–554. doi: 10.1590/S1807-59322010000500013
81. Ben-Shlomo A., Liu N.A., Melmed S. Somatostatin and dopamine receptor regulation of pituitary somatotroph adenomas. *Pituitary.* 2017; 20 (1): 93–99. doi: 10.1007/s11102-016-0778-2
82. Connell J.M., Ball S.G., Balmforth A.J., Beastall G.H., Davies D.L. Effect of low-dose dopamine infusion on basal and stimulated TSH and prolactin concentrations in man. *Clin. Endocrinol. (Oxf.).* 1985; 23 (2): 185–192. doi: 10.1111/j.1365-2265.1985.tb00214.x
83. Santos N.C., Costa P., Ruano D., Macedo A., Soares M.J., Valente J., Pereira A.T., Azevedo M.H., Palha J.A. Revisiting thyroid hormones in schizophrenia. *J. Thyroid Res.* 2012. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3321576>. doi: 10.1155/2012/569147
84. Haugen B.R. Drugs that suppress TSH or cause central hypothyroidism. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009; 23 (6): 793–800. doi: 10.1016/j.beem.2009.08.003
85. Sato T., Imura E., Murata A., Igarashi N. Thyroid hormone-catecholamine interrelationship during

cold acclimation in rats. Compensatory role of catecholamine for altered thyroid states. *Acta Endocrinol. (Copenh.)*. 1986; 113 (4): 536–542. doi: 10.1530/acta.0.1130536

86. Grasso S., Buffa R., Martino E., Bartalena L., Curzio M., Salomone E. Gastrin (G) cells are the cellular site of the gastric thyrotropin-releasing hormone in human fetuses and newborns A chromatographic, radioimmunological, and immunocytochemical study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1992; 74: 1421–1426. doi: 10.1210/jcem.74.6.1592890

87. Crocker A.D., Overstreet D.H., Crocker J.M. Hypothyroidism leads to increased dopamine receptor sensitivity and concentration. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1986; 24 (6): 1593–1597. doi: 10.1016/0091-3057(86)90491-0

88. Diarra A., Lefauconnier J.M., Valens M., Georges P., Gripois D. Tyrosine content, influx and accumulation rate, and catecholamine biosynthesis measured in vivo, in the central nervous system and in peripheral

organs of the young rat. Influence of neonatal hypo- and hyperthyroidism. *Arch. Int. Physiol. Biochim.* 1989; 97 (5): 317–332. doi: 10.3109/13813458909104543

89. Coert A., Nievelstein H., Kloosterboer H.J., Loonen P., van der Vies J. Effects of hyperprolactinemia on the accessory sexual organs of the male rat. *Prostate*. 1985; 6 (3): 269–276. doi: 10.1002/pros.2990060306

90. Brent G.A. Mechanisms of thyroid hormone action. *J. Clin. Invest.* 2012; 122 (9): 3035–3043. doi: 10.1172/JCI60047

91. Melander A. Aminergic regulation of thyroid activity: Importance of the sympathetic innervation and of the mass cells of the thyroid gland. *Acta Med. Scand.* 1977; 201: 257–262. doi: 10.1111/j.0954-6820.1977.tb15696.x

92. Melander A., Ranklev E., Sundler F., Westgren U. Beta2-adrenergic stimulation of thyroid hormone secretion. *Endocrinology*. 1975; 97: 332–336. doi: 10.1210/endo-97-2-332

Сведения об авторе

Ирина Николаевна Молодовская, к.б.н., ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3097-9427>,
e-mail: pushistiy-86@mail.ru

Information about the author

Irina N. Molodovskaya, candidate of biological sciences, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3097-9427>,
e-mail: pushistiy-86@mail.ru

Поступила в редакцию 19.05.2020
После доработки 01.10.2020
Принята к публикации 18.10.2020

Received 19.05.2020
Revision received 01.10.2020
Accepted 18.10.2020

Клапан легочного ствола: спорные вопросы терминологии и анатомии

А.А. Якимов^{1,2}

¹ Уральский государственный медицинский университет Минздрава России
620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3

² Уральский Федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина
620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19

Резюме

Данные об анатомии клапанов сердца человека актуальны в связи с развитием кардиохирургии, лучевой и ультразвуковой диагностики, аддитивных технологий в биоинженерии. Из четырех клапанов сердца клапан легочного ствола изучен в наименьшей степени. Настоящая статья представляет собой обзор отечественных и зарубежных публикаций, посвященных спорным вопросам терминологии, макро- и микроскопического строения, проекционной и внутриорганной топографии клапана легочного ствола в условиях нормы. В статье уточнено соотношение понятий «pulmonary valve» и «pulmonary root», проанализированы имеющиеся в анатомии и кардиологии представления о компонентном составе клапанного комплекса. Согласно большинству современных публикаций, в состав клапана легочного ствола целесообразно включать межзаслоновые треугольники и комиссуры, эти понятия следует различать. Отмечена необоснованность использования термина «фиброзное кольцо» по отношению к входу в легочный ствол. Представлены морфометрические данные о периметре, диаметрах клапана, размерах полулунных заслонок, синусов, зависимости этих размеров от антропометрических параметров. Описаны достоинства и недостатки подходов, используемых при описании синусов и заслонок легочного ствола. Обобщены данные литературы о фиброархитектонике и цитоархитектонике клапана легочного ствола, о его анатомии в плодном периоде. Отмечена необходимость выработки единства подходов к описанию нормальной анатомии легочного ствола для развития доказательной морфологии.

Ключевые слова: нормальная анатомия человека, анатомическая терминология, сердце, клапаны сердца, легочный ствол, легочная артерия.

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

Автор для переписки. Якимов А.А., e-mail: ayakimov07@mail.ru

Для цитирования: Якимов А.А. Клапан легочного ствола: спорные вопросы терминологии и анатомии. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (6): 44–57. doi: 10.15372/SSMJ20200605

Pulmonary valve: contradictions in terminology and anatomy

A.A. Yakimov^{1,2}

¹ Ural State Medical University of Minzdrav of Russia
620028, Yekaterinburg, Repin str., 3

² Ural Federal University n.a. the First President of Russia B.N. Yeltsin
620002, Yekaterinburg, Mira str., 19

Abstract

Data on the anatomy of human heart valves is of a great importance for cardiac surgery, X-ray and ultrasound diagnostics, and additive technologies in bioengineering. This review analyzed Russian and English-written papers and presented contradictions of terminology, macroscopic and microscopic structure, topography of the normal pulmonary valve. The article compared such terms as «pulmonary valve» and «pulmonary root», the approaches of different scientific sources for naming the sinuses and leaflets and analyzed constituents of the pulmonary valve complex. Pulmonary root appeared

us to be a distinct structure that includes the distal part of right ventricular outlet and proximal part of the pulmonary trunk. Interleaflet triangles and valvular commissures as well as semilunar leaflets and sinuses of Valsalva are thought to be parts of pulmonary valve complex. According to modern concepts, interleaflet triangles and valvular commissures are not the same and should be distinguished. The mouth of the pulmonary root is not surrounded with planar fibrous ring which anybody could reveal by dissection or histology technics, so the “fibrous ring” of the pulmonary artery is nothing more than an anatomical myth. The paper cited morphometrical data on the perimeter, valve diameters, sizes of semilunar leaflets and sinuses, revealed various models of regression and correlation between the size of the valve and body parameters. We summarized data on cell and fiber architectonics of the valve. Terminological and morphometric consensus in heart valves anatomy is the mandatory step on the way to the evidence-based morphology.

Key words: gross anatomy, anatomical terminology, heart anatomy, heart valves, pulmonary valve, pulmonary artery.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Iakimov A.A., e-mail: aykimov07@mail.ru

Citation: Iakimov A. A. Pulmonary valve: contradictions in terminology and anatomy. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (6): 44–57. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200605

Введение

Интерес морфологов к строению сердца и его структур обусловлен стабильно высоким уровнем сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности. В частности, болезни клапанов сердца ежегодно приводят к смерти примерно 20 000 людей по всему миру. Врожденные пороки клапанов регистрируются примерно у одного ребенка из ста родившихся живыми [1]. При врожденных пороках клапанов сердца чаще других поражается клапан легочного ствола (ЛС). С 2014 по 2017 г. только в США детям выполнили 3488 операций по реконструкции тракта оттока правого желудочка (ПЖ) [2]. Точная диагностика и оперативное лечение этой, как и, впрочем, любой другой патологии, будут успешны лишь при четком представлении о типовой и вариантной анатомии, об эталонных, нормативных анатомических характеристиках клапана. Практическая значимость анатомических исследований клапанного аппарата обусловлена не только запросами лучевой, ультразвуковой диагностики и кардиохирургии – особую актуальность такие исследования приобретают в последние годы в связи с развитием аддитивных технологий в биоинженерии сердца [2–4].

Определение предмета и задач исследований невозможно без анализа, систематизации и обобщения накопленных в науке сведений. Нами проведен поиск обзоров, опубликованных и проиндексированных за 2010–2020 гг. в Scopus и e-library. В Scopus по выражению (TITLE «pulmonary valve» AND KEY «heart valve» OR KEY «cardiac valve») найден 41 обзор, из них лишь один [5] посвящен анатомии ЛС. В e-library

в названии, аннотации и ключевых словах журнальных статей в результате поиска по словам «клапан легочной артерии» нашли 390 статей, по словам «клапан легочного ствола» – 101¹. Дальнейший визуальный анализ названий и аннотаций этих 491 публикации обнаружил лишь одну обзорную статью по анатомии сердца [6], обзоров по нормальной морфологии клапана ЛС не найдено. Таким образом, обобщающие работы, в которых были бы проанализированы спорные вопросы строения, топографии и терминологии клапана ЛС, в современной литературе отсутствуют, что и определило цель настоящей работы.

Спорные вопросы терминологии

Как называть этот клапан? В сердце выделяют два вида клапанов: предсердно-желудочковые и клапаны присердечных артерий, аорты и ЛС. Последние нередко называют артериальными или желудочково-артериальными [7, 8]. Как правило, в клинических публикациях клапаны аорты и ЛС носят название полулунных. Между тем, очевидно, что использование термина «полулунный» оправдано лишь в отношении клапанных заслонок, но никак не в отношении всего клапана как функционального объединения анатомических структур, препятствующих возврату крови из аорты или ЛС в соответствующий желудочек. В отличие от аорты, клапан которой обозначают корректным термином «аортальный клапан» («aortic valve»), для именован

¹ Поисковые выражения вводили в окно «что искать» без кавычек. Результаты поиска приведены по состоянию на 01.06.2020.

на ЛС в большинстве англоязычных источников используют термин «pulmonary valve» [9–13], который вошел в новую редакцию официальной терминологии [14]. По нашему мнению, русский эквивалент данного термина не должен быть дословным переводом с иностранного языка («легочный клапан» [15, 16]), он должен звучать как «клапан ЛС», тем самым недвусмысленно отражая точную топографию этой структуры.

Что входит в состав клапана легочного ствола? В кардиоморфологии накоплено достаточно данных, которые позволяют усомниться в справедливости традиционных представлений о компонентном составе клапана ЛС и делают обоснованным их частичный пересмотр. Традиционно принято считать, что в состав клапана ЛС входят полулунные заслонки, синусы и фиброзное кольцо.

Как называть синусы и заслонки? В отечественной анатомии распространен традиционный подход, согласно которому у клапана ЛС имеется три синуса: передний, правый и левый [17]. Название того или иного синуса ЛС всегда совпадает с названием ограничивающей его полулунной заслонки. Синусы ЛС также называли передним, правым задним и левым задним [5, 18] либо правым передним, левым передним и задним [12] в силу их отношения к передней стенке грудной клетки и к грудино-реберной (передней) поверхности сердца. Однако терминология, основанная на таком подходе, уже не удовлетворяет клиницистов. Развитие лучевой диагностики, интервенционной кардиологии и кардиохирургии побудило использовать другой подход, согласно которому в названии синусов и заслонок ЛС должна быть отражена их внутриорганный топография, а именно соотношение с клапаном аорты [8]. Более 30 лет назад группа кардиоморфологов из Лейдена отметила, что клапаны аорты и ЛС расположены по отношению друг к другу, словно «лицом к лицу», и для именования синусов предложила термины «лицевой» (обращенный к соседнему сосуду, в случае с ЛС – к аорте) и «нелицевой». По официальной номенклатуре нелицевой синус соответствовал переднему, 1-й лицевой – левому, 2-й лицевой – правому [12]. Это обозначение синусов аорты и ЛС вошло в науку как лейденская терминология [9, 10, 15]. В последней, третьей редакции Международной анатомической терминологии полулунные заслонки клапана ЛС обозначены как правая смежная, левая смежная и несмежная (с аортой. – А.Я.). Эти термины точны, но несколько громоздки, что, по справедливому замечанию [14], нарушает принцип максимально возможной простоты и удобства терминологии.

Фиброзное кольцо легочного ствола: факт или миф? Если принадлежность полулунных заслонок и синусов ЛС, под которыми понимают пространства между заслонками и стенкой сосуда, его клапану общепризнана, то вопрос о существовании фиброзного кольца ЛС является дискуссионным. С одной стороны, есть сведения о том, что «на 16 неделе в полулунных клапанах четко дифференцируются фиброзные кольца» [19], у взрослых заслонки ЛС окружены жестким фиброзным кольцом («tough, fibrous annular ring») [11], но морфологические доказательства, на основании которых сделаны эти выводы, в вышеупомянутых источниках отсутствуют. Термин «базальное кольцо» использует Д.А. Старчик, но не уточняет, является ли это «кольцо» реальной анатомической структурой округлой формы («ring») или под ним следует понимать условную окружность («annulus») [20]. Кольцом ЛС называют «фиброзную структуру в артериальном корне, к которой прикрепляются полулунные заслонки» [9]. В диссертационном исследовании [21] получены сведения о размерах ветвей фиброзного кольца ЛС, но не раскрыто содержание этих понятий.

С другой стороны, получены убедительные доказательства отсутствия фиброзного кольца в составе клапана ЛС [18, 22, 23]. Ни классическое препарирование, ни изучение серийных срезов [10], ни мультисрезовая КТ с последующей трехмерной реконструкцией и виртуальным препарированием [18, 22] не обнаружили реальную анатомическую структуру из соединительной ткани, которая соединяла бы самые проксимальные пункты синусов ЛС, имея при этом форму замкнутого кольца, все точки которого лежат в одной евклидовой плоскости. То, что обычно называют кольцом ЛС, – не более чем отверстие, расположенное в плоскости, проходящей через самые проксимальные пункты полулунных заслонок. Для обозначения границ этого отверстия в лучевой и ультразвуковой диагностике предложены термины «эхокардиографическое кольцо», «виртуальное базальное кольцо» «imaging annulus» [7, 13]. В сердце человека, как и других млекопитающих, синусы и заслонки клапана ЛС опираются не на фиброзную структуру, а поддерживаются «рукавом» миокарда отдела оттока ПЖ² [6, 24, 25]. При этом миокард внедряется в базальные отделы всех трех синусов, в результате чего желудочково-артериальное соединение, как и в корне аорты, по отношению

² Для обозначения части миокарда правого желудочка, поддерживающего ЛС, в англоязычной литературе очень распространен термин «subpulmonary infundibulum».

к входу в клапан ЛС оказывается смещенным дистально.

Граница циркулярной формы между миокардом ПЖ и стенкой ЛС, на вскрытом ЛС имеющая вид почти прямой линии, получила название «анатомическое желудочково-артериальное соединение» [8, 10]. Недавнее исследование фиброзного скелета сердца показало, что скопление соединительной ткани по линии этого соединения слишком тонко, чтобы называться кольцом, которое можно было бы отпрепарировать, резецировать или рассматривать как опору при наложении швов во время операции [13]. Иногда термин «кольцо [аорты или ЛС]» используют для совокупного обозначения места прикрепления трех заслонок ЛС. Эта линия имеет форму трех последовательно соединенных между собой парабол и называется гемодинамическим желудочково-артериальным соединением. Участок клапана ЛС, расположенный выше этой линии, гемодинамически принадлежит ЛС, а расположенный ниже (проксимальнее) относится к ПЖ. После иссечения стенок синусов по этой линии основание клапана ЛС, как и клапана аорты, приобретает форму трехзубцовой короны (coronal-shaped, crown-like) [8]. Ни форма, ни тканевой состав не дают оснований рассматривать это соединение как фиброзное кольцо.

В 1995 г. J.P. Sutton III и соавт. опубликовали обзор, в котором впервые за много десятилетий обратили внимание кардиоморфологов на незаслуженно забытые анатомические структуры – межзаслоночные треугольники [26]. Впрочем, обзор касался лишь корня аорты. Публикаций, которые содержали бы характеристику типовой и вариантной анатомии этих треугольников в ЛС, не обнаружено. Межзаслоночный треугольник – это «треугольная часть артериальной стенки между двумя синусами с основанием на желудочковом миокарде, тянущаяся до комиссур» [9]. Согласно [10], это «участки артериальной стенки проксимально от [линии] прикрепления заслонок, которые ввиду полулунной формы прикрепления внедряются в полость желудочка». Действительно, треугольники по бокам ограничены прикреплениями полулунных заслонок, т.е. гемодинамическим желудочково-артериальным соединением, поэтому называть их «межкомиссуральными», как это сделали [27], неверно. В ЛС, в отличие от аорты, межзаслоночные треугольники образованы миокардом, а не соединительнотканной стенкой сосуда [18], следовательно, они располагаются проксимально по отношению к обеим желудочково-артериальным границам: и анатомической, и гемодинамической. В этой свя-

зи причисление межзаслоночных треугольников к артериальной стенке, допущенное [9, 10], является некорректным. Эти структуры гистологически построены из миокарда отдела оттока, но с функциональных и топографо-анатомических позиций их правильнее относить к корню ЛС. По мнению F. Saremi et al., межзаслоночные треугольники – компоненты клапана ЛС [13].

Межзаслоночные треугольники часто ошибочно называют комиссурами клапана. Разграничению этих понятий посвящены работы [7, 8, 28]. «Комиссуры – это места артериальной стенки, где встречаются клапанные заслонки» [9] или периферические участки зон сопоставления (apposition) заслонок в местах их прикрепления к синотубулярному соединению (СТС) [7, 29]. Есть мнение, что комиссуры простираются до середины клапанного отверстия и не ограничиваются периферическим прикреплением свободного края створки к СТС [10]. В обоснование понятия «комиссура» можно привести три аргумента, а именно: а) семантический: термин «comissura» переводится как «спайка», т.е. *нераздельное* соединение чего-либо; б) анатомический – мобильные участки контакта створок или заслонок известны как зоны сопоставления, наложения или коаптации; в) хирургический – при комиссуротомии рассекают сросшиеся между собой участки заслонок, но никак не межзаслоночные треугольники, формирующие стенку корня ЛС. Структурно-функциональное единство комиссур и заслонок делает обоснованным их включение в состав клапанного аппарата [8]. Комиссуры и межзаслоночные треугольники ЛС называют передним, правым и левым [30] либо «право-левым», «право-несмежным» и «лево-несмежным» [31]. Достоинство первого подхода – простота и удобство, достоинство второго – топографо-анатомическая точность. Однако единая терминология этих структур, которая учитывала бы анатомические варианты и удовлетворяла как анатомов, так и клиницистов, отсутствует.

Клапан и корень легочного ствола: соотношение понятий. Для обозначения начального отдела ЛС по аналогии с аортой иногда употребляют термин «корень ЛС» («pulmonary root»). Имеющиеся в литературе определения этого понятия единичны и при этом весьма противоречивы. Первое противоречие состоит в отсутствии единства в оценке принадлежности «корня ЛС» сосуду или желудочку. Так, согласно R.B. Hokken et al., корень ЛС («pulmonary root») – это «первая часть ЛС [т.е. часть сосуда; выделено нами. – А.Я.] от прикрепления легочного кольца к миокарду ПЖ». Отнесение корня ЛС к легочному

стволу вполне логично и согласуется с описанием этой структуры [18]. В то же время С. Stamm et al. определили корень ЛС как «часть тракта оттока ПЖ, которая поддерживает заслонки легочного клапана» [10], тем самым фактически включив его в состав ПЖ. Взаимоисключающие утверждения обнаружены в статье R.H. Pignatelli et al., авторы которой, вслед за [10], отнесли корень ЛС к тракту оттока ПЖ, но тут же указали, что корень ЛС расположен «от полулунных прикреплений заслонок до СТС» [5].

Второе противоречие – в неоднозначности представлений о компонентном составе корня ЛС, в отсутствии единого мнения о том, что именно следует к нему относить. В состав корня ЛС включают полулунные заслонки, межзаслоночные треугольники [7, 9, 10], синусы ЛС целиком [10, 18] или только стенки синусов [9]. Кроме того, сюда относят комиссуры [9], СТС [9, 18], а также, каким бы странным, на первый взгляд, это ни казалось, – дистальные участки миокарда отдела оттока ПЖ («подлегочный инфундибулум»), расположенные выше плоскости, проходящей через самые проксимальные точки синусов. Из вышеизложенного представляется возможным сделать два важных вывода. Во-первых, корень ЛС не является частью ни ЛС, ни ПЖ. Оба желудочково-артериальных соединения – анатомическое и гемодинамическое – проходят не по проксимальной или дистальной границе корня, а через него. Следовательно, корень ЛС – самостоятельное топографо-анатомическое объединение структур, от устья ЛС (от виртуального базального кольца) до СТС [7]. Во-вторых, корень и клапан ЛС – не синонимы. Помимо общепризнанных элементов клапанного аппарата, в состав корня ЛС следует включать межзаслоночные треугольники и, возможно, СТС.

Синотубулярное соединение. Дистальной (верхней) границей корня ЛС является СТС [5, 7, 10, 20, 30]. СТС определили как «пограничную линию между более дистальной артериальной стенкой и более тонкой стенкой синусов» [9]. Это соединение отделяет синусы клапана от трубчатого компонента ЛС и соответствует уровню прикрепления к стенке ЛС периферических участков зон наложения заслонок [10]. Фактически СТС – та структура, которая более чем какая-либо другая в корне ЛС имеет право называться фиброзным кольцом [8]. До сих пор непонятно, можно ли считать СТС у ЛС самостоятельной внутриорганный анатомической структурой, как, например, надклапанный гребень аорты, а если такой гребень удастся обнаружить, то следует ли его относить к корню ЛС и расценивать как вариант нормы.

Спорные вопросы строения и топографии

Голотопия, скелетотопия и синтопия легочного ствола. Сведения о проекционной топографии клапана ЛС в отечественной литературе представлены почти исключительно в трудах оренбургских анатомов и касаются лишь плодного периода. У плодов 16–23 нед развития описаны варианты скелетотопических уровней начала и ветвления ЛС, соотношение ЛС с топографическими линиями тела, его морфометрическая синтопия [19, 32, 33]. Проекция клапана ЛС на переднюю грудную стенку всегда приходилась на ее левую половину. Наиболее часто в сагиттальной проекции клапан проецировался между левыми грудинной и окологрудинной линиями (59,1 %), в 22,7 % случаев – по левой окологрудинной линии и в 18,2 % – по левой грудинной линии, частично захватывая левую треть грудины. Скелетотопический уровень начала ЛС варьировал от третьего грудного до верхнего края пятого грудного позвонка [32, 33]. В эти же сроки развития проекция начала ЛС соответствовала второму ребру и второму межреберному промежутку. К 6–7 месяцу сердце приобретало более поперечное положение, в результате в 80 % случаев проекция ЛС соответствовала месту прикрепления третьего левого ребра к груди [34]. У плодов ЛС сверху и спереди сквозь перикард контактировал с тимусом, по бокам к нему прилежали ушки сердца. Левое ушко тесно соприкасалось с ЛС, тогда как правое находилось от него на расстоянии 1,63–1,7 мм [33]. По мере роста сердца изменяются пропорции его камер, в результате чего у взрослых площадь контакта ЛС с ушками сердца уменьшается и правая комиссура ЛС проецируется на линии, соединяющей верхушки ушек сердца [21]. Морфометрия расстояний от центра клапана ЛС до органов средостения, выполненная по поперечным срезам плодов 16–23 нед, не выявила значимых возрастных различий по таким параметрам, как расстояние до грудной части аорты ($4,8 \pm 0,9$ мм) и пищевода ($5,7\text{--}6,1$ мм), но показала уменьшение расстояния от ЛС до левого главного бронха: от $3,9 \pm 0,6$ мм в 16 нед до $2,4 \pm 0,3$ мм в 23 нед ($p < 0,05$) [33]. Исследования, предметом которых было бы установление особенностей и закономерностей проекционной топографии клапана ЛС у детей и взрослых, не обнаружены.

Внутрисердечная топография клапана. Четыре клапанных отверстия сердца находятся в разных плоскостях. При этом клапан ЛС занимает самое переднее и верхнее положение [13, 23, 35, 36]. Как у взрослых [15], так и у плодов ЛС

имеет не строго вертикальный ход, он идет спереди назад снизу вверх и отклоняется чуть влево [32, 33]. В горизонтальной плоскости клапан ЛС лежит на одном уровне с наиболее краниальной точкой корня аорты [37]. По одним данным, клапаны аорты и ЛС расположены косо по отношению друг к другу [18, 37, 38]; угол между их плоскостями составляет 30–35° [35]. В результате наклонного положения этих сосудов плоскость СТС аорты косо пересекает правый синус ЛС, а плоскость СТС ЛС, в свою очередь, косо пересекает левый коронарный синус аорты [25]. По другим данным, ось корня аорты находится почти под прямым углом к оси корня ЛС и правожелудочкового инфундибулума [7], а клапан ЛС располагается почти во фронтальной плоскости по отношению к оси тела, тогда как плоскость аортального клапана проходит в горизонтальной плоскости, скошенной немного вправо и вниз [30]. Следует заметить, что эти утверждения основаны на эмпирических наблюдениях авторов и лишь в единичных случаях [32, 33, 35] представляют собой выводы, сделанные по результатам морфометрических исследований. Кроме того, причиной расхождений может быть неоднозначность понятийного аппарата в сложной стереометрии сердца.

Принято считать, что часть стенок правого и левого синусов ЛС, а также расположенный между ними межзаслоночный треугольник проксимально (внизу) крепятся к выводному отделу межжелудочковой перегородки [9, 24]. Но в действительности корень ЛС находится *над* перегородкой на миокарде выводного отдела ПЖ, наиболее дистальный (верхний) участок которого известен как «свободно стоящий подлегочный инфундибулум» или миокардиальный «рукав» ПЖ. Пересечение этого участка не сопровождается проникновением в полости желудочков, что делает возможным перемещение клапана ЛС в аортальную позицию при операции Росса [5, 25, 27]. Важно подчеркнуть, что, вопреки традиционным представлениям, клапан ЛС никак не связан с фиброзным скелетом сердца [13, 30]. Миокард ПЖ продолжается в межзаслоночные треугольники, и за счет изгибов миокарда на границе с ЛС основания этих треугольников оказываются более дистально, чем нижние точки синусов [9, 12]. Основания заслонок ЛС, за исключением переднего участка левой заслонки, целиком начинаются от мышечных стенок выводного отдела ПЖ [30]. Позади от левого синуса («заднего», по [18]) проходит левая венечная артерия, а снизу – ее первая перегородочная перфорирующая ветвь [8, 18]. При изучении 22 препаратов сердца детей и взрослых установлено, что эта ветвь в 25 %

случаев шла ниже фиброзного кольца ЛС, в 30 % – на одном уровне с ним, но чаще (45 %) – выше него [27]. Переднюю заслонку поддерживает свободная³ стенка «инфундибулума» [8]. Треугольник между правой и передней заслонками является продолжением миокарда передней ветви перегородочно-краевой трабекулы [30], происходящей из желудочково-инфундибулярной (в старой терминологии – бульбовентрикулярной) складки. Эта складка вместе с миокардом выводного отдела ПЖ формирует наджелудочковый гребень, который отделяет ЛС от правого предсердно-желудочкового клапана [8, 18].

При описании топографии структурных элементов клапана ЛС в литературе подчас встречаются противоречивые и даже взаимоисключающие утверждения. Так, синус ЛС, именуемый в официальной терминологии передним (он же – нелицевой, несмежный), Н. Muresian назвал левым передним, правый – правым передним, левый – задним [12]. При этом Г.Э. Фальковский утверждал, что «правая створка [клапана ЛС] обращена к аорте, левая – наиболее передняя, а задняя лежит непосредственно в плоскости выводного отдела ПЖ» [30]. Эта терминологическая путаница отчасти обусловлена разным пониманием переднезадних и праволевых ориентиров при изучении эвисцерированного препарата и прижизненной анатомии сердца *in situ* [28, 36], а также, по нашему мнению, отражает ошибочное представление об анатомической норме как о наиболее часто встречающемся анатомическом паттерне, а не как о диапазоне анатомических вариантов. Три формы положения полулунных заслонок и синусов ЛС выделены в диссертационном исследовании [21]. Наиболее типичным был вариант, при котором стенки двух синусов были обращены к корню аорты, а третий синус, несмежный с аортой, занимал переднее положение. В 31,7 % случаев два синуса располагались спереди и только один был смежным с аортой, в 16,8 % стенка одного синуса была обращена вперед, стенка другого – назад, к аорте, и стенка третьего – вправо [21]. Варибельность проекции комиссур ЛС на корень аорты выявлена уже у плодов 6–7 мес. развития [34]. В постнатальном онтогенезе задняя комиссура ЛС «проецировалась в заднеправой четверти клапанного кольца», соприкасалась с аортой, и была ограничена переходными листками перикарда. При первой форме положения створок левая комиссура была смещена кпереди от фронтального диаметра на

³ Термин принят в кардиоморфологии как антоним термина «перегородочная стенка».

2–5 мм, при второй – кзади на 2–5 мм и при третьей находилась во фронтальной плоскости [21]. Используя метод распилов по Н.И. Пирогову, изучили взаимное расположение передней комиссуры клапана аорты и задней комиссуры ЛС. В 17 случаях из 55 эти комиссуры находились на одном уровне, в 11 передняя комиссура клапана аорты располагалась на 0,3–0,7 см правее задней комиссуры клапана ЛС [38]. Левый синус ЛС почти всегда был обращен к передней трети левого коронарного синуса аорты, тогда как правый синус ЛС и задний межзаслоночный треугольник примерно с одинаковой частотой были обращены к правому коронарному синусу либо к переднему межзаслоночному треугольнику и соответствующей комиссуре клапана аорты [35]⁴.

Доказано, что клапан ЛС вместе с «подлегочным инфундибулумом» отделены от расположенного сзади корня аорты скоплением рыхлой соединительной ткани, пучки волокон которой иногда ошибочно называют связкой инфундибулума [7, 22, 39]. При препарировании ни в одном из пяти сердец младенцев не нашли плотных оформленных фиброзных пучков между ЛС и аортой, которые можно было бы назвать связкой, но в трех из шести сердец взрослых эти пучки были четко видны, они соединяли между собой вершины смежных межзаслоночных треугольников аорты и ЛС и брали начало из адвентиции этих сосудов [25]. Таким образом, при описании взаимного положения клапанов ЛС и аорты корректно говорить о *проекции* тех или иных клапанных элементов, но не об их непосредственном соприкосновении.

Макроанатомия клапана: размеры, возрастная динамика и взаимосвязи. Нормативные морфометрические характеристики клапана ЛС, содержащиеся в 19 работах, опубликованных в XX в., проанализированы и обобщены коллективом авторов из НЦ сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева. Авторы отметили достоинства и ограничения этих исследований, однако уделили внимание лишь двум параметрам: длине окружности (периметру) и диаметру, и не уточнили содержание этих понятий и уровни измерения [16]. Как утверждают S. Jonas et al., клапан ЛС в сравнении с клапаном аорты немного больше по размеру и имеет более тонкую стенку, у мужчин он крупнее, чем у женщин, но морфометрических доказательств авторы не приводят [11]. Средний диаметр ЛС на полимерно-бальзамированных препаратах составил 18,0 мм, на персонифицированных трехмерных моделях – 17,67 мм [40]. До-

казано, что диаметры клапана ЛС на разных его уровнях неодинаковы: максимальный диаметр клапан имел на уровне наиболее выступающих в стороны точек синусов, минимальный – на уровне «базального кольца» [20, 21, 41]. При изучении препаратов, фиксированных под физиологическим давлением, показано, что продольный размер устья ЛС на 17–28 % превышал поперечный; сделан вывод, что форма отверстия меняется от круглой до овальной в зависимости от функционального состояния клапана. В течение жизни «кольцо» ЛС увеличивалось в 4,04 раза, наибольшие темпы роста характерны для раннего детства и подросткового возраста [42].

Диаметр ЛС на уровне верхнего края синусов у детей до года равен 0,7–1,1 см, в возрасте 1–6 лет – 1,2–1,7 см, у подростков – 1,8–2,5 см [21]. На слепках клапана взрослого человека диаметр ЛС в самом широком месте составлял $26,4 \pm 0,1$ мм, варьируя от 21 до 31 мм [20], тогда как на влажных препаратах он равнялся $35 \pm 0,05$ мм [43] и мог достигать 37 мм [21, 41]. Есть данные, что диаметр ЛС в узких сердцах меньше, чем в широких, и, в отличие от объема клапана, является конституционально зависимым признаком [20, 41]. Длина клапана ЛС находилась в интервале от 14 до 24 мм, могла достигать 27 мм и, как и диаметр, зависела от соматотипа [20]. Расхождения результатов морфометрии отчасти связаны с использованием разных методик, но в то же время отражают индивидуальную, ассоциированную с типом телосложения, и половую изменчивость: если в исследование [20] вошли только препараты сердец женщин, то данные [21, 42, 43] получены при измерении клапанов лиц обоего пола.

На 160 фиксированных в формалине препаратах сердца людей 16–83 лет измерили длину окружности клапана ЛС, сопоставили ее с площадью поверхности тела, но не выявили зависимости между этими параметрами [44]. Однако ранее исследовательская группа [45], изучив также фиксированные препараты, но применив логарифмическое преобразование, нашла сильные корреляционные связи между величинами окружностей клапана аорты, ЛС и площадью поверхности тела. Это заключение нашло подтверждение в масштабном исследовании, выполненном на нефиксированных препаратах [46]. S.B. Capps et al. изучили клапаны 6801 сердца людей от новорожденности до 59 лет (медиана 32 года) без болезней клапанов; для измерения диаметра клапана ЛС оказались пригодными 5480 препаратов. Средний диаметр клапана ЛС у взрослых мужчин составил $26,2 \pm 2,3$ мм и превышал аналогичный параметр у женщин в среднем в 1,1 раза. При

⁴ В работах [21, 34, 35, 38] комиссурами ошибочно именуются межзаслоночные треугольники.

сопоставлении диаметра ЛС с антропометрическими параметрами самой слабой была регрессионная связь с индексом массы тела у женщин (коэффициент регрессии r^2 23 %), самой сильной – с массой и площадью поверхности тела у мужчин (84 %) [46].

Результаты морфометрии полулунных заслонок и синусов ЛС представлены в работах [21, 27, 41–43, 47]. Показана зависимость ширины заслонок клапана ЛС от вариантов его разворота по отношению к корню аорты [21]. Высота синусов ЛС была в 1,27–1,73 раза меньше его диаметра [42]. Высота заслонок составила 0,4–1,2 см у детей до 6 лет, 1–1,5 см в 7–12 лет, 1,2–1,6 см у подростков и 1,4–2,5 см у взрослых [21]. Ширина заслонок превышала ширину соответствующих им синусов как у детей (на 2–5 мм), так и у взрослых (на 4–8 мм). Ширина синусов ЛС с возрастом также увеличивалась, наиболее интенсивно – в грудном и подростковом возрасте, при этом чем больше была высота заслонки, тем меньше ее ширина. Увеличение высоты и ширины заслонок клапанов присердечных сосудов, отмеченное отечественными исследователями [21, 42], нашло свое подтверждение в работе [29]. D. van Geemen et al. обратили внимание на то, что по сравнению с клапаном аорты размеры заслонок клапана ЛС с возрастом увеличивались несколько быстрее. Кроме того, выявлены возрастные особенности толщины разных участков заслонок. У детей все участки заслонок имели одинаковую толщину, но у взрослых и юношей их комиссуральная зона была тоньше, чем центральная [29]. Наоборот, по данным [10], полученным при изучении серийных гистологических срезов пяти нормальных препаратов клапана ЛС, полулунные заслонки были толще у места прикрепления вблизи комиссур, нежели в центре. В монографии К.И. Кульчицкого с соавт. обращено внимание на разную площадь полулунных заслонок ЛС. Наименьшую площадь имела правая заслонка, наибольшую – левая; суммарная площадь заслонок составила $7,05 \pm 0,15 \text{ см}^2$ [43].

Фетальная анатомия клапана. Нормальная анатомия клапана ЛС у плода человека явилась предметом исследований [32, 48–51]. Изучение анатомических препаратов показало, что длина окружности фиброзного кольца клапана ЛС в сроки от 16 до 22 нед развития плода увеличилась от $7,71 \pm 0,21$ до $11,58 \pm 0,24$ мм [19], от 20 до 36 нед – с 11–12,0 до 18–20 мм (D. Schulz, D. Giordano, цит. по [16]). С 16 до 22 нед толщина стенки клапана ЛС возросла от 0,32 до 0,47 мм, переднезадний размер клапана ЛС – от 2,52 до 3,88 мм, поперечный диаметр – в 1,58 раза [32]. По данным E.H. Castillo et al., внешний диаметр

ЛС у плодов 13–20 нед варьировал в интервале 2,2–4,2 мм и почти не отличался от диаметра его клапана [50]. Клапаны аорты и ЛС до 16 нед развития одинаковы по диаметру, но затем диаметр ЛС превышал диаметр восходящего отдела аорты, что сохранялось в течение всего пренатального периода [52]. От 8 до 40 нед длина заслонок ЛС возросла в среднем в 16 раз, высота – в 12 раз, кроме того, наблюдалось существенное увеличение площади клапана ЛС [34].

Выявлена логарифмическая зависимость окружностей и диаметров клапанов этих сосудов от массы плода. Так, при увеличении диаметра клапана ЛС на 3,8 мм логарифм массы тела плода возрастал на 1 кг [53]. Возрастная динамика объема, длины и диаметра ЛС, а также отсутствие половых различий значений этих параметров показаны при исследовании 128 препаратов плодов 15–34 нед, инъецированных латексом под давлением 50–60 мм рт. ст. У плодов 15 нед диаметр устья ЛС был равен $1,5 \pm 0,24$ мм и к 34 нед линейно увеличивался в 3,53 раза. Длина ЛС также возрастала линейно, тогда как объем ЛС изменялся по квадратичной функции [51]. Измерения, выполненные при УЗИ, показали, что диаметр ЛС в 10 нед развития был равен 0,8 мм, в 17 нед достигал 2,9 мм [49]. Вышеприведенные значения отличаются в меньшую сторону от значений диаметра устья ЛС, принятых в НЦ сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева в качестве референсных. Не обнаружено значимых различий между величиной диаметра клапана ЛС в систолу и диастолу. Эхоскопически оценив этот параметр у 338 плодов 14–42 нед в разные фазы сокращения желудочков, M. Cartier et al. установили, что результаты измерений в систолу и диастолу сильно коррелировали между собой ($r = 0,994$), а различия не превышали 0,37 мм (4,3 %) [48].

Макромикроскопическая анатомия клапана. Под макромикроскопическим уровнем изучения понимают объемное изучение структур при помощи бинокулярной лупы или стереоскопического микроскопа с увеличением до 50-кратного. Такие исследования создают основу для микрохирургии [54], кроме того, их актуальность растет по мере развития аддитивных технологий в биоинженерии клапанов [4]. Между тем работ, предметом которых была бы макромикроскопическая анатомия клапана ЛС, не обнаружено. Есть лишь краткое упоминание о том, что на поверхностях заслонок, обращенных к стенкам ЛС, как и в заслонках клапана аорты, имеются поперечно расположенные утолщения из плотной оформленной соединительной ткани, придающие заслонкам ребристый вид [43]. При помощи разволокнения под бинокулярной лупой на просветленных

препаратах изучена архитектура волоконистых структур заслонок, описаны следующие пучки: «в области луночек – краевой и луночковый, на границе луночек и основания – пучки линии смыкания, в области основания – от 7 до 12 пучков основания. От этих основных фиброзных пучков отходят волокна в виде косых и горизонтальных ветвей». Разные участки заслонок (зона перекрытия, зона смыкания, линия смыкания и «центральная точка») «противостоят неодинаковым деформациям и поэтому армированы фиброзными волокнами различно» [42].

Микроскопическая анатомия клапана.

При описании микроскопического строения полулунных заслонок большинство авторов едины в том, что для заслонок характерна стратификация [29, 43, 55–58]. Традиционно полагают, что они состоят из двух слоев соединительной ткани: плотного фиброзного и более рыхлого губчатого (спонгиозного) [43, 59, 60]. Губчатый слой расположен на желудочковой стороне полулунных заслонок, а фиброзный – на противоположной [60]. Согласно другой точке зрения, внеклеточный матрикс полулунных заслонок имеет трехслойное строение: помимо фиброзного и губчатого слоев, существует желудочковая зона, представленная эластическими волокнами [1, 57, 61]. Примечательно, что слои эластических волокон этой зоны не обнаруживались при окраске орсеином, но были выявлены иммуногистохимическим методом [29]. Показано, что степень растяжимости створок обусловлена морфологическими особенностями волокон желудочковой зоны [61].

В современной кардиоморфологии принято считать, что каждая полулунная заслонка состоит из фиброзного «ядра», покрытого субэндотелиальными слоями волокон соединительной ткани: артериальным, обращенным в синусы, и желудочковым. В свою очередь, «ядро» состоит из двух компонентов: фиброзного и губчатого. Губчатый компонент богат протеогликанами, фиброзный может содержать эластические волокна, но в основном представлен коллагеновыми волокнами, состоящими преимущественно из коллагена I типа [1, 29, 57]. Структурная организация волокон фиброзного компонента является определяющим фактором жесткости заслонок [1, 61]. При импрегнации серебром в межклеточном веществе обнаружено большое количество аргирофильных волокон [43]. Кроме того, во всех компонентах заслонок имеется коллаген III типа [29]. Волокна фиброзного компонента «ядра» ориентированы в основном циркулярно и, в меньшей степени, радиально [57]. В сердцах свиней показано, что эти волокна организованы в виде тубулярной ячеистой трехмерной сети. Такая особенность делает

использование термина «зона» или «компонент» по сравнению с термином «слой» более предпочтительной.

Фиброархитектура клапана. Согласно результатам изучения клапанов сердца людей от периода новорожденности до старческого возраста, умерших от причин, не связанных с болезнями сердца, количество эластических волокон субэндотелиальной «фиброэластической» ткани, расположенной в створках и заслонках проксимальнее по току крови, превышает таковое в той же ткани с дистальной стороны. Исследователи обнаружили сходство структурной организации соединительной ткани в створках предсердно-желудочковых клапанов со стороны предсердий и в желудочковой поверхности полулунных заслонок. При этом «фиброэластическая» ткань желудочковой поверхности предсердно-желудочковых створок напоминала субэндотелий полулунных заслонок, находящийся со стороны синусов аорты и ЛС [62]. В электронно-микроскопических исследованиях также показано, что соединительнотканые элементы располагались более рыхло со стороны предсердной поверхности створок предсердно-желудочковых клапанов и у желудочковой поверхности клапанов аорты и ЛС [59]. Распределение соединительной ткани в стенках синусов и в межзаслоночных треугольниках различалось. Во внутренних слоях стенки ЛС у вершин этих треугольников, в центре выступов их вершин в просвет сосуда, соответствовавших самым дистальным местам комиссур, а также по линиям прикрепления заслонок преобладали коллагеновые волокна, тогда как внутренние слои стенок синусов состояли преимущественно из концентрических эластических пластинок. Между тем по мере удаления от ПЖ как в стенках синусов, так и в межзаслоночных треугольниках доля эластической ткани уменьшалась, а доля коллагена увеличивалась [9].

Объемная фракция эластических мембран меди на уровне синусов ЛС составила 0,99 у детей и 0,63 у взрослых [27]. К.И. Кульчицкий и соавт. отметили в полулунных заслонках послойное расположение плотной оформленной и рыхлой соединительной ткани и на основании преобладания тех или иных тканевых компонентов выделили два типа клапанов: фиброзные и фиброзно-эластические. Клапан ЛС у детей до 12 лет отнесли к первому типу (подтип «в»), в таких клапанах имелись как аргирофильные, так и коллагеновые волокна. У подростков и юношей клапан ЛС состоял из плотной оформленной и рыхлой соединительной ткани с меньшим, по сравнению с предыдущим возрастным периодом, количеством клеточного компонента. В связи с появлением в

заслонках эластических волокон такие клапаны обозначили как клапаны фиброэластического типа. У взрослых клапан ЛС отнесли к подтипу «д» клапанов фиброзного типа: в его заслонках преобладали коллагеновые волокна, была окончательно сформирована плотная оформленная соединительная ткань [43].

Клеточный состав элементов клапана.

В клапане ЛС, как и в клапане аорты, имеются два основных типа клеток: интерстициальные и эндотелиальные. Заслонки состоят из интерстициальных клеток, которые имеют признаки как гладких миоцитов, так и фибробластов (так называемые миофибробласты) и окружены сплошным монослоем эндотелиоцитов [1, 59, 61]. Доля клеточного компонента в заслонках невелика, он представлен в основном клетками фибробластического ряда [43]. Относительно большое количество фибробластов, гистиоцитов и макрофагов выявлено в основании заслонок [58]. Фиброциты заслонок имеют много отростков, что, по мнению автора работы [59], свидетельствует об активном обмене веществ в клапанах. Противоречивы сведения о наличии мышечных клеток в клапане ЛС. Гладкие миоциты были выявлены рутинным гистологическим методом во всех типах клапанов в основании заслонок [43] и у вершин межзаслоночных треугольников [9], их объемная фракция варьировала от 0,063 до 0,069 как у детей, так и у взрослых [27]. Однако D. van Geemen et al. обнаружили позитивные по альфа-актину клетки лишь в заслонках клапанов сердца плода и новорожденного ребенка, но не взрослых людей.

Доказано внедрение миокарда подлегочного инфундибулума в стенки каждого из трех синусов ЛС [18]. При изучении трехмерных реконструкций по рутинно окрашенным серийным срезам на уровне анатомического желудочково-артериального соединения обнаружено много пальцевидных выступов коллагена, внедрявшихся в подлежащий миокард [9]. Применив инъекцию тушью на желатине с последующим изготовлением просветленных анатомических препаратов, а также гистологических препаратов со стандартными окрасками, выявили кардиомиоциты и кровеносные сосуды лишь вблизи оснований полулунных заслонок [43]. Данных о наличии кровеносных сосудов в заслонках клапана ЛС в условиях нормы в литературе не обнаружено.

Заключение

Обзор показал отсутствие единства взглядов на компонентный состав клапана и различие подходов к описанию его топографии. В состав клапана ЛС следует включать полулунные заслонки,

синусы, а также межзаслоночные треугольники и комиссуры клапана; последние необходимо различать. Межзаслоночный треугольник – участок стенки корня ЛС между местами прикрепления смежных заслонок к этой стенке. Комиссура – зона соединения краев заслонок между собой и с вершиной соответствующего межзаслоночного треугольника. Синотубулярное соединение ЛС скорее представляет собой условную дистальную границу корня ЛС, нежели самостоятельную внутриорганный структуру, которую можно было бы отнести к клапанному комплексу. На входе в корень ЛС нет плоскостной кольцевидной структуры из соединительнотканых волокон, следовательно, «фиброзное кольцо» клапана ЛС – не более чем устоявшийся анатомический миф. Под термином «кольцо ЛС» нужно понимать виртуальную окружность, соединяющую самые проксимальные точки синусов. На сегодня можно считать доказанной зависимость размеров клапана ЛС от размеров тела. В меньшей степени изучена морфометрическая анатомия, топография, цито- и фиброархитектоника компонентов клапана у взрослого человека. При этом публикации по фетальной анатомии клапана ЛС единичны, а его макро- и микроскопическая анатомия практически не изучена.

Список литературы / References

1. Fallahiazaroudar E., Ahmadipourroudposht M., Idris A., Mohd Yusof N. A review of: Application of synthetic scaffold in tissue engineering heart valves. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* 2015; 48: 556–565. doi: 10.1016/j.msec.2014.12.016
2. Huygens S.A., Rutten-van Mölken M.P.M.H., Noruzi A., Etnel J.R.G., Corro Ramos I., Bouten C.V.C., Kluin J., Takkenberg J.J.M. What is the potential of tissue-engineered pulmonary valves in children? *Ann. Thorac. Surg.* 2019; 107 (6): 1845–1853. doi: 10.1016/j.athoracsur.2018.11.066
3. Горбатов Р.О., Романов А.Д. Создание органов и тканей с помощью биопечати. *Вестник ВолгГМУ.* 2017; (3): 3–9. doi: 10.19163/1994-9480-2017-3(63)-3-9
4. Gorbatov R.O., Romanov A.D. Bioprinting of organs and tissues. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University.* 2017; (3): 3–9. [In Russian]. doi:10.19163/1994-9480-2017-3(63)-3-9
5. Vukicevic M., Mosadegh B., Min J.K., Little S.H. Cardiac 3D printing and its future directions. *JACC: Cardiovasc. Imag.* 2017; 10 (2): 171–184. doi: 10.1016/j.icmg.2016.12.001
6. Pignatelli R.H., Noel C., Reddy S.C.B. Imaging of the pulmonary valve in the adults. *Curr*

Opin Cardiol. 2017; 32 (5): 529–540. doi:10.1097/HCO.0000000000000436

6. Шатов Д.В., Гасанова И.Х. Анатомия клапанов сердца. *Крым. журн. эксперим. и клин. медицины.* 2019; 9 (1): 55–60.

Shatov D.V., Gasanova I.Kh. Anatomy of the heart valve. *Krymskiy zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny = Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine.* 2019; 9 (1): 55–60. [In Russian].

7. Anderson R.H., Mohun T.J., Spicer D., Bamforth S.D., Brown N.A., Chaudhry B., Henderson D.J. Myths and realities relating to development of the arterial valves. *J. Cardiovasc. Dev. Dis.* 2014; 1: 177–200. doi:10.3390/jcdd1030177

8. Андерсон Р., Спайсер Д., Хлавачек Э., Кук Э., Бейкер К. Хирургическая анатомия сердца по Уилкоксу. М.: Логосфера, 2015. 456 с.

Anderson R.H., Spicer D., Hlavacek A., Cook A.C., Backer K.L. Wilcox's surgical anatomy of the heart. Moscow: Logoshere, 2015. 456 p. [In Russian].

9. Hokken R.B., Bartelings M.M., Bogers Ad J.J.C., Gittenberger-de Groot A.C. Morphology of the pulmonary and aortic roots with regard to the pulmonary autograft procedure. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1997; 113 (3): 453–461. doi:10.1016/S0022-5223(97)70357-X

10. Stamm C., Anderson R.H., Ho S.Y. Clinical anatomy of the normal pulmonary root compared with that in isolated pulmonary valvular stenosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1998; 31 (6): 1420–1425. doi: 10.1016/s0735-1097(98)00089-8

11. Jonas S.N., Kligerman S.J., Burke A.P., Frazier A.A., White C.S. Pulmonary valve anatomy and abnormalities. A pictorial essay of radiography, computed tomography and magnetic resonance imaging. *J. Thorac. Imaging.* 2016; 31 (1): W4–W12. doi: 10.1097/RTI.0000000000000182

12. Muresian H. The clinical anatomy of the right ventricle. *Clin. Anat.* 2016; 29 (3): 380–398. doi: 10.1002/ca.22484

13. Saremi F., Sánchez-Quintana D., Mori S., Muresian H., Spicer D.E., Hassani C., Anderson R.H. Fibrous skeleton of the heart: Anatomic overview and evaluation of pathologic conditions with CT and MR imaging. *Radiographics.* 2017; 37 (5): 1330–1351. doi: 10.1148/rg.2017170004

14. Chmielewski P.P. New Terminologia Anatomica highlights the importance of clinical anatomy. *Folia Morphol. (Warsz.).* 2020; 79 (1): 15–20. doi:10.5603/FM.a2019.0048

15. Бокерия Л.А., Беришвили И.И. Хирургическая анатомия сердца. Т. 1. Нормальное сердце и физиология кровообращения. М.: НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2006. 406 с.

Bokeriya L.A., Berishvili I.I. Surgical anatomy of the heart. Vol. 1. Normal heart and physiology of haemodynamics. Moscow, 2006. 406 p. [In Russian].

16. Бокерия Л.А., Махачев О.А., Панова М.С., Филиппкина Т.Ю. Нормативные параметры сердца и его структур: справочное пособие. М.: НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2010. 132 с.

Bokeriya L.A., Makhachev O.A., Panova M.S., Filippkina T.Yu. Standards of the heart and its structures: reference book. Moscow, 2010. 132 p. [In Russian].

17. Международная анатомическая терминология. Ред. Л.Л. Колесников. М.: Медицина, 2003. 424 с.

International anatomical terminology. Ed. L.L. Kolesnikov. Moscow: Meditsina, 2003. 424 p. [In Russian].

18. Mori S., Fukuzawa K., Takaya T., Takamine S., Ito T., Fujiwara S., Nishii T., Kono A.K., Yoshida A., Hirata K.-I. Clinical cardiac structural anatomy reconstructed within the cardiac contour using multidetector-row computed tomography: The arrangement and location of the cardiac valves. *Clin. Anat.* 2016; 29 (3): 364–370. doi: 10.1002/ca.22549

19. Лященко Д.Н., Железнов Л.М., Галеева Э.Н., Спирина Г.А., Шаликова Л.О. Особенности анатомического строения сердца человека в промежуточном плодном периоде онтогенеза. *Морфология.* 2017; 152 (5): 35–39.

Lyashchenko D.N., Zheleznov L.M., Galeeva E.N., Spirina G.A., Shalikova L.O. Peculiarities of the anatomical structure of the human heart in the intermediate fetal period of the ontogenesis. *Morfologiya = Morphology.* 2017; 152 (5): 35–39. [In Russian].

20. Старчик Д.А. Конституциональные особенности клапанов сердца у женщин в зрелом возрасте. *Вестн. хирургии.* 2016; 175 (1): 106–109. doi: 10.24884/0042-4625-2016-175-1-106-109

Starchik D.A. Constitutional features of heart valves in women at a mature age. *Vestnik khirurgii imeni Ivana Ivanovicha Grekova = Grekov's Bulletin of Surgery.* 2016; 175 (1): 106–109. [In Russian]. doi: 10.24884/0042-4625-2016-175-1-106-10

21. Быков О.С. Хирургическая анатомия трехстворчатого клапана и клапана легочного ствола сердца человека: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1970.

Bykov O.S. Surgical anatomy of the tricuspid valve and the valve of pulmonary trunk in human heart: Abstract of thesis ... cand. med. sci. Moscow, 1970. [In Russian].

22. Mori S., Spicer D.E., Anderson R.H. Revisiting the anatomy of the living heart. *Circ. J.* 2016; 80 (1): 24–33. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1147

23. Mori S., Tretter J., Spicer D., Bolender D., Anderson R.H. What is the real cardiac anatomy? *Clin. Anat.* 2019; 32 (3): 288–309. doi: 10.1002/ca.23340

24. Webb S., Brown N.A., Anderson R.H. The structure of the mouse heart in late fetal stages. *Anat. Embryol (Berl.).* 1996; 194 (1): 37–47. doi: 10.1007/BF00196313

25. Merrick A.F., Yacoub M.H., Ho S.Y., Anderson R.H. Anatomy of the muscular subpulmonary infundibulum with regard to the Ross procedure. *Ann. Thorac. Surg.* 2000; 69 (2): 556–561. doi:10.1016/S0003-4975(99)01300-4
26. Sutton J.P. 3rd, Ho S.Y., Anderson R.H. The forgotten interleaflet triangles: a review of the surgical anatomy of the aortic valve. *Ann. Thorac. Surg.* 1995; 59 (2): 419–427. doi: 10.1016/0003-4975(94)00893-с
27. Тараян М.В., Иванов А.С., Жидков И.Л., Балоян Г.М., Шереметьева Г.Ф., Иванова А.Г., Лаптий А.В., Кочарян Е.Р., Ситниченко Н.В., Морозова С.А. Анатомо-морфологические, топографические и гемодинамические аспекты строения корня аорты и легочной артерии в свете процедуры Росса. *Клин. физиология кровообращения.* 2007; (1): 44–51. Tarayan M.V., Ivanov A.S., Zhidkov I.L., Baloyan G.M., Sheremet'eva G.F., Ivanova A.G., Laptii A.V., Kocharyan E.R., Sitnichenko N.V., Morozova S.A. Anatomical-morphological, topographical and hemodynamic aspects of the structure of the aortic root and pulmonary artery in the light of the Ross procedure. *Klinicheskaya fiziologiya krovoobrashcheniya = Clinical Physiology of Circulation.* 2007; (1): 44–51. [In Russian].
28. Sievers H.-H., Hemmer W., Beyersdorf F., Moritz A., Moosdorfe R., Lichtenberg A., Misfeld M., Charitos E.I., Working Group for Aortic Valve Surgery of German Society of Thoracic and Cardiovascular Surgery. The everyday used nomenclature of the aortic root components: the tower of Babel? *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2012; 41 (3): 478–482. doi: 10.1093/ejcts/ezr093
29. Van Geemen D., Soares A.L.F., Oomen P.J.A., Driessen-Mol A., Janssen-van den Broek M.W.J.T., van den Bogaardt A.J., Bogers A.J.J.C., Goumans M.-J.T.H., Baaijens F.P.T., Bouten C.V.C. Age-dependent changes in geometry, tissue composition and mechanical properties of fetal to adult cryopreserved human heart valves. *PLoS One.* 2016; 11 (2): e0149020. doi: 10.1371/journal.pone.0149020
30. Фальковский Г.Э. Строение сердца и анатомические основы его функции. М.: НИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2014. 217 с. Fal'kovskii G.E. Structure of the heart and anatomical bases of its function. Moscow, 2014. 217 p. [In Russian].
31. Richardson R., Eley L., Donald-Wilson C., Davis J., Curley N., Alqahtani A., Murphy L., Anderson R.H., Henderson D.J., Chaudhry B. Development and maturation of the fibrous components of the arterial roots in the mouse heart. *J. Anat.* 2018; 232 (4): 554–567. doi: 10.1111/joa.12713
32. Лященко Д.Н. Анатомия и топография легочного ствола человека в раннем плодном периоде онтогенеза. *Фундам. исследования.* 2012; 10 (2): 254–257.
33. Железнов Л.М., Лященко Д.Н., Шаликова Л.О., Галеева Э.Н. Топография сердца и крупных сосудов средостения в раннем плодном периоде онтогенеза человека. *Морфология.* 2013; 144 (5): 21–24. Zheleznov L.M., Lyashchenko D.N., Shalikova L.O., Galeeva E.N. Topography of the heart and major mediastinal vessels in the early fetal period of human ontogenesis. *Morfologiya = Morphology.* 2013; 144 (5): 21–24. [In Russian].
34. Зурнаджан С.А. Ультраструктура стенки легочного ствола в пренатальном периоде онтогенеза человека. *Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии.* 1989; 96 (2): 39–42. Zurnadzhan S.A. Ultrastructure of the pulmonary trunk wall during the prenatal period of ontogenesis. *Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii = Archive of Anatomy, Histology and Embryology.* 1989; 96 (2): 39–42. [In Russian].
35. Мурач А.М. Хирургическая анатомия аортальных синусов. *Вестн. хирургии.* 1966; 96 (6): 22–28. Murach A.M. Surgical anatomy of the aortic sinuses. *Vestnik khirurgii imeni Ivana Ivanovicha Grekova = Grekov's Bulletin of Surgery.* 1966; 96 (6): 22–28. [In Russian].
36. Anderson R.H., Loukas M. The importance of attitudinally appropriate description of cardiac anatomy. *Clin. Anat.* 2009; 22 (1): 47–51. doi:10.1002/ca.20741
37. Lev M. The conotruncus: its normal inversion and conus absorption: letter to editor. *Circulation.* 1972; 46 (3): 634–635.
38. Хилькин А.М., Худякова М.И. Хирургическая анатомия аортального клапана. *Груд. хирургия.* 1961; (5): 3–7. Khil'kin A.M., Khudyakova M.I. Surgical anatomy of the aortic valve. *Grudnaya khirurgiya = Russian Journal of Thoracic Surgery.* 1961; (5): 3–7. [In Russian].
39. Loukas M., Tubbs R.S., Bright J.L., Fudalej M., Wagner T., Anderson R.H. The anatomy of the tendon of the infundibulum revisited. *Folia Morphol. (Warsz.).* 2007; 66 (1): 33–38.
40. Radzi S., Tan H.K.J., Tan G.J.S., Yeong W.Y., Ferenczi M.A., Low-Beer N., Mogali S.R. Development of a three-dimensional printed heart from computed tomography images of a plastinated specimen for learning anatomy. *Anat. Cell Biol.* 2020; 53 (1): 48–57. doi: 10.5115/acb.19.153
41. Михайлов С.С. Клиническая анатомия сердца. М.: Медицина, 1987. 288 с. Mikhaïlov S.S. Clinical anatomy of the heart. Moscow: Meditsina, 1987. 288 p. [In Russian].
42. Полухина А.В. Строение, возрастные особенности и механические свойства клапанов аорты в онтогенезе. *Фундам. исследования.* 2012; 10 (2): 254–257.

ты и легочного ствола сердца человека: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1979.

Polukhina A.V. Structure, age peculiarities and mechanical features of the aortal and pulmonary valves in human heart: abstract of thesis ... cand. med. sci. Moscow, 1979. [In Russian].

43. Кульчицкий К.И., Соколов В.В., Марущенко Г.Н. Клапаны сердца. Киев: Здоров'я, 1990. 84 с.

Kul'chitsky K.I., Sokolov V.V., Marushchenko G.N. Valves of the heart. Kiev: Zdorov'ya, 1990. 184 p. [In Russian].

44. Westaby S., Karp R.B., Blackstone E.H., Bishop S.P. Adult human valve dimensions and their surgical significance. *Am. J. Cardiol.* 1984; 53 (4): 552–556. doi: 10.1016/0002-9149(84)90029-8

45. Rowlatt U.F., Rimoldi H.J.A., Lev M. The quantitative anatomy of the normal child's heart. *Pediatr. Clin. North Am.* 1963; 10: 499–588. doi: 10.1016/S0031-3955(16)31414-6

46. Capps S.B., Elkins R.C., Fronk D.M. Body surface area as a predictor of aortic and pulmonary valve diameter. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2000; 119 (5): 975–982. doi: 10.1016/S0022-5223(00)70092-4

47. Иванов В.А. Особенности строения сердца и его отдельных структур у практически здоровых лиц в зависимости от их половой принадлежности. *Астрах. мед. журн.* 2015; 10 (2): 51–56.

Ivanov V.A. Gender-oriented approach to the study of the anatomy of a healthy heart and its particular elements. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal = Astrakhan Medical Journal.* 2015; 10 (2): 51–56. [In Russian].

48. Cartier M., Davidoff A., Warneke L.A., Hirsh M.P., Bannon S., Sutton M.S., Doubilet P.M. The normal diameter of the fetal aorta and pulmonary artery: Echocardiographic evaluation *in utero*. *Am. J. Roentgenol.* 1987; 149 (5): 1003–1007. doi: 10.2214/ajr.149.5.1003

49. Gembruch U., Shi C., Smrcek J.M. Biometry of the fetal heart between 10 and 17 weeks of gestation. *Fetal Diagn. Ther.* 2000; 15 (1): 20–31. doi: 10.1159/000020970

50. Castillo E.H., Arteaga-Martínez M., Garcia-Peláez I., Villasis-Keever M.A., Aguirre O.M., Moran V., Alarcón A.V. Morphometric study of the human fetal heart: arterial segment. *Clin. Anat.* 2005; 18 (4): 260–268. doi:10.1002/ca.20095

51. Szpinda M. The normal growth of the pulmonary trunk in human fetuses. *Folia Morphol. (Warsz.)* 2007; 66 (2): 126–130.

52. Батаева Р.С. Скрининговое исследование сердца плода во II триместре беременности. На примере школы Великобритании. *Ультразвук и функц. диагностика.* 2012; (4): 30–52.

Bataeva R.S. Assessment of fetal cardiac structures during screening in the second trimester of pregnancy (Based on the Guideline of fetal medicine in United

Kingdom). *Ul'trazvukovaya i funktsional'naya diagnostika = Ultrasound and Functional Diagnostics.* 2012; (4): 30–52. [In Russian].

53. Alvarez L., Aránega A., Saucedo R., Contreas J. The quantitative anatomy of the normal human heart in fetal and perinatal life. *Int. J. Cardiol.* 1987; 17 (1): 57–72. doi: 10.1016/0167-5273(87)90033-7

54. Каган И.И. Современные аспекты клинической анатомии. Оренбург: Изд. центр ОГАУ, 2012. 108 с.

Kagan I.I. Modern aspects in clinical anatomy. Orenburg, 2012. 108 p. [In Russian].

55. Doehring T.C., Kahelin M., Vesely I. Mesostuctures of the aortic valve. *J. Heart Valve Dis.* 2005; 14 (5): 679–686.

56. Aikawa E., Whittaker P., Farber M., Mendelson K., Padera R.F., Aikawa M., Schoen F.J. Human semilunar cardiac valve remodeling by activated cells from fetus to adult: implications for postnatal adaptation, pathology, and tissue engineering. *Circulation.* 2006; 113 (10): 1344–1352. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.591768

57. Ho S.Y. Structure and anatomy of the aortic root. *Eur. J. Echocardiogr.* 2009; 10 (1): i3–i10. doi: 10.1093/ejehocardi/jen243

58. Козловская А.А. Морфофункциональные особенности строения и развития клапанов аорты и легочного ствола в онтогенезе. *Вестн. пробл. биол. и мед.* 2014; (1): 251–255.

Kozlovskaya A.A. Morphofunctional structural features and development of aortic and pulmonary valves in ontogenesis. *Visnik problem biologii i meditsini = Bulletin of Problems in Biology and Medicine.* 2014; (1): 251–255. [In Russian].

59. Kühnel W. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den unterschiedlichen Bau der Herzklappen. II. Mitteilung Tricuspidalis und Pulmonalklappe. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 1966; 72 (4): 462–474.

Kühnel W. Electronmicroscopic studies on the different structure of heart valves. II. Tricuspid and pulmonary valve. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie = Journal of Cellular Research and Microscopic Anatomy.* 1966; 72 (4): 462–474. [In German].

60. Hurle J.M., Colvee E. Changes in the endothelial morphology of the developing semilunar heart valves. A TEM and SEM study in the chick. *Anat. Embryol. (Berl.)* 1983; 167 (1): 67–83. doi: 10.1007/BF00304601

61. Jana S., Tefft B.J., Spoon D.B., Simari R.D. Scaffolds for tissue engineering of cardiac valves. *Acta Biomater.* 2014; 10 (7): 2877–2893. doi: 10.1016/j.actbio.2014.03.014

62. Otto S., Baum T., Keller F. Sex-dependence of the relative number of elastic fibers in human heart valves. *Ann. Anat.* 2006; 188 (2): 153–158. doi: 10.1016/j.aanat.2005.08.017

Сведения об авторе:

Андрей Аркадьевич Якимов, к.м.н., ORCID: 0000-0001-8267-2895, e-mail: ayakimov07@mail.ru

Information about author:

Andrei A. Iakimov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-8267-2895, e-mail: ayakimov07@mail.ru

Поступила в редакцию 15.06.2020

Принята к публикации 27.07.2020

Received

15.06.2020

Accepted

27.07.2020

Влияние новых водорастворимых фенольных антиоксидантов на активность Nrf2-подконтрольных ферментов, систему глутатиона и транслокацию Nrf2 в ядро

Е.Б. Меньщикова¹, Н.К. Зенков¹, П.М. Кожин¹, А.В. Чечушков¹, В.С. Павлов¹, Л.П. Ромах¹, М.В. Храпова¹, А.Е. Серых¹, О.Б. Грицык¹, Н.В. Кандалинцева²

¹ ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² Новосибирский государственный педагогический университет
630126, г. Новосибирск, ул. Вилюйская, 28

Резюме

Понимание роли активированных кислородных метаболитов в формировании эустресса (редокс-баланс) и дистресса (окислительный стресс) ставит перед биомедиками и фармакологами новые задачи в поиске соединений, способных не только обладать непосредственным антиоксидантным (антирадикальным) действием, но и влиять на редокс-чувствительные сигнальные пути, в первую очередь систему Keap1/Nrf2/ARE. Цель настоящего исследования состояла в изучении влияния синтезированных нами водорастворимых структурно-родственных монофенолов на систему Keap1/Nrf2/ARE по воздействию на ключевые элементы ее индукции (активность Nrf2-подконтрольных ферментов, состояние системы глутатиона и внутриклеточное перераспределение транскрипционного фактора Nrf2). **Материал и методы.** В экспериментах на клетках линий U937 и J774 проведен сравнительный анализ способности структурно взаимосвязанного ряда пяти оригинальных гидрофильных монофенолов, отличающихся количеством *трет*-бутильных *орто*-заместителей, длиной *пара*-алкильного заместителя и наличием в нем атома двухвалентной серы или селена (в качестве препарата сравнения использовали феноксан, калиевую соль фенозан-кислоты), индуцировать синтез Nrf2-подконтрольных ферментов II фазы детоксикации ксенобиотиков и антиоксидантных ферментов (NAD(P)H:хинооксидоредуктазы 1 (NQO1), глутатион-S-трансферазы (GST), глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы; биохимическими спектрофотометрическими методами изучали их активность после 24-часовой инкубации с клетками), а также влиять на состояние системы глутатиона (спектрофотометрия) и транслокацию транскрипционного фактора Nrf2 в ядро (иммунофлуоресцентное окрашивание, конфокальная микроскопия) (ключевые моменты активации сигнальной системы Keap1/Nrf2/ARE). **Результаты и их обсуждение.** Установлено, что наиболее эффективным индуктором указанных ферментов в клетках U937 среди структурных аналогов является монофенол TC-13, при этом для реализации данного эффекта важны строение *пара*-алкильного заместителя и степень экранирования ОН-группы; TC-13 также эффективно усиливал импорт Nrf2 в ядро клеток J774. NQO1- и GST-индуцирующие способности тестируемых соединений тесно взаимосвязаны, что указывает на возможность координированной индукции данных ферментов и наличие общей регуляторной системы, обеспечивающей их активацию в ответ на обработку клеток фенольными антиоксидантами.

Ключевые слова: активированные кислородные метаболиты, антиоксиданты, сигнальная система Keap1/Nrf2/ARE, NAD(P)H:хинооксидоредуктаза 1, глутатион-S-трансфераза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, система глутатиона.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы».

Автор для переписки: Меньщикова Е.Б., e-mail: lemen@centercem.ru

Для цитирования: Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Кожин П.М., Чечушков А.В., Павлов В.С., Ромах Л.П., Храпова М.В., Серых А.Е., Грицык О.Б., Кандалинцева Н.В. Влияние новых водорастворимых фенольных антиоксидантов на активность Nrf2-подконтрольных ферментов, систему глутатиона и транслокацию Nrf2 в ядро. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (6): 58–69. doi: 10.15372/SSMJ20200606

Effect of new water-soluble phenolic antioxidants on the activity of Nrf2-driven enzymes, glutathione system, and Nrf2 translocation into the nucleus

E.B. Menshchikova¹, N.K. Zenkov¹, P.M. Kozhin¹, A.V. Chechushkov¹, V.S. Pavlov¹, L.P. Romakh¹, M.V. Khrapova¹, A.E. Serykh¹, O.B. Gritsyk¹, N.V. Kandalintseva²

¹ Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

² Novosibirsk State Pedagogical University
630126, Novosibirsk, Vilyuiskaya str., 28

Abstract

Understanding the role of reactive oxygen and nitrogen species in eustress (redox balance) and distress (oxidative stress) development poses new challenges for biomedical scientists and pharmacologists in the search for compounds that can not only have a direct antioxidant (antiradical) effect, but also affect redox-sensitive signaling pathways, primarily Keap1/Nrf2/ARE system. Aim of the study was to investigate the influence of novel water-soluble structurally related monophenols on key elements of Keap1/Nrf2/ARE system induction (activity of Nrf2-driven enzymes, the state of the glutathione system, and intracellular redistribution of transcription factor Nrf2). **Material and methods.** Five original hydrophilic structurally related monophenols, differing in the number of tert-butyl ortho-substituents, the length of the para-alkyl substituent, and the presence of a divalent sulfur or selenium atom in it were investigated (phenoxane, the potassium salt of phenosan acid, was used as a reference compound). Cell lines U937 and J774 were cultured for 24 h in the presence of tested compounds, and comparative analysis was performed of its ability to induce the synthesis of Nrf2-driven enzymes of phase II xenobiotic detoxification pathway and antioxidant enzymes (NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1), glutathione S-transferases (GST), glutathione peroxidases, glutathione reductase (biochemical spectrophotometric methods were used to study their activity), as well as to influence the state of glutathione system (spectrophotometry) and translocation of transcription factor Nrf2 into the nucleus (immunofluorescent staining, confocal microscopy) (key events of Keap1/Nrf2/ARE signaling system activation). **Results and discussion.** Monophenol TS-13 have found to be the most effective inducer of tested enzymes in U937 cells among the structural analogs, while the structure of the para-alkyl substituent and the degree of OH group hindrance are important for the implementation of this effect; TS-13 also effectively enhanced Nrf2 import into J774 cell nucleus. The NQO1- and GST-inducing abilities of structurally related monophenols are closely interrelated, which indicates the possibility of coordinated induction of these enzymes and the presence of a common regulatory system that ensures their activation in response to cell treatment with phenolic antioxidants.

Key words: reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants, Keap1/Nrf2/ARE signaling system, NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1, glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione system.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. Equipment from CCU «Modern optical systems» was used in the study.

Correspondence author: Menshchikova E.B., e-mail: lemen@centercem.ru

Citation: Menshchikova E.B., Zenkov N.K., Kozhin P.M., Chechushkov A.V., Pavlov V.S., Romakh L.P., Khrapova M.V., Serykh A.E., Gritsyk O.B., Kandalintseva N.V. Effect of new water-soluble phenolic antioxidants on the activity of Nrf2-driven enzymes, glutathione system, and Nrf2 translocation into the nucleus. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (6): 58–69. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200606

Введение

Активированные кислородные метаболиты (прооксиданты) непрерывно генерируются *in vivo* и играют двойную роль – выступают в качестве либо физиологического сигнального мессенджера (эустресс), либо повреждающего фак-

тора (дистресс [1, 2], наиболее часто называемый окислительным стрессом [3, 4]). Прооксиданты, синтезирующиеся регулируемым и контролируемым образом, избирательно реагируют с биологическими молекулами, давая начало специфическим продуктам и дирижируя сигнальными каскадами, в то время как их гиперпродукция

запускает так называемое нерегулируемое окисление липидов, белков и нуклеиновых кислот, вносящее весомый вклад в возникновение и прогрессирование множества патологических процессов и заболеваний, в том числе связанных со старением (воспаление, атеросклероз, онкологические и нейродегенеративные заболевания и многие другие) [1–3].

Формирование представлений об окислительном стрессе как универсальном патогенетическом факторе в последние десятилетия значительно актуализировало исследования в области изучения биоантиоксидантных и фармакологических свойств фенольных соединений. Несмотря на то что фенольные антиоксиданты широко представлены в природе (более 8000 разновидностей [5]), по всему миру ведутся целенаправленные работы по созданию новых веществ с заданными свойствами. К таким свойствам можно отнести не только усиление непосредственной антиоксидантной и антирадикальной активности, но и повышение водорастворимости (большинство природных полифенолов липофильны, что существенно ограничивает их биологическую доступность и ограничивает фармацевтический потенциал [6]), конструирование полифункциональных, или «гибридных», антиоксидантов комбинированного действия, сочетающих за счет внутри- и межмолекулярного синергизма антирадикальную и антипероксидную активность, антиоксидантную и биологическую эффективность (противовоспалительную, антиканцерогенную, нейропротекторную и т.д.).

Разработка таких веществ является одним из чрезвычайно перспективных направлений, поскольку наличие у инновационных соединений не прямой биологической активности позволяет им реализовывать свое действие через сигнальные пути, опосредованные NF- κ B и LPS/TLR-4 (провоспалительные каскады), STAT3 и MAP-киназами, PI3K/Akt/mTOR (аутофагия), рецепторами, сопряженными с G-белком [7]. Наибольший интерес в этом ряду представляет редокс-зависи-

мая система антиоксидант-респонсивного элемента Keap1/Nrf2/ARE, во многом определяющая трансдукцию сигнала по другим регуляторным каскадам [3, 8]. Цель настоящего исследования состояла в изучении влияния синтезированных нами водорастворимых структурно-родственных монофенолов на систему Keap1/Nrf2/ARE на основании воздействия на ключевые элементы ее индукции (активность Nrf2-подконтрольных ферментов, состояние системы глутатиона и внутриклеточное перераспределение транскрипционного фактора Nrf2).

Материал и методы

Синтезированы пять оригинальных гидрофильных фенольных соединений структурно взаимосвязанного ряда: 3-(3'-*трет*-бутил-4'-гидроксифенил)этилтиосульфат натрия (ТС-12), 3-(3'-*трет*-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфат натрия (ТС-13), 3-(3',5'-ди-*трет*-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфат натрия (ТС-17), 3-(3'-*трет*-бутил-4'-гидроксифенил)пропилселеносульфат натрия (СеС-13) и 3-(3'-*трет*-бутил-4'-гидроксифенил)пропилсульфонат натрия (С-13); в качестве препарата сравнения использовали феноксан (калиевую соль фенозан-кислоты) (рис. 1). Соединения получали из 2,6-ди-*трет*-бутилфенола по последовательности превращений, описанной ранее [9, 10], их строение подтверждали данными элементного анализа, ЯМР-, ИК- и УФ-спектроскопии.

В работе использовали моноциты/макрофагоподобные клетки гистиоцитарной лимфомы человека U937 и гистиоцитарной саркомы мыши J774, полученные из Банка клеточных культур ФГБУН Институт цитологии РАН (г. Санкт-Петербург, Россия). Клетки культивировали в среде, содержащей 90 % RPMI-1640, 10 % фетальной бычьей сыворотки (FBS) (Hyclone, США), 1 % пенициллина, 1 % стрептомицина, 1 % глутамина в CO₂-инкубаторе при 37 °C и 8 % CO₂, пересеивали каждые 3–4 дня в зависимости от плотности

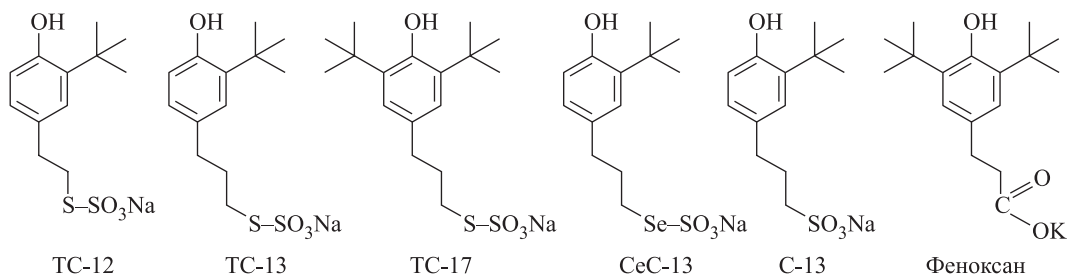


Рис. 1. Строение синтетических монофенолов, использованных в настоящем исследовании
Fig. 1. The structure of the synthesized monophenols used in the study

клеточного слоя. С исследуемыми соединениями в концентрациях 5, 20 и 100 мкМ клетки инкубировали в течение 24 часов.

Для приготовления лизатов клетки U937 отмывали фосфатно-солевым буфером (PBS) (Invitrogen, США), ресуспендировали в 0,5 мл лизирующего буфера, содержащего 10 мМ Tris-HCl и 250 мМ сахарозы (Лаборатория Медиген, Россия), pH 7,4, после чего озвучивали на льду ультразвуковым аппаратом МУЗА 01/22-М Надежда-3 (Россия), центрифугировали 10 минут на скорости 13 000 об/мин и отбирали супернатант для измерений. Активность ферментов, содержание белка и глутатиона определяли спектрофотометрически при 25 °C в 96-луночных плоскодонных планшетах для иммунологических измерений на микропланшетном анализаторе ELx808 (BioTek, США) (NAD(P)H:хиноноксидоредуктаза 1 (NQO1), общий белок, глутатион) или в кварцевых кюветках на спектрофотометре Smartspec™ Plus (Bio-Rad Laboratories, США) (глутатион-S-трансферазы (GST), селен-зависимые глутатионпероксидазы (GPx) и глутатионредуктаза (GR)). В качестве «пустой» пробы использовали рабочий раствор без добавления клеточного лизата. Результаты измерений активности ферментов нормировали на общее количество белка, содержание которого определяли по методу Bradford [11].

Активность NQO1 измеряли по скорости реакции NADPH-зависимого двухэлектронного окисления дихлориндофенола [12]. Для этого рабочий раствор, содержащий 50 мМ Tris-HCl, pH 7,5, 0,08 % Triton X-100 (Лаборатория Медиген, Россия), 0,25 мМ NADPH (Reanal, Венгрия), 80 мкМ 2,6-дихлориндофенола (Fluka, Швейцария), разливали по 140 мкл в лунки 96-луночного планшета, инициировали реакцию добавлением 10 мкл клеточного лизата и измеряли изменение оптической плотности на длине волны 600 нм в кинетическом режиме. Реакцию с каждым образцом проводили дважды – в присутствии 60 мкМ дикумарола и без него, после чего вычисляли чувствительную к дикумаролу способность образцов восстанавливать 2,6-дихлориндофенол. Изменение оптической плотности пересчитывали в изменение концентрации субстрата, используя коэффициент экстинкции $21,0 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Активность GST определяли по скорости образования конъюгатов глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом [13]. Для этого рабочий раствор, содержащий 100 мМ PBS, 1 мМ GSH, 1 мМ 1-хлор-2,4-динитробензола, разливали в кварцевые кюветы по 1400 мкл. Реакцию запускали добавлением к рабочему раствору 100 мкл клеточного лизата, после чего на 1 и на 10 минутах измеряли оптическую плотность на длине

волны 340 нм. Изменение оптической плотности пересчитывали в изменение концентрации продукта, используя коэффициент экстинкции $9,6 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Активность GPx определяли по скорости окисления восстановленного глутатиона (GSH) экзогенной H_2O_2 в присутствии NADPH [14]. В реакционную смесь, содержащую 1 мМ ЭДТА, 1 мМ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 10 мМ GSH и 2,4 ЕД/мл GR и 100 мкл клеточного лизата, вводили 100 мкл 1,5 мМ NADPH и измеряли базовое окисление последнего в течение 3 мин при 340 нм, после чего инициировали реакцию добавлением 100 мкл 1,5 мМ H_2O_2 и измеряли оптическую плотность на длине волны 340 нм в течение 3 мин; 1 ЕД активности GPx соответствует 1 мкМ окисленного за 1 мин NADPH.

Активность GR измеряли по скорости окисления NADPH, расходующегося на восстановление окисленного глутатиона (GSSG) [13]. Для этого рабочий раствор, содержащий 50 мМ Tris-HCl, 0,1 мМ EDTA, 0,14 мМ NADPH, 1 мМ окисленного глутатиона, разливали в кюветы по 1400 мкл, реакцию запускали добавлением 100 мкл клеточного лизата, после чего измеряли оптическую плотность на длине 340 нм на 1 и 20 минутах реакции. Изменение оптической плотности пересчитывали в изменение концентрации субстрата, используя коэффициент экстинкции $6,2 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Для определения содержания глутатиона клеточные лизаты депротеинизировали добавлением 50%-го водного раствора сульфосалициловой кислоты (1 : 1, объем : объем) с последующим центрифугированием (10 мин, 13 000 об/мин). Суммарное содержание глутатиона (GSH и GSSG) определяли по скорости его взаимодействия с 5,5'-дитиобис-2-нитробензойной кислотой [15]. Для этого в лунки 96-луночного планшета к 150 мкл рабочего раствора (100 мМ калиево-фосфатный буфер, содержащий 1 мМ ЭДТА, pH 7, 0,1 мМ 5,5'-дитиобис-2-нитробензойной кислоты и 0,44 ЕД/мл GR) вносили по 10 мкл клеточного лизата. Реакцию инициировали добавлением 50 мкл 0,19 мМ раствора NADPH (40 мг/мл) и в кинетическом режиме измеряли изменение оптической плотности на длине волны 450 нм. Калибровочную кривую строили по образцам с известной концентрацией GSH. Для определения содержания GSSG каждую пробу предварительно инкубировали с 2,5 % 2-винилпиридина для необратимой конъюгации GSH и проводили измерение, как описано выше. Концентрацию GSH определяли как разность содержания суммарного глутатиона и GSSG.

Для иммунофлуоресцентного окрашивания антителами к транскрипционному фактору Nrf2

клетки линии J774 снимали трипсином и сажали на стекла с полилизиновым покрытием в полную культуральную среду, после распластывания добавляли раствор исследуемого вещества и инкубировали 4 ч. Затем клетки фиксировали 4%-м формалином в течение 15 мин (эту и все последующие стадии приготовления препаратов проводили при комнатной температуре) и пермеабелизовали 0,15%-м раствором Тритона X-100 в PBS в течение 3 мин, после чего дважды отмывали в PBS в течение 5 мин. После инкубации в блокирующем буфере (0,05 мг/мл бычьего сывороточного альбумина (Amresco-Inc., США) в PBS) в течение 40 мин препараты инкубировали 3 ч с кроличьими поликлональными антителами к Nrf2 (ab31163, Abcam, Великобритания), после чего дважды отмывали в PBS в течение 10 мин. Затем препараты инкубировали со вторичными антителами к иммуноглобулинам кролика, конъюгированными с флуорохромом Texas Red (Abcam, США), в течение 1 ч в темноте и после двукратной десятиминутной отмывки в PBS заключали в монтирующую среду Fluoroshield, содержащую интеркалирующий краситель DAPI для окраски ядер (Abcam, США). Внутриклеточную локализацию Nrf2 исследовали на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе LSM 710 (Zeiss, Германия).

Количественные данные на предварительном этапе статистического анализа оценивали на нормальность распределения по критерию Шапиро – Уилка. Поскольку распределения отличались от нормального, переменные представлены на рисунках в виде медианы (столбики) и межквартильных интервалов («усы»). Для оценки различий данных использовали критерии Манна – Уитни и Данна. Связь между признаками определяли с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена (r). Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

Сравнительный анализ способности фенольных антиоксидантов данного структурно взаимосвязанного ряда индуцировать в клетках миелоидной линии U937 синтез ARE-зависимых ферментов II фазы детоксикации ксенобиотиков и антиоксидантных ферментов был проведен на модели индукции суммарной активности GST, катализирующих реакции химической модификации ксенобиотиков с участием GSH (реакции конъюгации и нуклеофильного замещения ксенобиотиков и GSH и восстановление органических пероксидов до спиртов с образованием GSSG), и

NQO1, катализирующей реакции двухэлектронного восстановления широкого спектра хинонов, предотвращая образование высокорективных семихинонов, и функционирующей как эффективный скэвинджер супероксид-радикала [16].

C-13 не оказывал значимого влияния на активность NQO1 и GST (рис. 2, а; 3, а). TC-12 не влиял на активность NQO1 и существенно повышал активность GST (в большей степени в концентрациях 5 и 100 мкМ, линейная зависимость эффекта от дозы: достоверность аппроксимации $R^2 = 0,50$, $p = 0,0023$; коэффициент корреляции Спирмена $r_s = 0,79$, $p = 0,0003$) (рис. 2, б; 3, б). TC-17 значимо увеличивал активность обоих ферментов только в концентрации 100 мкМ, практически не влияя на их индукцию в более низких дозах (рис. 2, в; 3, в), в то же время зависимость эффекта от дозы была линейной – для NQO1 достоверность аппроксимации $R^2 = 0,37$, $p = 0,0073$; коэффициент корреляции Спирмена $r_s = 0,58$, $p = 0,0112$, для GST достоверность аппроксимации $R^2 = 0,73$, $p = 0,0000$; коэффициент корреляции Спирмена $r_s = 0,39$, $p = 0,1107$.

Феноксан (рис. 2, г; 3, г) и CeC-13 (рис. 2, д; 3, д) во всех концентрациях достоверно повышали активность как NQO1, так и GST, однако эффект был умеренным. Кроме того, если для феноксана зависимость эффекта от дозы была однозначно линейной для обоих ферментов (для NQO1 достоверность аппроксимации $R^2 = 0,35$, $p = 0,0103$; коэффициент корреляции Спирмена $r_s = 0,71$, $p = 0,0011$, для GST достоверность аппроксимации $R^2 = 0,24$, $p = 0,0462$; коэффициент корреляции Спирмена $r_s = 0,68$, $p = 0,0024$), то для CeC-13 она не была столь очевидной (для NQO1 достоверность аппроксимации $R^2 = 0,25$, $p = 0,0477$; коэффициент корреляции Спирмена $r_s = 0,72$, $p = 0,0018$, для GST достоверность аппроксимации $R^2 = 0,13$, $p = 0,1649$; коэффициент корреляции Спирмена $r_s = 0,57$, $p = 0,0212$). Здесь необходимо отметить, что CeC-13 довольно токсичен: при инкубировании в течение 24 ч с 100 мкМ соединения погибает более 50 % клеток U937 [10], что и может объяснять колебания эффекта.

Наибольшим же индуцирующим эффектом обладает TC-13 (рис. 2, е; 3, е), который эффективно повышал активность NQO1 в концентрациях 5 мкМ (увеличение в 2,2 раза по сравнению с контролем), 20 мкМ (в 2,3 раза) и 100 мкМ (в 2,6 раза), линейная зависимость эффекта от дозы (достоверность аппроксимации $R^2 = 0,37$, $p = 0,0074$; коэффициент корреляции Спирмена $r_s = 0,78$, $p = 0,0002$). Инкубация клеток U937 с TC-13 также приводила к увеличению в них активности GST (нелинейная зависимость), при

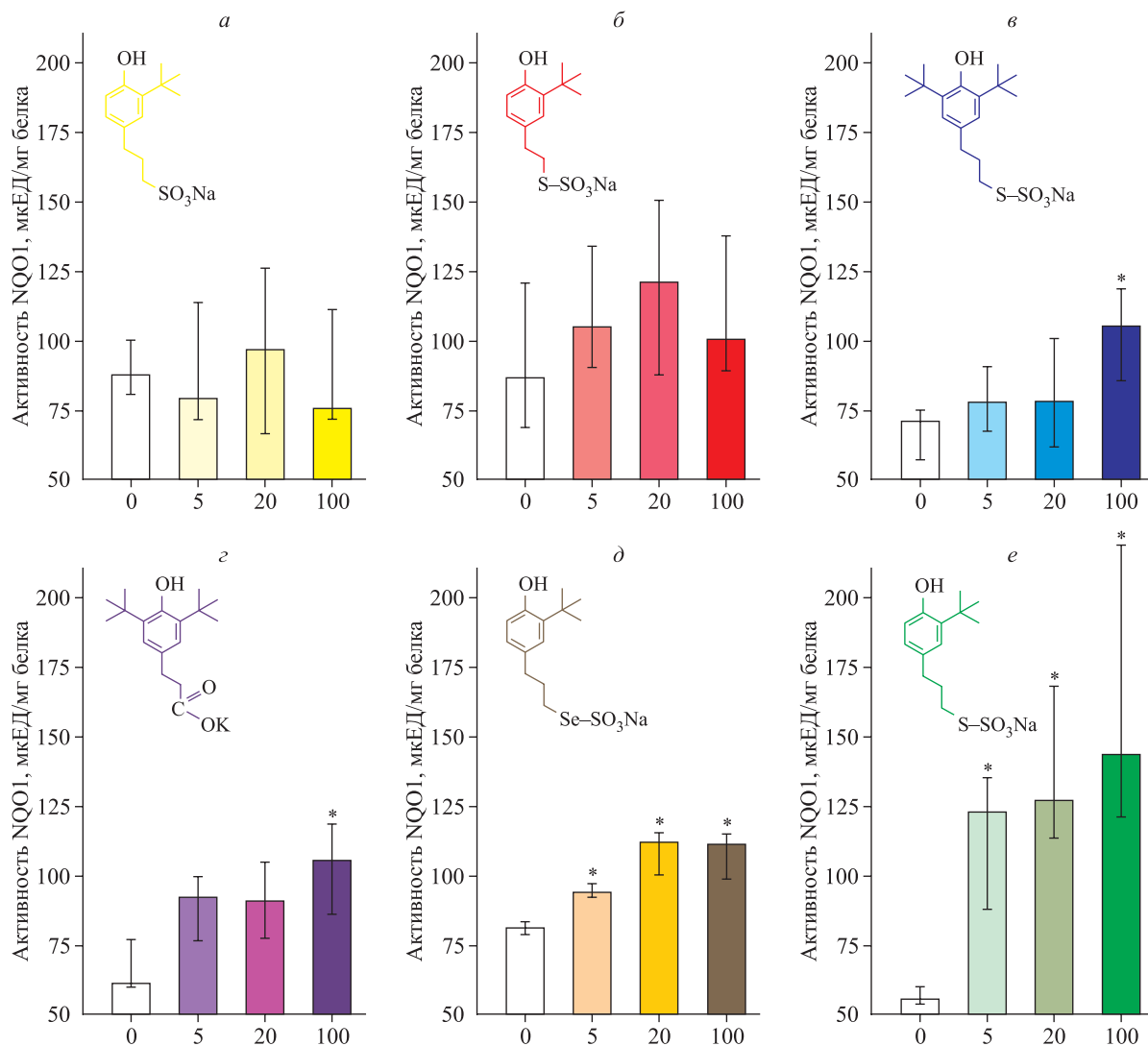


Рис. 2. Влияние S-13 (а), TS-12 (б), TS-17 (в), феноксана (г), SeS-13 (д) и TS-13 (е) на активность NQO1 в клетках U937; здесь и на рис. 3–5 звездочкой обозначено статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от величины показателя группы контроля

Fig. 2. Effect of S-13 (a), TS-12 (b), TS-17 (v), phenoxan (g), SeS-13 (d) and TS-13 (e) on NQO1 activity in U937 cells; here and in figures 3–5 an asterisk denotes a statistically significant ($p < 0.05$) difference from the value of the control group

этом интересно, что в данном случае вновь проявился обнаруженный нами ранее [17] горметический эффект TC-13 – в более низких концентрациях (5 и 20 μM) соединение дозозависимо ее повышало (соответственно в 1,29 и 1,86 раза), в то время как при увеличении дозы до 100 μM стимулирующий эффект исчезал.

Основополагающим моментом, служащим в качестве триггера для индукции системы Keap1/Nrf2/ARE, является изменение редокс-баланса биологической системы в сторону преобладания прооксидантов, в том числе развитие окислительного стресса. Наиболее адекватным показателем окислительно-восстановительного равновесия служит соотношение восстановленных и окис-

ленных SH-групп в белках, непосредственно зависящее от специализированной системы трипептида глутатиона, к которой можно отнести сам глутатион в окисленной (GSSG) и восстановленной (GSH) форме, использующие последний в качестве кофактора ферменты (GPx, GST) и GR, восстанавливающую дисульфидную связь окисленного глутатиона до его сульфгидрильной формы.

Обнаружено, что TC-13 дозозависимо увеличивает активность GPx и GR в клетках U937 (рис. 4). При этом максимальным активирующим эффектом на GPx TC-13 обладает в дозе 100 μM (рис. 4, а), тогда как в наибольшей степени активирует GR в дозе 20 μM (аналогично влиянию на

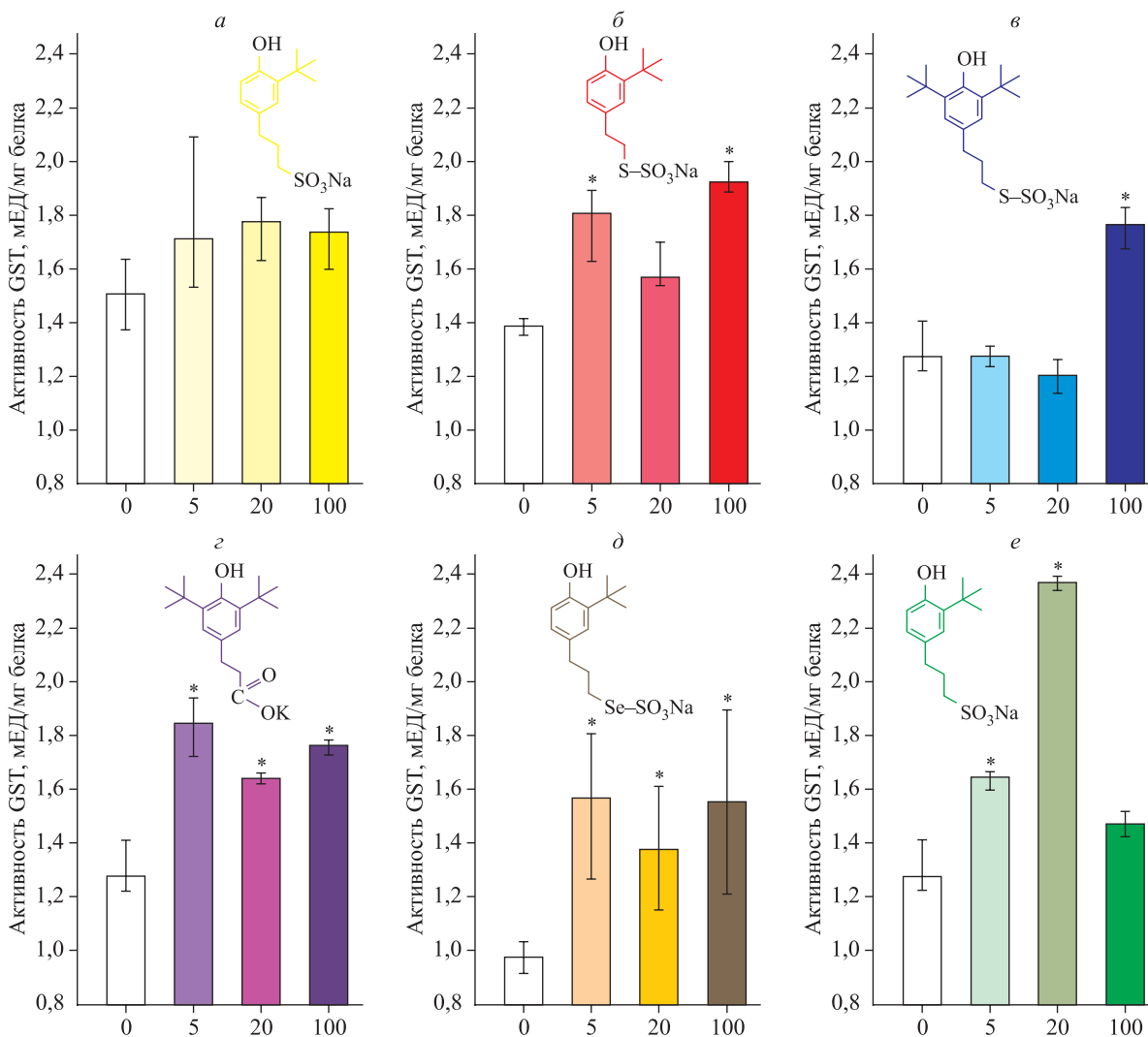


Рис. 3. Влияние S-13 (а), ТС-12 (б), ТС-17 (в), феноксана (г), SeC-13 (д) и ТС-13 (е) на общую активность GST в клетках U937

Fig. 3. Effect of S-13 (a), TS-12 (б), TS-17 (в), phenoxan (г), SeS-13 (д) and TS-13 (е) on GST total activity in U937 cells

GST), увеличивая данный показатель в 1,75 раза по сравнению с контролем, а при дальнейшем повышении конечной концентрации происходит инверсия эффекта (рис. 4, б). Последний феномен можно объяснить уже упоминавшимся явлением гормезиса, часто встречающимся у индукторов системы Keap1/Nrf2/ARE: их низкие концентрации повышают экспрессию ARE-зависимых генов, а высокие, напротив, снижают [18].

Полученные данные свидетельствуют о наличии у фенольного антиоксиданта ТС-13 способности увеличивать экспрессию и активность комплекса антиоксидантных ферментов и ферментов II фазы детоксикации ксенобиотиков, контролируемых антиоксидант-респонсивным элементом на уровне транскрипции соответствующих генов, что в сочетании с особенностями химиче-

ского строения соединения косвенно подтверждает его принадлежность к индукторам системы Keap1/Nrf2/ARE. Для получения дополнительных доказательств данного предположения на основании сведений о поэтапном механизме активации Nrf2 нами изучена способность ТС-13 инициировать ядерную транслокацию молекулы Nrf2, являющуюся ключевым моментом активации системы Keap1/Nrf2/ARE. Установлено, что в интактных клетках J774 Nrf2 равномерно локализован как в цитоплазме, так и в клеточном ядре; спустя 4 часа после добавления ТС-13 происходит его перераспределение в ядро. Наибольший эффект достигался при концентрации ТС-13 20 мкМ (рис. 5, а), при этом до 50 мкМ он зависел от дозы (достоверность аппроксимации $R^2 = 0,35$; $p = 0,000001$; коэффициент корреляции Спирмена

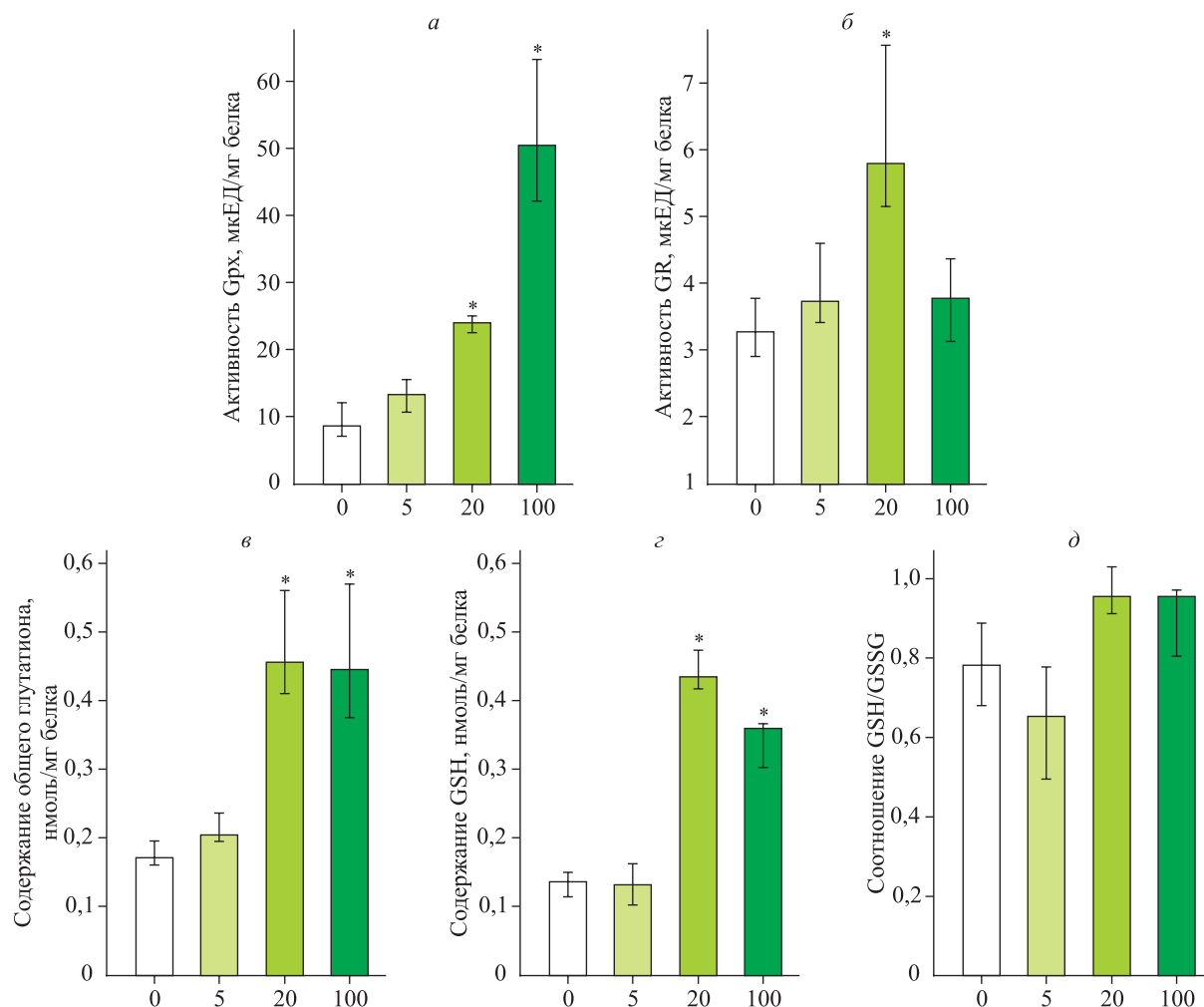


Рис. 4. Влияние TC-13 на активность GPx (а) и GR (б), внутриклеточное содержание общего глутатиона (в) и GSH (г) и соотношение GSH/GSSG (д) в клетках U937

Fig. 4. Effect of TS-13 on GPx (a) and GR activity (б), on intracellular content of total glutathione (в), GSH (г) and on GSH/GSSG ratio (д) in U937 cells

$r_s = 0,60$, $p = 0,000005$) (рис. 5, б), а при концентрации 100 мкМ транспорт молекулы Nrf2 в ядро уменьшался, что может быть связано с эффектом гормезиса индуктора, активацией исследуемым фенолом конкурирующих сигнальных путей, тормозящих активацию антиоксидант-реактивного элемента, либо с активацией Nrf2 в данных условиях на более ранних сроках, тогда как через 4 часа после воздействия преобладают уже механизмы инактивации данного сигнального пути.

Таким образом, в настоящей работе показано, что водорастворимые фенольные антиоксиданты существенно различаются по способности активировать NQO1 и GST в клетках моноцитарно-макрофагальной линии U937 в зависимости от своей химической структуры. Наибольшим стимулирующим эффектом обладает несимметрично экранированный фенол TC-13, в то время как укорочение *para*-алкильного заместителя на одно

метиловое звено (соединение TC-12, рис. 6, а), замена в его структуре бивалентного атома серы на атом селена (соединение SeC-13, рис. 6, б) или удаление (соединение C-13, рис. 6, в), полное экранирование фенольной группы (соединение TC-17, рис. 6, г) приводит к частичной (от умеренной до почти полной) потере биологической активности.

Эти факты свидетельствуют, что для реализации биологической активности исследуемых соединений важно присутствие в структуре *para*-алкильного заместителя атома двухвалентной серы и степень экранирования ОН-группы; наиболее выраженной эффективностью обладает частично экранированный монофенол TC-13. При этом отмечено, что NQO1- и GST-индуцирующие способности тестируемых соединений тесно взаимосвязаны (рис. 7), что указывает на возможность координированной индукции данных

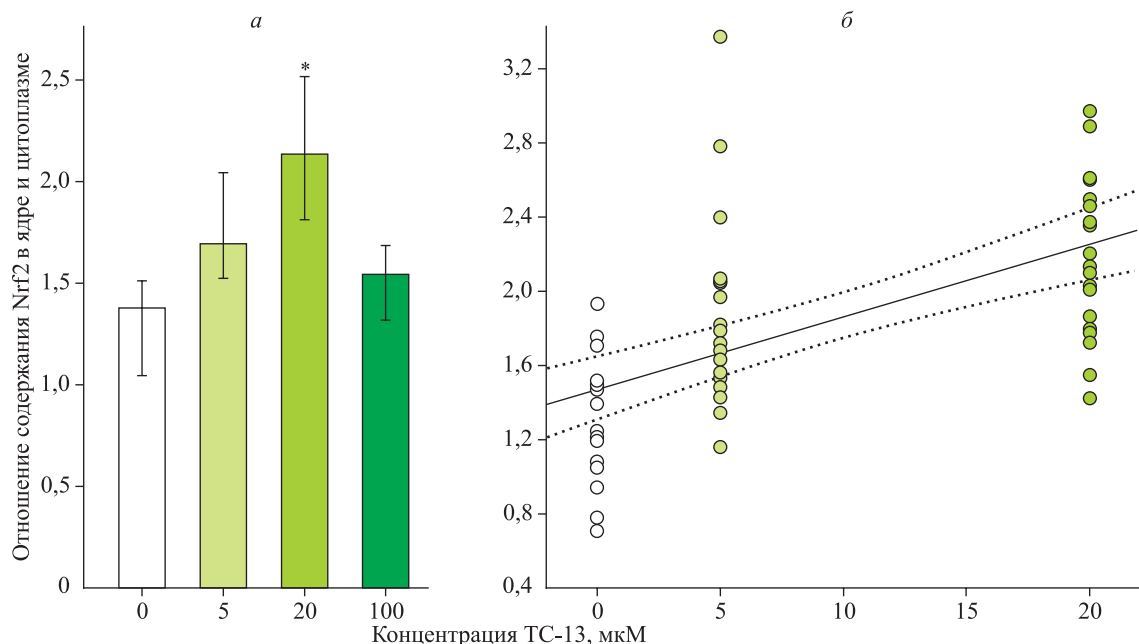


Рис. 5. Влияние ТС-13 на ядерно-цитоплазматическое соотношение содержания Nrf2 в клетках J774: а – медианы значений и разбросы, б – диаграмма рассеяния в диапазоне концентраций ТС-13 от 0 до 20 мкМ (здесь и на рис. 6 кружки – отдельные значения, сплошная линия – линейная аппроксимация, пунктирная – 95%-й доверительный интервал)

Fig. 5. Effect of TS-13 on Nrf2 nuclear/cytoplasm ratio in J774 cells: а – medians and spreads, б – scatter diagram in the range of TS-13 concentrations from 0 to 20 μM (circles – individual values, solid line – linear approximation, dashed line 95% confidence interval)

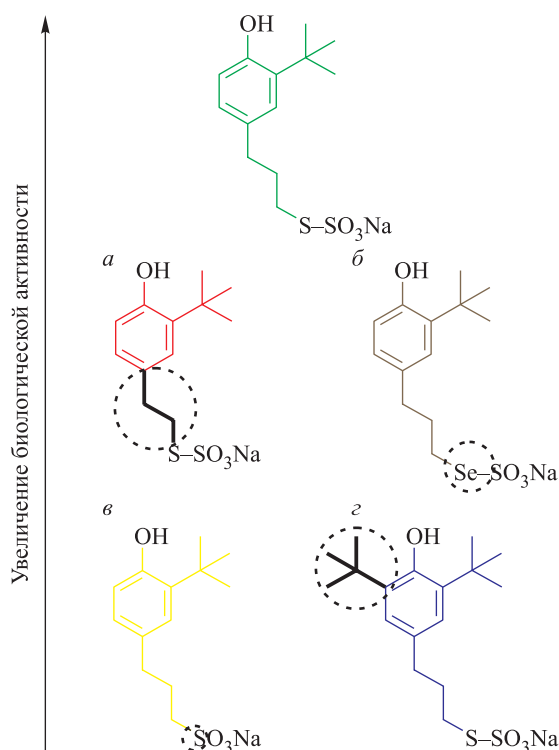


Рис. 6. Схематическое изображение зависимости между структурой соединений и их биологической активностью

Fig. 6. Relationship between compound structure and biological activity (scheme)

ферментов и наличие общей регуляторной системы, обеспечивающей их активацию в ответ на обработку клеток фенольными антиоксидантами. В то же время, помня о прямой антирадикальной активности соединений, нельзя не упомянуть интересный факт: их способность перехватывать радикалы в модельной реакции [10] прямо связана с индукцией NQO1, при исключении из анализа токсичного для клеток СеС-13 коэффициент корреляции Спирмена $r_s = 0,71$ ($p = 0,002740$).

Наиболее вероятным механизмом активации NQO1 и GST фенольными антиоксидантами является усиление экспрессии соответствующих генов, так как через сутки в водных растворах происходит полный гидролиз большинства исследуемых фенолов, что исключает наличие аллостерических эффектов на сами ферменты. Поскольку экспрессия этих генов является ARE-зависимой, а структура соединений отвечает критериям индукторов ARE, можно сделать вывод об их возможном активирующем влиянии на сигнальную систему Keap1/Nrf2/ARE. Об этом свидетельствуют и другие доказательства способности данных соединений влиять на ключевые элементы активации системы Keap1/Nrf2/ARE: повышать экспрессию мРНК гена *GSTP1-1* в клетках гепатокарциномы человека линии HepG2 [19], усиливать транслокацию Nrf2 в ядро (пока-

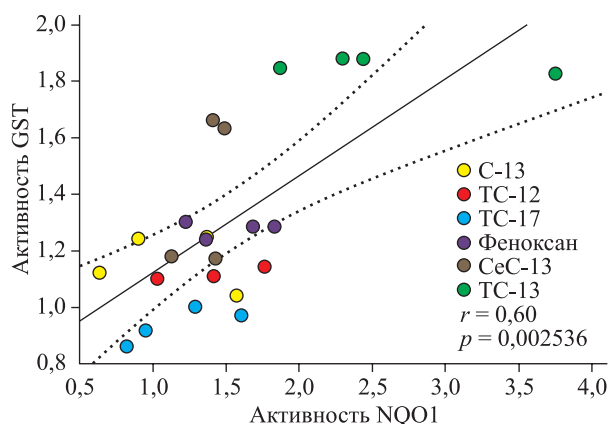


Рис. 7. Корреляция GST- и NQO1-активирующих свойств исследуемых фенольных антиоксидантов (диаграмма рассеяния). Отдельные значения вычислены как отношения медиан активностей ферментов при инкубации клеток U937 с 20 мкМ соответствующего соединения и контроля, %. Приведены коэффициент корреляции Спирмена и его статистическая значимость

Fig. 7. Correlation of GST- and NQO1-activating properties of the studied phenolic antioxidants (scatter diagram). The individual values were calculated as the ratios of ratio of enzyme activity median during incubation of U937 cells with 20 μ M corresponding compound to control, (%). Spearman's correlation coefficient and its statistical significance are presented

званное в настоящем исследовании (см. рис. 5) на клетках линии J774 и ранее на клетках аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 [20]), *in vivo* увеличивать экспрессию мРНК, содержание белка и активность GSTP1, а также образование комплексов ядерных белков с олигонуклеотидной последовательностью, соответствующей ARE (гель-ретардационный анализ) [21]).

Благодарности

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы».

Список литературы / References

1. Niki E. Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress? *Arch. Biochem. Biophys.* 2016; 595: 19–24. doi: 10.1016/j.abb.2015.11.017
2. Sies H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biol.* 2017; 11: 613–619. doi: 10.1016/j.redox.2016.12.035
3. Rolt A., Cox L.S. Structural basis of the anti-ageing effects of polyphenolics: mitigation of oxida-

tive stress. *BMC Chem.* 2020; 14 (1): 50. doi: 10.1186/s13065-020-00696-0

4. Sies H. Oxidative stress: concept and some practical aspects. *Antioxidants (Basel)*. 2020; 9 (9). doi: 10.3390/antiox9090852

5. Tungmunthum D., Thongboonyou A., Pholboon A., Yangsabai A. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: an overview. *Medicines (Basel)*. 2018; 5 (3). doi: 10.3390/medicines5030093

6. Jafari H., Bernaerts K.V., Dodi G., Shavandi A. Chitoooligosaccharides for wound healing biomaterials engineering. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* 2020; 117: 111266. doi: 10.1016/j.msec.2020.111266

7. Zhou Y.X., Gong X.H., Zhang H., Peng C. A review on the pharmacokinetics of paeoniflorin and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects. *Biomed. Pharmacother.* 2020; 130: 110505. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110505

8. Zenkov N.K., Kozhin P.M., Chechushkov A.V., Martinovich G.G., Kandalintseva N.V., Menshchikova E.B. Mazes of Nrf2 regulation. *Biochemistry (Mosc.)*. 2017; 82 (5): 556–564. doi: 10.1134/s0006297917050030

9. Олейник А.С., Куприна Т.С., Певнева Н.Ю., Марков А.Ф., Кандалинцева Н.В., Просенко А.Е., Григорьев И.А. Синтез и антиоксидантные свойства S-[3-(гидроксиарил)пропил]тиосульфатов и [3-(гидроксиарил)пропан]-1-сульфонатов натрия. *Изв. РАН. Сер. хим.* 2007; (6): 1094–1101.

Oleynik A.S., Kuprina T.S., Pevneva N.Yu., Markov A.F., Kandalintseva N.V., Prosenko A.E., Grigorev I.A. Synthesis and antioxidant properties of sodium S-[3-(hydroxyaryl)propyl] thiosulfates and [3-(hydroxyaryl)propane]-1-sulfonates. *Russ. Chem. Bull.* 2007. 56 (6). 1135–1143.

10. Гайнутдинов П.И., Кожин П.М., Чечушков А.В., Мартинович Г.Г., Хольшин С.В., Кандалинцева Н.В., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Обратная зависимость между антиоксидантной активностью синтетических монофенолов структурно взаимосвязанного ряда и их токсичностью в отношении опухолевых клеток. *Сиб. науч. мед. журн.* 2018; 38 (1): 22–31. doi: 10.15372/SSMJ20180104

Gainutdinov P.I., Kozhin P.M., Chechushkov A.V., Martinovich G.G., Kholshin S.V., Kandalintseva N.V., Zenkov N.K., Menshchikova E.B. Inverse relationship between the antioxidant activity of structurally related synthetic monophenols and their toxicity in tumor cells. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2018; 38 (1): 22–31. [In Russian].

11. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976; 72: 248–254. doi: 10.1006/abio.1976.9999

12. Siegel D., Kepa J.K., Ross D. Biochemical and genetic analysis of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1). *Curr. Protoc. Toxicol.* 2007; Chapter 4: Unit4 22. doi: 10.1002/0471140856.tx0422s32
13. Mannervik B., Jemth P. Measurement of glutathione transferases. *Curr. Protoc. Toxicol.* 2001; Chapter 6: Unit6 4. doi: 10.1002/0471140856.tx0604s01
14. Li S., Yan T., Yang J.Q., Oberley T.D., Oberley L.W. The role of cellular glutathione peroxidase redox regulation in the suppression of tumor cell growth by manganese superoxide dismutase. *Cancer Res.* 2000; 60 (14): 3927–3939.
15. Rahman I., Kode A., Biswas S.K. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nat. Protoc.* 2006; 1 (6): 3159–3165. doi: 10.1038/nprot.2006.378
16. Satoh T., McKercher S.R., Lipton S.A. Nrf2/ARE-mediated antioxidant actions of pro-electrophilic drugs. *Free Radic. Biol. Med.* 2013; 65: 645–657. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.022
17. Лемза А.Е., Ткачев В.О., Зенков Н.К., Кандалинцева Н.В., Хольшин С.В., Меньщикова Е.Б. Структурно-функциональные особенности влияния новых водорастворимых фенольных антиоксидантов на жизнеспособность клеток. *Сиб. науч. мед. журн.* 2015; (2): 16–22.
- Lemza A.E., Tkachev V.O., Zenkov N.K., Kandalintseva N.V., Kholshin S.V., Men'shchikova E.B. Effect of novel water-soluble phenolic antioxidants on cell viability: structure-activity relationships. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2015; (2): 16–22. [In Russian].
18. Kanner J. Polyphenols by generating H₂O₂, affect cell redox signaling, inhibit PTPs and activate Nrf2 axis for adaptation and cell surviving: *in vitro*, *in vivo* and human health. *Antioxidants (Basel).* 2020; 9 (9) doi: 10.3390/antiox9090797
19. Zenkov N.K., Menshchikova E.B., Kandalintseva N.V., Oleynik A.S., Prosenko A.E., Gusachenko O.N., Shklyayeva O.A., Vavilin V.A., Lyakhovich V.V. Antioxidant and antiinflammatory activity of new water-soluble sulfur-containing phenolic compounds. *Biochemistry (Mosc.).* 2007; 72 (6): 644–651.
20. Menshchikova E.B., Chechushkov A.V., Kozhin P.M., Kholshin S.V., Kandalintseva N.V., Martinovich G.G., Zenkov N.K. Activation of autophagy and Nrf2 signaling in human breast adenocarcinoma MCF-7 cells by novel monophenolic antioxidants. *Cell and Tissue Biology.* 2019; 13 (2): 85–92. doi: 10.1134/s1990519x1902007x
21. Menshchikova E., Tkachev V., Lemza A., Sharikova T., Kandalintseva N., Vavilin V., Safronova O., Zenkov N. Water-soluble phenol TS-13 combats acute but not chronic inflammation. *Inflamm. Res.* 2014; 63 (9): 729–740. doi: 10.1007/s00011-014-0746-0

Сведения об авторах:

Елена Брониславовна Меньщикова, д.м.н., ORCID: 0000-0003-2367-0114, e-mail: lemen@centercem.ru
Николай Константинович Зенков, д.б.н., ORCID: 0000-0003-1476-4098, e-mail: zenkovnk@mail.ru
Пётр Михайлович Кожин, к.м.н., ORCID: 0000-0002-9989-9778, e-mail: kozhinpm@gmail.com
Антон Владимирович Чечушков, к.м.н., ORCID: 0000-0002-0238-4533, e-mail: achechushkov@gmail.com
Владислав Сергеевич Павлов, e-mail: vspavlov@centercem.ru
Лидия Петровна Ромах, e-mail: lpromakh@centercem.ru
Марина Валерьевна Храпова, к.б.н., ORCID: 0000-0003-3397-8067, e-mail: khrapova@centercem.ru
Анастасия Евгеньевна Серых, e-mail: rasiel1996@yandex.ru
Оксана Борисовна Грицык, к.м.н., e-mail: oks-gritsik@yandex.ru
Наталья Валерьевна Кандалинцева, д.х.н., ORCID: 0000-0001-6022-934X, e-mail: aquaphenol@mail.ru

Information about the authors:

Elena B. Menshchikova, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2367-0114, e-mail: lemen@centercem.ru
Nikolay K. Zenkov, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0003-1476-4098, e-mail: zenkovnk@mail.ru
Peter M. Kozhin, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9989-9778, e-mail: kozhinpm@gmail.com
Anton V. Chechushkov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-0238-4533,
e-mail: achechushkov@gmail.com
Vladislav S. Pavlov, e-mail: vspavlov@centercem.ru
Lidia P. Romakh, e-mail: lpromakh@centercem.ru
Marina V. Khrapova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-3397-8067,
e-mail: khrapova@centercem.ru
Anastasia E. Serykh, e-mail: rasiel1996@yandex.ru
Oksana B. Gritsyk, candidate of medical sciences, e-mail: oks-gritsik@yandex.ru
Natalya V. Kandalintseva, doctor of chemical sciences, ORCID: 0000-0001-6022-934X,
e-mail: aquaphenol@mail.ru

Поступила в редакцию 21.09.2020
После доработки 21.10.2020
Принята к публикации 21.10.2020

Received 21.09. 2020
Revision received 21.10.2020
Accepted 21.10.2020

Токсическое действие медно-цинковой колчеданной руды на эритропоэз в условиях хронического эксперимента

К.Р. Зиякаева, А.Ф. Каюмова

Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России
450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3

Резюме

Природные руды содержат большое количество вредных для здоровья человека компонентов. У работников горно-обогатительных предприятий, длительно контактирующих с этими природными элементами, нередко диагностируется анемия, патогенез которой изучен недостаточно. Цель исследования – детализировать механизмы нарушений эритрона при длительной интоксикации крыс природным комплексом соединений тяжелых металлов, входящих в состав медно-цинковой колчеданной руды. **Материал и методы.** Работа выполнена на 60 белых нелинейных крысах-самцах возраста 3–4 месяца, весом $220,52 \pm 15,51$ г. Животным опытной группы ($n = 40$) ежедневно за час до стандартного кормления перорально вводили водную суспензию порошка медно-цинковой колчеданной руды в хлебном мякише в течение 75–120 дней. Забор крови и костного мозга у крыс опытной группы осуществляли на 75-е, 90-е, 105-е и 120-е сутки, у крыс контрольной группы ($n = 20$) – на 75-е и 105-е сутки эксперимента. Центральное звено эритрона оценивали по количеству и составу эритробластических островков (ЭО) костного мозга, количеству свободных макрофагов, коэффициентам вовлечения в эритропоэз колониеобразующих единиц эритроцитарных (КОЕ-Э) и макрофагов. **Результаты и их обсуждение.** В периферической крови крыс опытной группы количество эритроцитов и содержание гемоглобина было достоверно меньше контрольных значений на 90-е и 120-е сутки, число ретикулоцитов – больше на 75-е, 105-е и 120-е сутки. В костном мозге животных опытной группы встречались лишь единичные ЭО 1-го и 2-го классов зрелости. На протяжении всего эксперимента содержание свободных макрофагов и ЭО с ретикулоцитарной короной в их костном мозге было повышенным, а концентрация связанного железа и сывороточного эритропоэтина в крови – напротив, пониженной. Показатель интенсивности вовлечения КОЕ-Э в эритропоэз был меньше контрольных значений в 2 раза на 105-е и 120-е сутки. **Заключение.** При длительном пероральном введении медно-цинковой колчеданной руды в костном мозге крыс угнетается процесс образования ЭО *de novo* путем дестабилизации контактов свободных костно-мозговых макрофагов с молодыми эритроидными клетками. В сыворотке крови снижается содержание эритропоэтина и связанного железа, что в совокупности с изменением характера эритропоэза приводит к уменьшению количества эритроцитов и гемоглобина в периферической крови.

Ключевые слова: эритропоэз, эритробластический островок, эритроциты, тяжелые металлы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Зиякаева К.Р., e-mail: klazia@yandex.ru

Для цитирования: Зиякаева К.Р., Каюмова А.Ф. Токсическое действие медно-цинковой колчеданной руды на эритропоэз в условиях хронического эксперимента. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (6): 70–79. doi: 10.15372/SSMJ20200607

Toxic effect of copper-zinc pyrite ore on erythropoiesis in chronic experiment

K.R. Ziyakaeva, A.F. Kayumova

Bashkir State Medical University of Minzdrav of Russia
450008, Ufa, Lenin str., 3

Abstract

Natural ores contain a large number of harmful components for human health. Workers of mining and processing enterprises, who have long-term contact with these natural elements, are often diagnosed with anemia, that pathogenesis is not sufficiently studied. Aim of the study was to detail the mechanisms of rats' erythron disorders in the long-term

intoxication by natural complex of heavy metal compounds of copper-zinc pyrite ore. **Material and methods.** The work was performed on 60 white non-linear male rats aged 3–4 months weighing $220,52 \pm 15,51$ g. The experimental group of animals ($n = 40$) were injected orally with water suspension of copper-zinc powder in a bread crumb an hour before standard feeding during 75–120 days. The blood and bone marrow of experimental groups of rats were carried out on the 75-th, 90-th, 105-th and 120-th days of the experiment. The blood and bone marrow of rats' control groups were studied on the 75-th and 105-th day. The central part of erythron was assessed by the number and composition of the erythroblastic islets (EI) of bone marrow, the number of free macrophages, the coefficients of involvement of colony-forming units of red blood cells (CFU-E) and macrophages into erythropoiesis. **Results.** In the peripheral blood of experimental rats the number of red blood cells and the content of hemoglobin were reliably less than the control values on the 90-th and 120-th day, the number of reticulocytes was exceeded the control group on the 75-th, 105-th and 120-th day. In the bone marrow of experimental rats there were only a single EI1 and EI2 classes of maturity. Throughout the experiment, the content of free macrophages and EI with reticulocytes «crown» in the bone marrow of rats was elevated, and the concentration of iron and erythropoietin in the blood, on the contrary, was reduced. The intensity of CFU-E involvement in the erythropoiesis was less than the control level by 2 times on 105th and 120th days of the experiment. **Conclusion.** With long-term introduction of copper-zinc pyrite ore in the bone marrow of rats the process of formation of EI de novo is suppressed by destabilizing the contact of free bone macrophages with young red blood cells. There is reduces in the content of serum erythropoietin and bound iron, that combines with the change of erythropoiesis nature, leads to decreasing of the number of mature red blood cells and content of hemoglobin in the peripheral blood.

Key words: erythropoiesis, erythroblastic islet, red blood cells, heavy metals.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Ziyakaeva K.R., e-mail: klazia@yandex.ru

Citation: Ziyakaeva K.R., Kayumova A.F. Toxic effect of copper-zinc pyrite ore on erythropoiesis in chronic experiment. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (6): 70–79. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200607

Введение

Загрязнение окружающей среды солями тяжелых металлов оказывает значительное влияние на здоровье населения и продолжает оставаться одной из наиболее актуальных проблем современности. Особую опасность для человека представляют соли ртути, свинца, кадмия, кобальта, меди, цинка, железа. В микродозах тяжелые металлы, входящие в состав биологических активных веществ, регулируют нормальные процессы жизнедеятельности, но в то же время, накапливаясь в значительных количествах, они способны вызвать структурные и функциональные нарушения в органах и тканях. В организме млекопитающих система крови – одна из самых чувствительных, так называемых «критических». Изменения в крови появляются уже при действии сравнительно малых доз токсических веществ [1] и зачастую являются единственным показателем возникающего заболевания или начала развития осложнений [2]. Сам факт влияния отдельных тяжелых металлов на систему крови описан в литературе [3, 4], однако сведения об ответных реакциях гемопоэтической ткани при сочетанной интоксикации противоречивы и недостаточны для четкого определения общих медико-экологических закономерностей токсического влияния природных соединений на организм. Изучение

патогенеза металлндуцированных анемий и поиск возможных путей их коррекции – актуальные задачи для медицинской науки Башкортостана, который занимает второе место в Уральском регионе по промышленному потенциалу и является крупнейшим индустриальным центром России. На территории Башкортостана находятся 5 активно разрабатываемых месторождений колчеданных руд, в состав которых входят свинец, селен, теллур, кадмий, никель, кобальт, мышьяк, ртуть, сурьма, таллий и барий.

В настоящем исследовании была использована экспериментальная модель хронической интоксикации природным комплексом солей тяжелых металлов, с которым постоянно контактируют работники одного из крупнейших предприятий горно-добывающей промышленности России, расположенного в Республике Башкортостан – Учалинского горно-обогатительного комбината. У людей, подвергающихся ежедневному воздействию медно-цинковой колчеданной руды, при скрининговых исследованиях нередко диагностируется анемия, центральные и периферические механизмы возникновения которой изучены недостаточно [5].

Особенностью настоящего исследования металлндуцированных анемий является изучение эритробластических островков (ЭО) – морфофункциональных клеточных образований, кото-

рые состоят из центрально-расположенных макрофагов, окруженных многослойной «коронай» развивающихся эритроидных клеток (от проэритробластов до ретикулоцитов) [6–8]. Количественный и качественный анализ состояния ЭО используется в экспериментальной гематологии для оценки последовательности волн амплификации и темпа созревания эритроидных клеток при стимуляции [9] или ингибировании эритропоэза [10], а также при оценке состояния эритропоэза при соматической экспериментальной патологии [11]. Детальная характеристика нарушений «островкового» эритропоэза при хронической интоксикации солями тяжелых металлов, содержащихся в медно-цинковой колчеданной руде, позволила описать механизмы повреждения эритрона с целью поиска мишени для их коррекции, что с учетом высокой вероятности возникновения заболеваний крови у работников горно-добывающей отрасли, ежедневно контактирующих с солями тяжелых металлов, даст возможность в дальнейшем включить полученные результаты в методику управления профессиональным риском у горнорабочих, направленную на сохранение их здоровья и работоспособности.

Цель исследования – изучить механизмы нарушений эритрона при длительной интоксикации крыс природным комплексом соединений тяжелых металлов, входящих в состав медно-цинковой колчеданной руды.

Материал и методы

Работа выполнена на 60 белых нелинейных крысах-самцах возраста 3–4 месяца весом $220,52 \pm 5,51$ г. Исследование проведено с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и рекомендациями о соблюдении биоэтических норм биоэтического совета ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России. Животные содержались в стандартных клетках ($n = 6$) в условиях свободного доступа к питью и еде при температуре воздуха в виварии $+24 \pm 2$ °C в соответствии с правилами СП 2.2.1.3218. Все болезненные манипуляции с животными и эвтаназию путем декапитации проводили под эфирным наркозом в отдельном от вивария помещении.

Образец исследуемой руды предоставлен ОАО «Учалинский горно-обогатительный комбинат» (г. Учалы, Республика Башкортостан). Его компонентный анализ выполнен на атомно-

абсорбционном (Shimadzu AA 6200, Япония) и рентгенофлуоресцентном (Shimadzu EDX 800, Япония) спектрометрах в Управлении государственного аналитического контроля Республики Башкортостан.

Для создания экспериментальной модели хронической интоксикации опытным группам животных (4 группы по 10 крыс в каждой) ежедневно за час до стандартного кормления перорально вводили водную суспензию порошка медно-цинковой колчеданной руды в хлебном мякише. Вводимую дозу руды для опытной группы крыс рассчитывали исходя из предельно допустимой концентрации свинца (0,2–0,5 мг/кг) и кадмия (0,02–0,1 мг/кг) в зерне и хлебе [12]. Дозу руды корректировали каждый раз после очередного взвешивания животного (через каждые 14–15 дней). В контрольные группы вошли крысы, получавшие хлебный мякиш без медно-цинковой колчеданной руды. Поскольку эксперимент был длительным, и показатели исследовались на протяжении 45 дней, для адекватного сравнения результатов были сформированы две контрольные группы животных, одну из которых вывели из эксперимента на 75-е сутки (контроль 1, $n = 10$), другую – на 105-е сутки (контроль 2, $n = 10$). Крыс опытных групп выводили из эксперимента на 75-е, 90-е, 105-е и 120-е сутки эксперимента.

Перед забоем из хвостовой вены забирали кровь, помещали ее в микропробирки с ЭДТА, а затем на ветеринарном полуавтоматическом гематологическом анализаторе Exigo 19 (Boule Diagnostics AB, Швеция) определяли количество эритроцитов и концентрацию гемоглобина. Кровь для подсчета ретикулоцитов окрашивали в пробирках готовым раствором бриллиантового крезолового синего (ЗАО «ЭКОлаб», Россия), количество клеток определяли с помощью комплекса автоматической микроскопии МЕКОС-Ц2 софт (Россия) на микроскопе AXIO Lab.A1 (Zeiss AG, Германия) при увеличении $\times 900$, используя масляную иммерсию. Результат выражали в абсолютных значениях ($10^9/\text{л}$) = ретикулоциты (%) $\times$ количество эритроцитов ($10^{12}/\text{л}$)/100 %. Содержание эритропоэтина в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа на микропланшетном фотометре Stat Fax 2100 (Awareness Technology, США) с помощью набора реагентов «Эритропоэтин-ИФА-БЕСТ» (ЗАО «Вектор-БЕСТ», Россия). Концентрацию сывороточного связанного железа измеряли колориметрическим феррозиновым методом на полуавтоматическом фотометре Stat Fax 1904+ с помощью набора реагентов «Железо-ФЗ-UTS» (ЗАО «Юнимед», Россия).

Ответную реакцию центрального звена эритрона оценивали по количественному и качественному составу ЭО костного мозга. Выделение ЭО из костного мозга и подсчет их абсолютного количества проводили методами, разработанными Ю.М. Захаровым и А.Г. Рассохиным [13]. У бедренных костей отсекали проксимальные и дистальные концы и выдували костный мозг с помощью шприца, наполненного 2 мл среды выделения, которая содержала 66 % среды RPMI-1640 («ПанЭко», Россия), 32 % сывороточного альбумина («ПанЭко») и 1 % гепарина (ООО «МиниМед», Россия). Полученную суспензию клеток фильтровали через капроновую ткань и получали клеточную взвесь, очищенную от волокон стромы и сосудов. Для подсчета абсолютного количества ЭО на часовом стекле смешивали 0,1 мл взвеси клеток костного мозга, 0,1 мл 0,1 % раствора нейтрального красного (ЗАО «Химреактивснаб», Россия) и 0,1 мл среды выделения. ЭО с окрашенными в красный цвет центральными макрофагами подсчитывали во всех клетках камеры Горяева при увеличении микроскопа $\times 200$. Абсолютное содержание ЭО в костном мозге одной бедренной кости рассчитывали по формуле: $A = (n \times 3 \times 2000) / (0,9 \times 2)$, где A – число ЭО в одной бедренной кости; n – число ЭО в 225 больших квадратах камеры Горяева; 3 – разведение исходной взвеси; 2000 – общий объем полученной взвеси клеток костного мозга (мм^3); 0,9 – объем камеры Горяева (мм^3); 2 – две бедренные кости. Далее костно-мозговую взвесь разливали по чашкам Петри и инкубировали 30 мин в термостате при температуре $+37^\circ\text{C}$, за это время макрофаги с «коронай» из эритроидных клеток и свободные костно-мозговые макрофаги адгезировались к пластику. После инкубирования ЭО с помощью пастеровской пипетки осторожно отмывали средой RPMI-1640 от не прилипших клеток. Чашки Петри центрифугировали 3 мин при 1000 об/мин в бакет-роторе (Eppendorf, Германия) для равномерного распределения клеток ЭО. Препараты фиксировали 2–3 мин по Май – Грюнвальду красителем-фиксатором «эозин – метиленовый синий» (ООО «МиниМед», Россия), отмывали фосфатным буфером с pH 6,7, а затем 8–10 мин окрашивали 1%-м красителем Гимза («ПанЭко»).

ЭО различных классов зрелости подсчитывали методом световой микроскопии при увеличении $\times 900$ с использованием масляной иммерсии. ЭО разделяли на пять классов зрелости по методике, предложенной Ю.М. Захаровым и А.Г. Рассохиным [13]. «Корона» ЭО 1-го класса представлена проэритробластами и базофильными эритробластами с числом клеток от 2 до 8, ЭО 2-го класса – базофильными и ранними по-

лихроматофильными эритробластами с числом клеток от 9 до 16. В «короне» ЭО 3-го класса зрелости содержались полихроматофильные эритробласты, оксифильные нормобласты и ретикулоциты с числом клеток от 17 до 32, в «короне» инволюцирующих островков (ЭОинв) – поздние полихроматофильные эритробласты, оксифильные нормобласты и ретикулоциты с числом ядро-содержащих клеток менее 16. К реконструирующимся островкам (ЭОрек) относили ЭОинв, имевшие в составе «короны» молодые эритроидные клетки (проэритробласты и/или базофильные эритробласты), т.е. формирование данных островков являлось результатом дифференцировки присоединившегося к макрофагу инволюцирующего островка колониеобразующей единицы эритроцитарной (КОЕ-Э). Кроме того, в этих же препаратах подсчитывали количество свободных отдельно лежащих макрофагов и количество ЭО, «корона» которых состояла только из ретикулоцитов. Для оценки эффективности костно-мозгового эритропоэза [13] рассчитывали: 1) показатель интенсивности вовлечения КОЕ-Э в эритропоэз ($\text{ЭО1} + \text{ЭОрек}$); 2) показатель созревания эритробластов ($(\text{ЭО3} + \text{ЭОинв}) / (\text{ЭО1} + \text{ЭО2} + \text{ЭОрек})$); 3) показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз ($\text{ЭОрек} / \text{ЭОинв}$).

Статистическую обработку полученных данных проводили в русифицированной лицензионной программе Statistica 10 (StatSoft, США). Для каждого показателя рассчитывали среднее значение (M) и стандартную ошибку среднего значения (m), результаты представлены в виде $M \pm m$. В качестве критерия оценки статистически значимых различий между контрольной и опытными группами животных использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

При длительном воздействии компонентов медно-цинковой колчеданной руды в периферической крови подопытных животных наблюдалась волнообразная динамика количества эритроцитов и гемоглобина (табл. 1). Число эритроцитов оказалось достоверно меньше контрольных значений на 90-е и 120-е сутки, содержание – на 90-е, 105-е и 120-е сутки. В то же время динамика ретикулоцитарного ответа эритрона у крыс, получавших медно-цинковую колчеданную руду, была более сложной: первый ретикулоцитарный «всплеск» наблюдался на 75-е сутки, второй – к 120-м суткам. Концентрация эритропоэтина в сыворотке крови животных опытной группы была ниже, чем у крыс контрольной группы, на 105-е

Таблица 1. Показатели периферического звена эритрона при хроническом введении медно-цинковой колчеданной руды**Table 1.** Indicators of peripheral sector of rat's erythron with chronic injection of copper-zinc pyrite ore

Срок наблюдения	Количество эритроцитов, $\times 10^{12}/л$	Содержание гемоглобина, г/л	Количество ретикулоцитов, $\times 10^9/л$	Содержание эритропоэтина в сыворотке, мМЕ/мл	Связанное железо, мкмоль/л
Контроль 1 ($n = 10$)	$7,21 \pm 0,22$	$140,67 \pm 1,56$	$1,42 \pm 0,12$	$2,78 \pm 0,32$	$46,01 \pm 3,11$
75-е сутки ($n = 10$)	$7,13 \pm 0,38$	$136,61 \pm 7,21$	$2,67 \pm 0,12^*$	$2,11 \pm 0,13$	$31,89 \pm 1,67^*$
90-е сутки ($n = 10$)	$6,56 \pm 0,18^*$	$133,56 \pm 2,45^*$	$1,56 \pm 0,21^{\#}$	$2,02 \pm 0,21$	$31,45 \pm 1,32^*$
Контроль 2 ($n = 10$)	$7,41 \pm 0,21$	$144,45 \pm 2,89$	$1,01 \pm 0,12$	$2,67 \pm 0,22$	$46,21 \pm 1,42$
105-е сутки ($n = 10$)	$6,56 \pm 0,31$	$134,01 \pm 2,21^*$	$1,89 \pm 0,21^*$	$1,56 \pm 0,21^*$	$31,01 \pm 1,89^*$
120-е сутки ($n = 10$)	$6,42 \pm 0,12^*$	$132,02 \pm 2,78^*$	$2,78 \pm 0,32^*$	$1,21 \pm 0,12^*$	$28,41 \pm 1,32^*$

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: показатели, зарегистрированные на 75-е и 90-е сутки, сравнивали с контрольной группой 1, зарегистрированные на 105-е и 120-е сутки – с контрольной группой 2; обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от соответствующих показателей: * – контрольной группы, # – предыдущего срока наблюдения.

Таблица 2. Общая характеристика эритропоэза в костном мозге при хроническом введении медно-цинковой колчеданной руды**Table 2.** The general characteristic of erythropoiesis in the bone marrow with chronic injection of copper-zinc pyrite ore

Срок наблюдения	Абсолютное количество ЭО, $\times 10^3$ на бедренную кость	Количество ЭО с ретикулоцитарной «коронай», $\times 10^3$ на бедренную кость	Количество свободных макрофагов, $\times 10^3$ на бедренную кость
Контроль 1 ($n = 10$)	$323,41 \pm 20,12$	$1,22 \pm 0,67$	$6,43 \pm 1,42$
75-е сутки ($n = 10$)	$437,01 \pm 30,12^*$	$48,31 \pm 10,67^*$	$54,01 \pm 7,02^*$
90-е сутки ($n = 10$)	$361,56 \pm 10,78^{\#}$	$19,81 \pm 1,63^{*,\#}$	$27,21 \pm 2,53^{*,\#}$
Контроль 2 ($n = 10$)	$368,01 \pm 6,12$	$2,21 \pm 0,89$	$6,67 \pm 0,78$
105-е сутки ($n = 10$)	$290,67 \pm 21,71^*$	$20,41 \pm 1,89^*$	$26,01 \pm 1,82^*$
120-е сутки ($n = 10$)	$254,78 \pm 22,01^*$	$11,51 \pm 1,92^{*,\#}$	$17,61 \pm 1,22^{*,\#}$

сутки, а содержание сывороточного железа – на протяжении всего эксперимента.

Изучение количественного и качественного состава ЭО костного мозга – клеточных ассоциаций, состоящих из центрально расположенного макрофага с «коронай» эритроидных клеток разной степени зрелости, позволило нам изучить особенности взаимодействия между клетками двух гемопоэтических линий и охарактеризовать результаты длительного токсического влияния медно-цинковой колчеданной руды на эритропоэз. Посредством морфологического анализа разных классов ЭО мы смогли косвенно оценить количество КОЕ-Э, вступивших в дифференцировку, охарактеризовали синхронность волн амплификации, а также скорость дифференцировки и созревания эритроидных клеток в ЭО.

На 75-е сутки воздействия введения медно-цинковой колчеданной руды в костном мозге животных наблюдалось увеличение абсолютного количества ЭО (табл. 2), что было связано с су-

щественным приростом в костном мозге числа островков, содержащих в своей «короне» только ретикулоцитарные клетки. На 90-е сутки общее количество ЭО не отличалось от контрольного значения, а на 105-е и 120-е сутки стало достоверно меньше, чем у контрольных животных. Число свободных макрофагов и ЭО с ретикулоцитарной «коронай» в эти сроки наблюдения по-прежнему превышало контрольные значения.

При морфологической классификации ЭО (табл. 3) установлено, что к 75-м суткам введения медно-цинковой колчеданной руды в костном мозге животных опытной группы встречались лишь единичные ЭО 1-го и 2-го классов зрелости, число ЭО 3-го класса зрелости не отличалось от контрольных значений, количество ЭОинв и ЭОрек было больше по сравнению с контролем. На 90-е сутки эксперимента среди ЭО костного мозга по-прежнему встречались лишь единичные ЭО 1-го и 2-го классов зрелости, количество ЭО3 и ЭОрек соответствовало показателям кон-

Таблица 3. Динамика количества ЭО различных классов зрелости ($\times 10^3$ на бедренную кость) при хроническом введении медно-цинковой колчеданной руды**Table 3.** Dynamics of the amount of EI of different classes of maturity ($\times 10^3$ /femur) with chronic injection of copper-zinc pyrite ore

Срок наблюдения	ЭО1	ЭО2	ЭО3	ЭОинв	ЭОрек
Контроль 1 ($n = 10$)	15,89 $\pm$ 2,11	23,67 $\pm$ 2,51	97,52 $\pm$ 6,21	143,12 $\pm$ 13,11	43,21 $\pm$ 3,67
75-е сутки ($n = 10$)	1,22 $\pm$ 0,78*	3,72 $\pm$ 2,31*	92,42 $\pm$ 6,11	276,78 $\pm$ 32,31*	63,01 $\pm$ 3,92*
90-е сутки ($n = 10$)	3,31 $\pm$ 0,92*	6,82 $\pm$ 1,91*	93,11 $\pm$ 4,12	212,31 $\pm$ 11,89*	46,23 $\pm$ 3,91 [#]
Контроль 2 ($n = 10$)	23,61 $\pm$ 1,89	33,11 $\pm$ 0,89	119,42 $\pm$ 5,21	132,41 $\pm$ 3,13	59,52 $\pm$ 3,31
105-е сутки ($n = 10$)	0,91 $\pm$ 0,56*	5,41 $\pm$ 1,11*	80,78 $\pm$ 7,22*	167,82 $\pm$ 6,23*	35,62 $\pm$ 2,56*
120-е сутки ($n = 10$)	4,01 $\pm$ 1,02* ^{#,}	12,11 $\pm$ 2,11* ^{#,}	72,21 $\pm$ 6,51*	126,01 $\pm$ 12,12 [#]	40,52 $\pm$ 3,53*

Таблица 4. Показатели, характеризующие активность эритропоэза в костном мозге, при хроническом введении медно-цинковой колчеданной руды**Table 4.** Indicators of the activity of erythropoiesis in the bone marrow, with chronic injection of copper-zinc pyrite ore

Срок наблюдения	Показатель интенсивности вовлечения КОЕ-Э в эритропоэз, $\times 10^3$ на бедренную кость)	Показатель созревания эритробластов, отн. ед.	Показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз, отн. ед.
Контроль 1 ($n = 10$)	59,11 $\pm$ 5,42	3,01 $\pm$ 0,32	0,32 $\pm$ 0,01
75-е сутки ($n = 10$)	64,21 $\pm$ 3,33	5,52 $\pm$ 0,43*	0,2 $\pm$ 0,01*
90-е сутки ($n = 10$)	49,42 $\pm$ 4,61	5,89 $\pm$ 0,56*	0,2 $\pm$ 0,01*
Контроль 2 ($n = 10$)	83,12 $\pm$ 2,61	2,21 $\pm$ 0,13	0,5 $\pm$ 0,03
105-е сутки ($n = 10$)	36,56 $\pm$ 2,78*	5,89 $\pm$ 0,31*	0,2 $\pm$ 0,01*
120-е сутки ($n = 10$)	44,56 $\pm$ 3,42*	3,51 $\pm$ 0,21* ^{#,}	0,3 $\pm$ 0,01* ^{#,}

трольной группы, число ЭОинв превышало контрольные значения. Аналогичный качественный состав ЭО был зарегистрирован и на 105-е сутки. К 120-м суткам количество ЭО1 и ЭО2 увеличилось по сравнению с предыдущим этапом, но не достигло контрольного уровня, количество ЭОинв приблизилось к контрольным значениям, в остальном динамика эритропоэза в ЭО осталась прежней.

Углубленный анализ состояния эритропоэза в группах животных, получавших медно-цинковую колчеданную руду, выявил ряд изменений функциональных показателей (табл. 4): показатель интенсивности вовлечения КОЕ-Э в эритропоэз уменьшился к 105-м суткам, показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз был достоверно меньше, а показатель созревания эритробластов – достоверно больше контрольных значений на протяжении всего эксперимента.

Обсуждение результатов

В ранее проведенном исследовании нами получены данные о том, что на протяжении 60 дней непрерывной интоксикации животных компонентами медно-цинковой колчеданной руды первич-

ное присоединение КОЕ-Э к свободным костно-мозговым макрофагам (эритропоэз *de novo*) полностью прекратилось [14, 15]. В настоящем исследовании, в ходе которого интоксикация солями тяжелых металлов продолжалась в течение четырех месяцев, установлено, что нарушения процесса образования красных клеток крови в организме при воздействии компонентов медно-цинковой колчеданной руды являются очень глубокими, поскольку и по прошествии 120 дней функциональная активность центрального звена эритрона характеризовалась отсутствием адаптации к повреждающему фактору. В костном мозге животных опытной группы отмечался значительный рост числа свободных (резидентных) макрофагов (см. табл. 2), а новые ЭО могли формироваться только на основе костно-мозговых макрофагов, уже имеющих эритроидную «корону» (ЭОрек). Поскольку в костном мозге в должном объеме не происходило образования новых молодых ЭО, то по мере нарастания интоксикации уменьшалось количество созревающих островков (ЭО 2-го и 3-го классов), и в целом в гемопоэтической ткани преобладали процессы инволюции, о чем свидетельствовало большое количество ЭОинв (см. табл. 3).

Мы полагаем, что нарушения в центральном звене эритрона при хронической интоксикации организма компонентами медно-цинковой колчеданной руды возникли при реализации нескольких патофизиологических механизмов. Изменения, обнаруженные нами в количественном и качественном составе ЭО, несомненно, связаны с дисфункцией костно-мозговых макрофагов, вокруг которых должна образовываться эритроидная «корона». Явное торможение процесса формирования ЭО *de novo* могло развиваться вследствие снижения способности макрофагов к миграции в гемопозитической ткани. Тяжелые металлы, в частности кобальт, подавляют эту функцию путем активации в макрофагальных клетках матриксной металлопротеиназы-9 [16], а мышьяк тормозит экспрессию генов макрофагальных хемокинов MMP9, MMP12, CCL22, SPON2 и CXCL2 [17]. Кроме того, тяжелые металлы вызывают в макрофагах усиление продукции тормозящего эритропоэз цитокина – фактора некроза опухоли альфа [18]. Негативное влияние тяжелых металлов могло отразиться и на фагоцитарной функции макрофагов, необходимой для завершения созревания эритроидных клеток – поглощения ядер, вытолкнутых оксифильными эритроблестами. Показано, что, например, мышьяк начинает угнетать фагоцитарную способность макрофагов уже через 18 ч после воздействия [19]. Накопление в костном мозге ЭОинв, «корона» которых преимущественно состоит из оксифильных эритроблестов (см. табл. 3), и увеличение показателя созревания эритроблестов (см. табл. 4) свидетельствуют о том, что задержка созревания эритроидных клеток происходила именно на этапе «оксифильный эритроблест – ретикулоцит» и, скорее всего, была вызвана угнетением фагоцитарной способности макрофагов ЭО.

Нарушение межклеточных взаимодействий в эритроидной ткани костного мозга, развивающееся под влиянием компонентов медно-цинковой колчеданной руды, могло быть связано и с изменением функционального состояния костно-мозговых лимфоидных клеток, которые, как известно, также входят в состав ЭО и активно регулируют «островковый» эритропоэз [20, 21]. Соли тяжелых металлов в высоких концентрациях (120-е сутки) снижают жизнеспособность этих клеток, нарушают целостность мембран, повышают в них продукцию активных форм кислорода, подавляют пролиферацию и способность к миграции [22, 23].

Еще одной причиной неэффективного функционирования центрального звена эритрона явилось снижение продукции почечного эритропо-

этина у животных, подвергшихся воздействию медно-цинковой колчеданной руды (см. табл. 1). Показано, что такие тяжелые металлы, как кадмий и кобальт, даже в условиях гипоксии подавляют экспрессию мРНК эритропоэтина и продукцию самого гормона путем угнетения активности транскрипционного фактора HIF-1 [24].

В ходе работы нами также установлено, что хроническая интоксикация компонентами медно-цинковой колчеданной руды сопровождается нарушением обмена железа в организме животных. Достоверное снижение количества сывороточного железа, регистрируемое на протяжении всего эксперимента, вероятно, связано с усиленной продукцией железосодержащих детоксикационных ферментов в печени, за счет чего сывороточное железо потреблялось гепатоцитами активнее, чем в норме, а также с уменьшением всасывания его в тонком кишечнике вследствие конкурентной повышенной абсорбции меди и цинка.

Периферическое звено эритрона при длительной интоксикации медно-цинковой колчеданной рудой характеризовалось качественной неполноценностью вновь образованных клеток красной крови, поскольку на фоне активной ретикулоцитарной реакции костного мозга количество эритроцитов и гемоглобина в крови было снижено. Ранее нами показано, что уже на 10-е сутки введения медно-цинковой колчеданной руды снижается осмотическая устойчивость эритроцитов при одновременном увеличении их объема, что свидетельствует об инициированном компонентами руды нарушении трансмембранного переноса воды, которое вызывало гемолиз эритроцитов. При анализе кислотной резистентности эритроцитов в том же эксперименте получены данные об уменьшении общего времени гемолиза и значительном снижении доли высокоустойчивых к действию кислотного гемолитика эритроцитов у крыс, получавших медно-цинковую колчеданную руду [25].

Таким образом, в исследуемые нами сроки ответной реакции эритрона на хроническое воздействие солей тяжелых металлов, содержащихся в медно-цинковой колчеданной руде, в течение 75–90 суток изменения в периферическом звене могли быть компенсированы центральными механизмами эритропоэза. После 105-х суток из-за значительного снижения продукции эритропоэтина в почках произошло уменьшение количества ЭО в костном мозге как вследствие снижения интенсивности вовлечения КОЕ-Э в эритропоэз, так и, вероятно, в связи с развивающимся эритроцитозом, определяющим преждевременную гибель эритроцитов [26].

Заключение

Хроническая интоксикация компонентами медно-цинковой колчеданной руды вызывает дисфункцию красного ростка кроветворения, проявляющуюся в подавлении процесса новообразования ЭО в костном мозге и торможении созревания эритроидных клеток на этапе «оксифильные эритробласты – ретикулоциты». Длительное токсическое действие солей тяжелых металлов, содержащихся в руде, приводит к нарушению синтеза эритропоэтина в почках и снижению количества сывороточного железа у экспериментальных животных.

Список литературы / References

1. Островская С.С., Шаторная В.Ф., Бельская Ю.А. Влияния тяжелых металлов и радиации на кроветворение у крыс. *Світ мед. та біол.* 2014; 47 (4): 177–179.
2. Ostrovskaya S.S., Shatornaya V.F., Belskaya Yu.A. Effects of heavy metals and radiation on rat's hemotosis. *Svit meditsini ta biologii = World of Medicine and Biology.* 2014; 47 (4): 177–179. [In Russian].
3. Рыспекова Н.Н., Нурмухамбетов А.Н., Аскарова А.Е., Аканов А.А. Роль тяжелых металлов в развитии анемий (обзор литературы). *Вестн. КазНМУ.* 2013; (3-2): 46–51.
4. Ryspekova N.N., Nurmukhambetov A.N., Askarova A.E., Akanov A.A. Role of heavy metals in anemia (Review). *Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of the Kazakh National Medical University.* 2013; 3 (2): 46–51. [In Russian].
5. Medina S., Xu H., Wang S.C., Lauer F.T., Liu K.J., Burchiel S.W. Low level arsenite exposures suppress the development of bone marrow erythroid progenitors and result in anemia in adult male mice. *Toxicol. Lett.* 2017; 273: 106–111. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.03.021
6. Zhang Y., Wang S., Chen C., Wu X., Zhang Q., Jiang F. Arsenic primes human bone marrow CD34+ cells for erythroid differentiation. *Bioinorg. Chem. Appl.* 2015; 2015: 751013. doi: 10.1155/2015/751013
7. Бакиров А.Б., Сулейманов Р.А., Валеев Т.К. Опыт оценки риска здоровью населения горнорудных территорий, обусловленного водным фактором. *Мед. труда и экол. человека.* 2016; 2: 5–13.
8. Bakirov A.B., Suleimanov R.A., Valeyev T.K. Experience of assessing water-related health risks to the population of the surrounding areas of mining. *Medit-sina truda i ekologiya cheloveka = Occupational Medicine and Human Ecology.* 2016; 2: 5–13. [In Russian].
9. Тишевская Н.В., Шевяков С.А., Захаров Ю.М. Влияние эритропоэтина и макрофагального колониестимулирующего фактора на пролиферативную активность эритроидных клеток в культурах эритробластических островков. *Мед. акад. журн.* 2003; 3 (3): 67–72.
10. Tishevskaya N.V., Shevyakov S.A., Zakharov Yu.M. The effect of erythropoietin and macrophage colony stimulating factor on the proliferative activity of erythroid cells in cultures of erythroblastic islets. *Medit-sinskiy akademicheskii zhurnal = Medical Academic Journal.* 2003; 3 (3): 67–72. [In Russian].
11. Yeo J.H., Cosgriff M.P., Fraser S.T. Analyzing the formation, morphology, and integrity of erythroblastic islands. *Methods Mol. Biol.* 2018; 1698: 133–152. doi: 10.1007/978-1-4939-7428-3_8
12. Hom J., Dulmovits B.M., Mohandas N., Blanc L. The erythroblastic island as an emerging paradigm in the anemia of inflammation. *Immunol. Res.* 2015; 63 (1-3): 75–89. doi: 10.1007/s12026-015-8697-2
13. Захаров Ю.М., Тишевская Н.В., Шевяков С.А. Влияние гуморальных факторов на фагоцитарную активность центральных макрофагов в культуре эритробластических островков. *Рос. физиол. журн.* 2002; 88 (9): 1191–1198.
14. Zakharov Yu.M., Tishevskaya N.V., Shevyakov S.A. The effect of humoral factors on phagocytic activity of central macrophages in the erythroblast islet culture. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal imeni Ivana Mikhaylovicha Sechenova = Russian Journal of Physiology.* 2002; 88 (9): 1191–1198. [In Russian].
15. Tishevskaya N.V., Zakharov Yu.M., Golubotovskii E.V., Kolesnikov O.L., Trofimova N.V., Arkhipenko Yu.V., Sazontova T.G. Effects of fullereneol C₆₀(OH)₂₄ on erythropoiesis *in vitro*. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2014; 157 (1): 49–51. doi: 10.1007/s10517-014-2489-x
16. Волчегорский И.А., Тишевская Н.В., Деметьева Е.В. Антианемическое действие реамберина в остром периоде аллоксанового диабета у крыс. *Эксперим. и клин. фармакология.* 2008; 71 (6): 23–27. doi: 10.30906/0869-2092-2008-71-6-23-27
17. Volchegorskii I.A., Tishevskaya N.V., Dement'eva E.V. Antianemic effect of reamberin in rats with acute alloxan-induced diabetes. *Ekspieriment'naya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology.* 2008; 71 (6): 23–27. [In Russian]. doi: 10.30906/0869-2092-2008-71-6-23-27
18. Сульдина Т.И. Содержание тяжелых металлов в продуктах питания и их влияние на организм. *Рац. питание, пищ. добавки и биостимуляторы.* 2016; 1: 136–140.
19. Suldina T.I. The content of heavy metals in food and their effects on the body. *Ratsional'noye pitaniye, pishchevyye dobavki i biostimulyatory = Rational Nutrition, Nutritional Supplements and Biostimulants.* 2016; 1: 136–140. [In Russian].
20. Захаров Ю.М., Рассохин А.Г. Эритробластический островок. М.: Медицина, 2002. 280 с.
21. Zakharov Yu.M., Rassokhin A.G. Erythroblastic Island. Moscow: Meditsina, 2002. 280 p. [In Russian].

14. Зиякаева К.Р., Каюмова А.Ф. Состояние эритронов у крыс при интоксикации медно-цинковой колчеданной рудой. *Рос. физиол. журн.* 2019; 105 (6): 780–789. doi: 10.1134/S0869813919 0 60128
- Ziyakaeva K.R., Kayumova A.F. Copper-Zinc pyrite ore intoxication affects erythron of rats. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni Ivana Mikhaylovicha Sechenova = Russian Journal of Physiology.* 2019; 105 (6): 780–789. [In Russian]. doi: 10.1134/S0869813919 0 60128
15. Ziyakaeva K.R., Kayumova A.F. Changes in erythron of experimental rats under influence of pyrite ore. «Agritech-II-2019: Agribusiness, environmental engineering and biotechnologies»: coll. thes. rep. 2nd international scientific conf., Krasnoyarsk, November 13–14, 2019. Krasnoyarsk; 2020. 052026. doi:10.1088/1755-1315/421/5/052026
16. Xu J., Yang J., Nyga A., Ehteramy M., Moraga A., Wu Y., Zeng L., Knight M.M., Shelton J.C. Cobalt (II) ions and nanoparticles induce macrophage retention by ROS-mediated down-regulation of RhoA expression. *Acta Biomater.* 2018; 72: 434–446. doi: 10.1016/j.actbio.2018.03.054
17. Bourdonnay E., Morzadec C., Sparfel L., Galibert M.D., Jouneau S., Martin-Chouly C., Fardel O., Vernhet L. Global effects of inorganic arsenic on gene expression profile in human macrophages. *Mol. Immunol.* 2009; 46 (4): 649–656. doi: 10.1016/j.molimm.2008.08.268
18. Gardner R.M., Nyland J.F., Evans S.L., Wang S.B., Doyle K.M., Crainiceanu C.M., Silbergeld E.K. Mercury induces an unopposed inflammatory response in human peripheral blood mononuclear cells *in vitro*. *Environmental Health Perspectives.* 2009; 117 (12): 1932–1938. doi: 10.1289/ehp.0900855
19. Xu H., Wang X., Wang W. Functional suppression of macrophages derived from THP-1 cells by environmentally-relevant concentrations of arsenite. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2018; 214: 36–42. doi: 10.1016/j.cbpc.2018.08.010
20. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Современный взгляд на роль Т-лимфоцитов в регуляции эритропоэза. *Успехи соврем. биологии.* 2016; 136 (1): 83–96.
- Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. A modern view of the role of T-lymphocytes in regulation of erythropoiesis. *Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews.* 2016; 136 (1): 83–96. [In Russian].
21. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Роль Т-лимфоцитов в гормональной регуляции морфогенетических процессов. *Успехи соврем. биологии.* 2015; 135 (2): 189–202.
- Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. The role of T-lymphocytes in hormonal regulation of morphogenetic processes. *Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews.* 2015; 135 (2): 189–202. [In Russian].
22. Kim S.H., Sharma R.P. Cytotoxicity of inorganic mercury in murine T and B lymphoma cell lines: involvement of reactive oxygen species, Ca(2+) homeostasis, and cytokine gene expression. *Toxicol. In Vitro.* 2003; 17 (4): 385–395. doi: 10.1016/S0887-2333(03)00040-7
23. Baskey S.J., Lehoux E.A., Catelas I. Effects of cobalt and chromium ions on lymphocyte migration. *J. Orthop. Res.* 2017; 35 (4): 916–924. doi: 10.1002/jor.23336
24. Horiguchi H., Kayama F., Oguma E., Willmore W.G., Hradecky P., Bunn H.F. Cadmium and platinum suppression of erythropoietin production in cell culture: clinical implications. *Blood.* 2000; 96 (12): 3743–3747.
25. Зиякаева К.Р., Габдулхакова И.Р., Зайнетдинова А.Т., Муллаянова А.Н., Шамратова В.Г., Каюмова А.Ф. Влияние медно-цинковой колчеданной руды на некоторые гематологические показатели крови и кислотно-резистентность эритроцитов в эксперименте. *Соврем. пробл. науки и образования.* 2018; 3: 28.
- Ziyakaeva K.R., Gabdulhakova I.R., Zainetdinova A.T., Mullayanova A.N., Shamratova V.G., Kayumova A. F. The influence of copper-zinc pyrite ore on some haematological indices and acid resistance of erythrocytes in experiment. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education.* 2018; 3: 28. [In Russian].
26. Чумакова С.П., Уразова О.И., Зима А.П., Новицкий В.В. Особенности физиологии эритроцитов. Гемолиз и эриптоз. *Гематология и трансфузиология.* 2018; 63 (4): 343–351. doi: 10.25837/HAT.2019.51.80.003
- Chumakova S.P., Urazova O.I., Zima A.P., Novitskiy V.V. Features of the physiology of erythrocytes. Hemolysis and eryptosis. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology.* 20182018; 63 (4): 343–351. [In Russian]. doi: 10.25837/HAT.2019.51.80.003

Сведения об авторах:

Клара Рашитовна Зиякаева, ORCID: 0000-0002-8413-5484, e-mail: klazia@yandex.ru

Алия Фаритовна Каюмова, д.м.н., проф., e-mail: annikachka@live.ru

Information about the authors:

Klara R. Ziyakaeva, ORCID: 0000-0002-8413-5484, e-mail: klazia@yandex.ru

Aliya F. Kayumova, doctor of medical sciences, professor, e-mail: annikachka@live.ru

Поступила в редакцию 09.06.2020

После доработки 09.10.2020

Принята к публикации 26.10.2020

Received 09.06.2020

Revision received 09.10.2020

Accepted 26.10.2020

Некоторые морфологические факторы резистентности бронхиальной стенки к развитию хронической обструктивной болезни легких при курении

Е.А. Геренг, И.В. Суходоло, Р.И. Плешко, Е.Б. Букреева, А.А. Буланова, И.С. Кремис, Т.С. Ключина

*Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России
634050, г. Томск, Московский тракт, 2*

Резюме

Согласно современным эпидемиологическим исследованиям, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) развивается только у 15–20 % курильщиков. Это позволяет предположить, что воздействие табачного дыма является лишь триггером патологического процесса, а ключевая роль в развитии заболевания принадлежит другим патофизиологическим факторам. Цель исследования – морфологический анализ особенностей слизистой оболочки бронхов у курильщиков с ХОБЛ и без нее. **Материал и методы.** Проведен морфологический и электронно-микроскопический анализ биоптатов слизистой оболочки бронхов курящих пациентов с ХОБЛ ($n = 40$) и без нее ($n = 30$). В исследовании принимали участие мужчины (80,2 %) и женщины в возрасте от 42 до 67 лет ($62,3 \pm 2,24$ года) со стажем курения более 20 лет и интенсивностью курения 20–45 пачка-лет. В основной группе – верифицированный диагноз ХОБЛ. У всех пациентов выполняли морфологический, морфометрический анализ с подсчетом объемных плотностей разных видов эпителиоцитов и структур собственной пластинки слизистой оболочки бронхов, а также плотности воспалительного инфильтрата и различных клеточных популяций, иммуногистохимический (типирование CD4- и CD8-позитивных лимфоцитов, экспрессия рецепторов к трансформирующему фактору роста β_1) и электронно-микроскопический анализ бронхиоптатов. **Результаты и их обсуждение.** У курильщиков без ХОБЛ наблюдается развитие экссудативного воспаления, которое не нарушает структурной архитектоники эпителиального пласта, но вызывает активацию белок-синтетических и энергетических процессов в эпителиальных клетках бронхиальной стенки. При длительном воздействии табачного дыма, ассоциированном с развитием ХОБЛ, в слизистой оболочке бронхов формируется хроническое нейтрофильное воспаление, приводящее к нарушению функциональной морфологии сосудов и эпителиальных клеток слизистой оболочки бронхов с последующим ремоделированием бронхиальной стенки.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, бронхиоптаты, сосудистое, эпителиальное ремоделирование бронхов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Геренг Е.А., e-mail: e-gereng@mail.ru

Для цитирования: Геренг Е.А., Суходоло И.В., Плешко Р.И., Букреева Е.Б., Буланова А.А., Кремис И.С., Ключина Т.С. Некоторые морфологические факторы резистентности бронхиальной стенки к развитию хронической обструктивной болезни легких при курении. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (6): 80–88. doi: 10.15372/SSMJ20200608

Some morphological factors of resistance of the bronchial wall to the development of chronic obstructive lung disease in smoking individuals

E.A. Gereng, I.V. Suhodolo, R.I. Pleshko, E.B. Bukreeva, A.A. Bulanov, I.S. Kremis, T.S. Klyushina

*Siberian State Medical University of Minzdrav of Russia
634050, Tomsk, Moskovsky path, 2*

Abstract

According to current epidemiological studies, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) develops in only 15–20 % of smokers. This suggests that exposure to tobacco smoke is just a trigger of the pathological process, and other pathophysiological factors play a key role in the development of COPD. The aim of the study was to perform morphological analysis of bronchial mucosa features in smokers with and without chronic obstructive pulmonary disease. **Material and research methods.** Morphological and electron-microscopic analysis of biopsy samples of the bronchial mucosa of smoking patients with ($n = 40$) and without ($n = 30$) chronic obstructive pulmonary disease was carried out. The study involved men (80.2 % of men) and women aged 42 to 67 years (62.3 ± 2.24 years) with smoking experience of more than 20 years and smoking intensity of 20–45 pack-years. In the main group was a verified diagnosis of COPD. All patients of the studied groups underwent morphological, morphometric counting of bulk densities of various types of epithelial cells and structures of their lamina propria of the bronchial mucosa, as well as the density of inflammatory infiltrate and various cell populations, immunohistochemical (typing of CD4- and CD8-positive lymphocytes, expression of transforming growth factor $\beta 1$ receptors) and electron microscopic analysis of bronchobiopsates. **Results and discussion.** Smokers without chronic obstructive pulmonary disease develop exudative inflammation, which does not violate the structural architectonics of the epithelial layer, but causes activation of protein-synthetic and energy processes in the epithelial cells of the bronchial wall. With prolonged exposure to tobacco smoke associated with the development of chronic obstructive pulmonary disease, chronic neutrophilic inflammation forms in the bronchial mucosa, leading to a violation of the functional morphology of the vessels and epithelial cells of the bronchial mucosa, followed by remodeling of the bronchial wall.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, bronchial biopsy, bronchial vascular remodeling.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Gereng E.A., e-mail: e-gereng@mail.ru

Citation: Gereng E.A., Suhodolo I.V., Pleshko R.I., Bukreeva E.B., Bulanova A.A., Kremis I.S., Klyushina T.S. Some morphological factors of resistance of the bronchial wall to the development of chronic obstructive lung disease in smoking individuals. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 41 (6): 80–88. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200608

Введение

В связи с возросшей распространенностью и смертностью от хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) ВОЗ учредила Глобальную стратегию диагностики, лечения и профилактики этого заболевания (GOLD) [1]. Современные эпидемиологические исследования указывают на то, что ХОБЛ развивается только у 15–20 % курильщиков [2, 3]. Эти данные позволяют предположить, что воздействие табачного дыма является лишь триггером патологического процесса, а ключевая роль в развитии заболевания принадлежит другим патофизиологическим факторам.

Целью настоящего исследования явился морфологический анализ особенностей слизистой оболочки бронхов (СОБ) у курильщиков с ХОБЛ и без нее.

Материал и методы

Проведено одномоментное морфофункциональное исследование 70 курящих лиц, мужчин (80,2 %) и женщин в возрасте от 42 до 67 лет ($62,3 \pm 2,24$ года) со стажем курения более 20 лет и интенсивностью курения 20–45 пачка-лет. Об-

следованные были разделены на две группы: в группу сравнения вошли 30 курящих человек без ХОБЛ, в основную ($n = 40$) – курильщики с верифицированным диагнозом ХОБЛ. Проведение исследования одобрено локальным комитетом по этике ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, протокол № 2833/1 от 31.11.2014.

Бронхоскопическое исследование у всех пациентов производилось для уточнения диагноза, а также для исключения сопутствующих болезней легких. Состояние бронхиальной стенки визуализировали с использованием фибро-бронхоскопа BF-P20D (Olimpus, Япония), затем методом щипковой биопсии забирали материал (3–4 фрагмента) со слизистой оболочки правого среднедолевого бронха. Первый бронхиопат использовали для гистологического исследования, которое реализовывалось по стандартной методике с окраской гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, а также для иммуногистохимического исследования. Вторая часть бронхиопатов предназначалась для проведения электронно-микроскопического анализа. При морфологическом исследовании биоптатов СОБ констатировали следующие патологические аль-

терапии: воспаление, нарушение процессов регенерации (метаплазия бронхиального эпителия в многослойный плоский, базально-клеточная пролиферация и гиперплазия бокаловидных клеток), фиброзные изменения [2, 4].

Морфологическое исследование СОБ выполняли с использованием компьютерной программы ImageJ 1.80 (режим доступа <http://www.rsb.info.nih.gov/ij/>) с подсчетом объемных плотностей ($\text{мкм}^3/\text{мкм}^3$) различных видов эпителиоцитов и структур собственной пластинки СОБ. В 1 мм^2 СОБ подсчитывали плотность воспалительного инфильтрата и различных клеточных популяций. При иммуногистохимическом исследовании в 1 мм^2 СОБ производили типирование CD4- и CD8-позитивных лимфоцитов (набор LSAB2 System-HRP, Agilent Technologies (Dako), США), а также на эпителиоцитах бронхов и клетках воспалительного инфильтрата оценивали экспрессию рецепторов к трансформирующему фактору роста β_1 (TGF- β_1) (Novocastra, ФРГ).

Электронно-микроскопическое исследование выполняли на полутонких и ультратонких срезах, которые готовили на ультратоме LKB III (Швеция) с последующим просмотром в электронном микроскопе JEM-100 CXII (JEOL, Япония). На электронных микрофотографиях эпителиальных клеток бронхиальной стенки подсчитывали удельный объем ($\text{мкм}^3/\text{мкм}^3$) митохондрий, эндоплазматического ретикула, лизосом.

Данные представляли в виде медианы и межквартильных интервалов ($\text{Me} (Q_1-Q_3)$), для оценки различий между группами использовали критерий Манна – Уитни, критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты

При бронхоскопическом исследовании у всех курильщиков без ХОБЛ в слизистой оболочке бронхиального дерева регистрировался катаральный эндобронхит, в то время как у пациентов с ХОБЛ эндоскопическая картина СОБ соответствовала фиброзу (73,4 %) или атрофическому (26,6 %) бронхиту.

В эпителиоцитах бронхиальной стенки у курильщиков, не страдающих ХОБЛ, идентифицировались одиночные клеточные субпопуляции, в которых визуализировались дистрофические изменения и в ядре, и в цитоплазме, а также увеличенные в объеме бокаловидные эпителиоциты. В собственной пластинке СОБ бронхиальные железы расширены, с морфологическими признаками гиперсекреции и застоя слизи в мукоцитах. В этой группе пациентов микроциркуляторное русло бронхиальной стенки отличалось полнокровием, нередко стазом, в интерстиции определялся отек с единичными полиморфно-ядерными лейкоцитами (рис. 1, а, б).

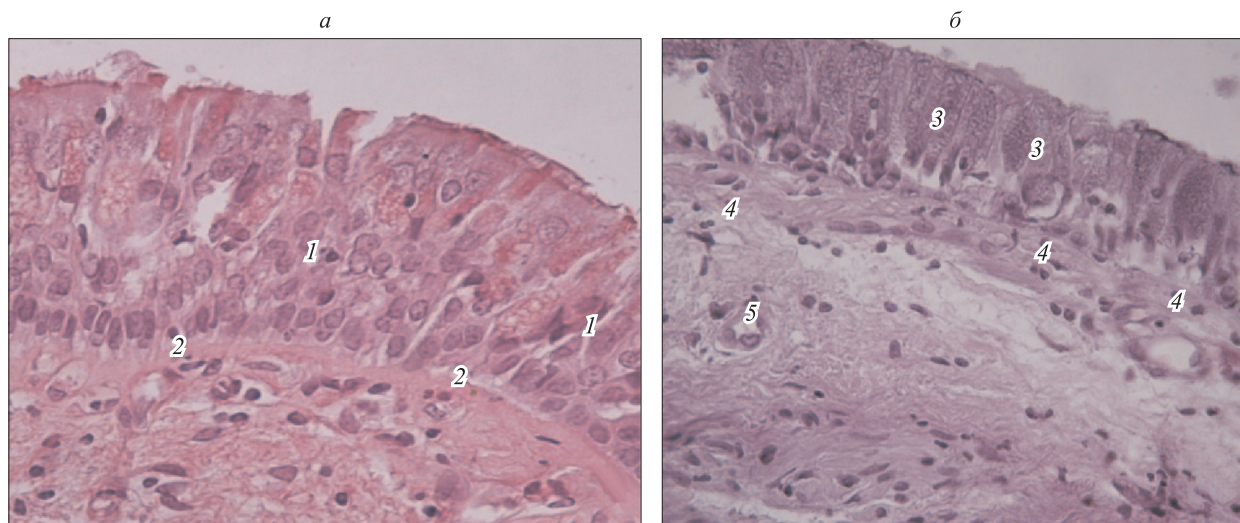


Рис. 1. Бронхиобиоптат курящего пациента без ХОБЛ. а – внутриэпителиальный (1), субэпителиальный (2) отеки; б – реснитчатые эпителиоциты с признаками дистрофии (3), гипертрофия бокаловидных экзокриноцитов (4), полиморфно-клеточная инфильтрация собственной пластинки СОБ (5). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 650$

Fig. 1. The mucous membrane of the bronchi of the smoker without clinical signs of chronic obstructive pulmonary disease. Interepithelial (1), subepithelial (2) edema (a); ciliated epithelial cells with signs of dystrophy (3), hypertrophy of goblet epithelial cells (4), polymorphous cell infiltration of the lamina propria of the bronchial mucosa (5) (b). Hematoxylin and eosin staining; $\times 650$

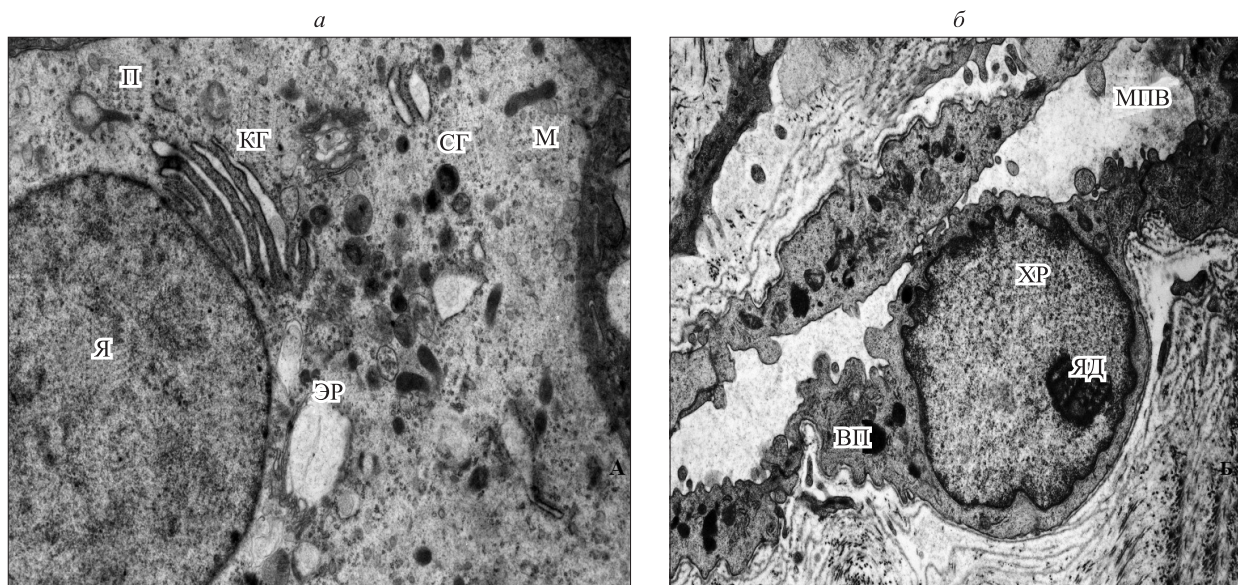


Рис. 2. Бронхиобиптат курящего пациента без ХОБЛ. а – участок реснитчатой клетки: расширение цистерн шероховатой эндоплазматической сети (ЭР), диктиосом пластинчатого комплекса Гольджи (КТ) с множественными гетерогенными осмиофильными гранулами (СГ), скопление рибосом и полисом (П); М – митохондрии, Я – ядро. б – участок кровеносного сосуда: МПВ – микропиноцитозные везикулы, ВП – гранулы Вейбеля – Паладе, ХР – хроматин, ЯД – ядрышко. Ув. $\times 14000$

Fig. 2. The mucous membrane of the bronchi of the smoker without clinical signs of chronic obstructive pulmonary disease. Fragment of ciliated epithelial cell (a): expansion of cisterns of the granular endoplasmic reticulum (ЭР), dictyosomes of the Golgi lamellar complex (КТ) with a multitude of osmiophil secretory granules (СГ), accumulation of polyosomes (П); М – mitochondria, Я – nucleus. Fragment of the blood capillary (б): МПВ – micropinocytosis vesicles, ВП – Weibel – Palade bodies; $\times 14000$

Ультраструктурное исследование СОБ у курильщиков без клинических признаков ХОБЛ показало нарушение внутренней архитектоники реснитчатых эпителиоцитов. Визуализировались клетки с микроворсинками на апикальной поверхности, а также с высокой электронной плотностью цитоплазмы, в которой определялись увеличенные в объеме цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума с множественными рибосомами и полисомами. Диктиосомы аппарата Гольджи в этих бронхиальных эпителиоцитах гиперплазированы (рис. 2, а). У этой группы пациентов микроциркуляторное русло СОБ образовано «открытыми» капиллярами, отличающимися широким просветом с многочисленными вакуолями, которые формируются по типу «отрыва» люминальной поверхности. Эти типы капилляров выстланы типичными и «светлыми» эндотелиоцитами, на люминальной поверхности последних идентифицировались множественные мелкие пиноцитозные инвагинации, а также полиморфные микропиноцитозные везикулы, цитоплазма отличалась признаками внутриклеточного отека (рис. 2, б).

Курение, приводящее к развитию ХОБЛ, сопровождалось нарушением структуры эпители-

ального пласта, проявляющимся уменьшением размеров реснитчатых клеток, снижением количества бокаловидных эпителиоцитов (соотношение к числу реснитчатых клеток – 1 : 6, 1 : 7) и плоскоклеточной метаплазией, что в 23,6 % случаев сочеталось с умеренным, а в 76,4 % – с выраженным разрастанием соединительной ткани и утолщением базальной мембраны (рис. 3). Увеличение объемной плотности и высоты эпителиального пласта у этой группы пациентов происходило преимущественно за счет базальных эпителиоцитов (таблица). По сравнению с курильщиками без ХОБЛ, в строме СОБ у них также наблюдалось уменьшение удельного объема капилляров с преобладанием сосудов с морфологическими признаками стаза, сладжа и тромбоза (см. рис. 3, а, таблицу).

Ультраструктурное исследование эпителиальных клеток СОБ показало, что при длительном воздействии табачного дыма, которое приводит к развитию ХОБЛ, в бронхиальных эпителиоцитах наблюдаются утрата ресничек, снижение осмиофилии и просветление цитоплазматического матрикса, расширение цистерн и умеренная вакуолизация шероховатой эндоплазматической сети (рис. 4). Энергетический аппарат в эпите-

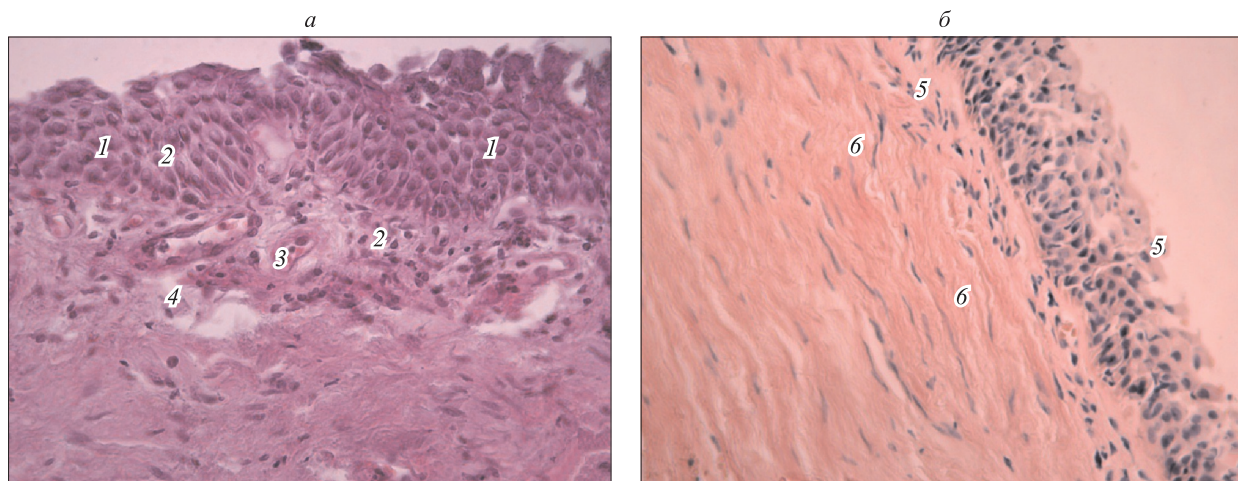


Рис. 3. Бронхиобиптат курильщика с ХОБЛ. а – метаплазия бронхиального эпителия в многослойный плоский (1), внутри- и подэпителиальная полиморфно-клеточная инфильтрация (2), расширение сосудов микроциркуляторного русла (3), умеренный отек собственной пластинки СОБ (4). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 350$. б – одиночные гранулоциты (5), фиброз собственной пластинки СОБ (6). Окраска по Ван Гизону. Ув. $\times 250$

Fig. 3. The mucous membrane of the bronchi of the smoker with chronic obstructive pulmonary disease. (a) Squamous metaplasia (1), intra- and subepithelial polymorphonuclear infiltration (2), dilated capillaries, vascular stasis (3), mild swelling of the lamina propria of the bronchial mucosa (4). Hematoxylin and eosin staining, $\times 350$. (b) Single granulocytes (5), fibrosis of bronchial mucosa lamina (6). Van Gieson staining; $\times 250$

Таблица. Морфофункциональная характеристика слизистой оболочки бронхов у курильщиков с ХОБЛ и без нее

Table 1. Morphofunctional characteristics of the bronchial mucosa in smokers with and without chronic obstructive pulmonary disease

Показатель	Курильщики без ХОБЛ, $n = 30$	Курильщики с ХОБЛ, $n = 40$	p
Удельный объем покровного эпителия, $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ (VV)	0,21 (0,15–0,26)	0,28 (0,20–0,36)	0,017
Удельный объем реснитчатых эпителиоцитов, $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ (VV)	0,13 (0,09–0,15)	0,17 (0,12–0,18)	0,06
Удельный объем бокаловидных эпителиоцитов, $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ (VV)	0,04 (0,03–0,04)	0,04 (0,02–0,05)	0,58
Удельный объем базальных эпителиоцитов, $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ (VV)	0,04 (0,02–0,05)	0,06 (0,04–0,08)	0,08
Высота эпителия, мкм	52,72 (38,87–62,64)	77,09 (64,25–88,50)	0,001
Толщина базальной мембраны, мкм	1,49 (0–2,61)	2,73 (1,36–3,25)	0,006
Удельный объем сосудов, $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ (VV)	0,69 (0,36–0,88)	0,44 (0,28–0,56)	0,001

лиальных клетках диффузно распределен в цитоплазме. Митохондрии имеют неравномерный электронно-прозрачный (ортодоксальные митохондрии) или электронно-плотный матрикс с различным количеством крист в нем (конденсированные митохондрии) (см. рис. 4, а).

У пациентов с ХОБЛ в бронхиальной стенке определялись гетерогенные популяции бокаловидных эпителиоцитов – клетки с гетерогенными секреторными вакуолями и содержимым варьи-

рующей электронной плотности, а также крупные эпителиоциты с плотно упакованными гранулами слизистого секрета (рис. 5, а).

При электронно-микроскопическом исследовании микрососудов СОБ у курящих пациентов с ХОБЛ нами обнаружено множество эндотелиоцитов, на люминальной поверхности которых определялись лишь единичные микропиноцитозные везикулы ($0,18 (0,16–0,25) \text{ мкм}^3/\text{мкм}^3$ (в группе сравнения $0,28 (0,20–0,38) \text{ мкм}^3/\text{мкм}^3$), а диаметр

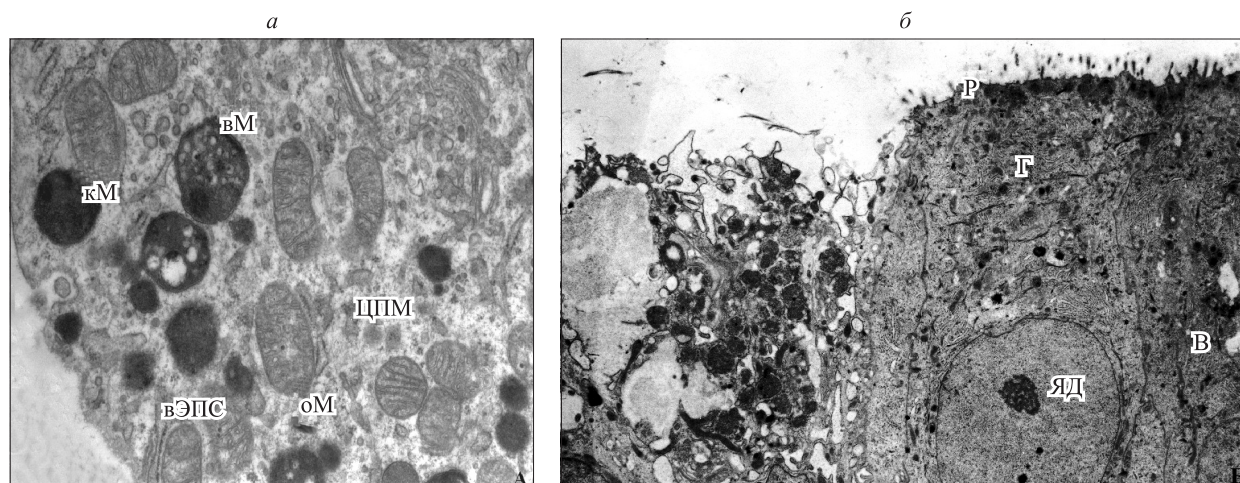


Рис. 4. Бронхиобиоптат курильщика с ХОБЛ. а – участок реснитчатой клетки: неоднородное просветление цитоплазматического матрикса (ЦПМ), эндоплазматическая сеть с признаками вакуолизации (вЭПС), конденсированная (κМ) и ортодоксальная (оМ) конфигурации митохондрий, вакуолизация митохондрии (вМ). Ув. $\times 20000$. б – клетки реснитчатого эпителия: полное разрушение ресничек на апикальной поверхности клетки (Р), скопление секреторных гранул в апикальной части клетки (Г), вакуоли в цитоплазме (В), ядрышко (ЯД). Ув. $\times 8500$

Fig. 4. The bronchial mucosa in smokers with chronic obstructive pulmonary disease. Fragment of ciliated epithelial cell (a): diffuse clearing of the cytoplasmic matrix (ЦПМ), vacuolization of the endoplasmic reticulum (VEPS), condensed (κМ) and orthodox (оМ) mitochondrial configuration, vacuoles in mitochondria (вМ); $\times 20000$. Ciliated epithelial cells (б): total destruction of cilia on cell apical surface (Р), accumulation of secretory granules in cell apical part (Г), vacuoles in cytoplasm (В), nucleolus (ЯД); $\times 8500$

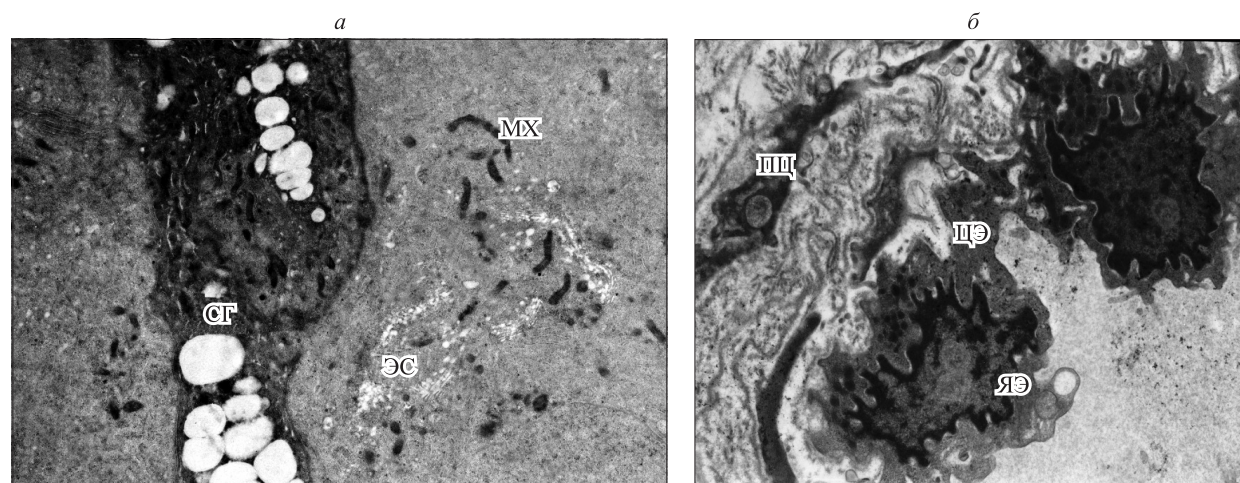


Рис. 5. Бронхиобиоптат курильщика с ХОБЛ. а – участок реснитчатых и бокаловидных эпителиоцитов: уменьшение количества секреторных гранул (СГ), объема митохондрий (МХ) и эндоплазматической сети (ЭС) в эпителиальных клетках бронхов. б – участок сосуда собственной пластинки СОБ: деструктивные процессы в ядре (ЯЭ) и цитоплазме (ЦЭ) эндотелиальной клетки и перicyта (ПЦ), утолщение и разволокнение коллагеновых волокон в базальной мембране сосуда. Ув. $\times 10000$

Fig. 5. The bronchial mucosa in a smoker with chronic obstructive pulmonary disease. Fragment of ciliary and goblet cells (a): reducing the number of secretory granules (СГ), reducing the volume of mitochondria (МХ) and endoplasmic reticulum (ЭС) in the epithelial cells of the bronchi. A fragment of bronchial mucosa lamina propria vessel (б): degenerative processes in the nucleus (ЯЭ) and cytoplasm (ЦЭ) of endothelial cell and pericyte (ПЦ), thickening and ripping of collagen fibers in vessel basement membrane; $\times 10.000$

гранул Вейбеля – Паладе был значительно уменьшен (419,5 (333,2–521,2) нм, в группе сравнения 442,3 (363,6–497,4) нм, $p = 0,002$) (рис. 5, б).

Важно отметить, что у пациентов с ХОБЛ выраженная воспалительная реакция в СОБ ассоциирована с некоторым увеличением суммарной плотности клеточного инфильтрата в 1 мм² бронхиальной стенки (250,36 (139,18–314,42) мкм³/мкм³ при ХОБЛ, 180,52 (90,94–271,89) мкм³/мкм³ у курильщиков без ХОБЛ). Это происходило как за счет нейтрофилов, плазмочитов, так и за счет клеток, постоянно присутствующих в соединительной ткани (фибробластов, тучных клеток). При ХОБЛ в 1 мм² СОБ нами выявлено однонаправленное повышение плотности CD4- (338,44 (277,12–348,13) мкм³/мкм³) и CD8-позитивных (466,55 (344,15–561,22) мкм³/мкм³) лимфоцитов (в группе сравнения – соответственно 201,14 (113,13–346,61) и 251,22 (111,43–364,22) мкм³/мкм³, $p = 0,003$). Плотность макрофагов, экспрессирующих рецепторы к TGF- β_1 , у пациентов с ХОБЛ также была больше, чем у лиц группы сравнения (соответственно 432,28 (354,22–496,24) и 152,34 (112,82–252,18) мкм³/мкм³, $p = 0,004$).

Обсуждение

Согласно последним эпидемиологическим исследованиям, ХОБЛ развивается только у 15–20 % курильщиков, поэтому воздействие табачного дыма является лишь триггером, а ключевая роль в развитии заболевания принадлежит различным эндогенным факторам [3, 5, 6]. В центре особого интереса ученых находятся лица, находящиеся под длительным активным воздействием табачного дыма, у которых не формируется ХОБЛ. Можно предположить, что устойчивость к развитию ХОБЛ у курильщиков опосредована разными тканевыми, клеточными и молекулярными реакциями дыхательных путей на длительное действие триггера.

Нами установлено, что у курильщиков, не страдающих ХОБЛ, в бронхиальной стенке регистрировались морфологические признаки острого бронхита, реализующегося в виде расширения и полнокровия сосудов, отека собственной пластинки СОБ с единичными нейтрофильными гранулоцитами. Развитие отека и усиление сосудистой проницаемости в собственной пластинке СОБ подтверждалось и данными электронно-микроскопического анализа – появлением большого количества светлых (отечных) эндотелиоцитов с множественными микропиноцитозными везикулами на люминальной поверхности и электронно-плотными секреторными гранулами Вейбеля – Паладе в цитоплазме. Важно отметить, что

«округление и просветление» эндотелиальных клеток сосудов происходит за счет повышения их тонуса, что, возможно, является обратимой, адаптивной реакцией сосудистой системы на длительное воздействие табачного дыма [7]. Хроническое воспаление, развивающееся в бронхиальной стенке у курящих пациентов с ХОБЛ, подтверждалось увеличением количества нейтрофильных гранулоцитов, плазматических и тучных клеток, а также CD8-позитивных межэпителиальных лимфоцитов в СОБ.

Повреждающий (цитотоксический) эффект CD8⁺-клеток связан с активным высвобождением перфорины, который стимулирует митохондриальную дисфункцию, активирует каспазу-3, запускающую повреждение и гибель клеток бронхов [8]. У пациентов с ХОБЛ это подтверждается появлением в бронхобиоптатах повышенного числа эпителиоцитов с ультраструктурными признаками нарушения функций митохондрий. Обнаруженное нами в митохондриях нарушение энергетического обмена эпителиоцитов, связанное с воздействием сигаретного дыма, может индуцировать гибель клеток, плоскоклеточную метаплазию и атрофию эпителия СОБ [7, 9]. При электронно-микроскопическом исследовании бронхиальной стенки у курящих пациентов с ХОБЛ признаки митохондриальной дисфункции сопровождались появлением гетерогенных популяций митохондрий ортодоксального (с просветленным матриксом и большим количеством крист, в которых повышена продукция АТФ) и конденсированного типа (с электронно-плотным матриксом и единичными фрагментированными кристами). Последние отличались нарушением синтеза макроэрга и усилением продукции митохондриальных активных форм кислорода, которые ответственны за ускорение клеточного старения и вызывают гибель эпителиоцитов. Возможно, обнаруженные нами в эпителиоцитах бронхиальной стенки ультраструктурные изменения индуцируют некроз бронхиальных эпителиоцитов и стимулируют формирование плоскоклеточной метаплазии [10].

S.S. Nacievliyagil et al. показали, что активное высвобождение фактора некроза опухоли α (ФНО α) из CD8⁺-лимфоцитов, плотность которых повышена в СОБ у курильщиков с ХОБЛ, также может вызывать повреждение и гибель эндотелиоцитов капилляров и приводить к дисциркуляторным расстройствам. Следствием этого у пациентов данной группы является гипоксия, которая стимулирует и усиливает гибель эпителиальных клеток бронхиальной стенки [11].

Согласно данным Н. Nara et al., ФНО- α , который высвобождается из клеток воспалительного

инфильтрата в бронхиальной стенке у пациентов с ХОБЛ, способен активировать продукцию TGF- β_1 бронхиальными эпителиоцитами и стимулировать функциональную активность альтернативно активированных макрофагов (M2), обладающих низкой способностью к фагоцитозу, но стимулирующих процессы синтеза коллагена и ремоделирования бронхиальной стенки [12, 13]. Следует отметить, что у пациентов с ХОБЛ в собственной пластинке СОБ эти клеточные популяции отличались периваскулярной локализацией. Они продуцируют провоспалительные цитокины и прооксиданты, а также TGF- β_1 , что усиливает пролиферацию фибробластов и активирует наработку ими коллагена 1 α_1 , который стимулирует фиброз бронхиальной стенки с преимущественной локализацией вокруг сосудов с последующим сужением их просвета [14, 15].

Выводы

1. У курильщиков без ХОБЛ наблюдается развитие экссудативного воспаления, которое не нарушает структурной архитектоники эпителиального пласта, но вызывает активацию белок-синтетических и энергетических процессов в эпителиальных клетках бронхиальной стенки.

2. При ХОБЛ, ассоциированной с длительным воздействием табачного дыма, в СОБ формируется хроническое нейтрофильное воспаление, приводящее к нарушению функциональной морфологии сосудов и эпителиальных клеток СОБ с последующим ремоделированием бронхиальной стенки.

Список литературы / References

1. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (GOLD). М.: Российское респираторное общество, 2018. [In Russian]. doi: 10.18093/0869-0189-2017-27-2-274-282

Global strategy for diagnosis, treatment and prevention of chronic obstructive pulmonary disease (GOLD). М: Russian Respiratory Society, 2017. [In Russian]. doi:10.18093/0869-0189-2017-27-2-274-282

2. Непомнящих Г.И. Биопсия бронхов: морфогенез общепатологических процессов в легких. М.: Изд-во РАМН, 2005. 384 с.

Непомнящих Г.И. Biopsy of the bronchi: morphogenesis of general pathological processes in lung. Moscow, 2005. 384 p. [In Russian].

3. Дедов И.И., Смирнова О.М., Горелышев А.С. Стресс эндоплазматического ретикула: цитологический сценарий патогенеза заболеваний человека. *Пробл. эндокринологии*. 2012; (5): 57–65. [In Russian].

Dedov I.I., Smirnova O.M., Gorelyshev A.S. Stress of the endoplasmic reticulum: a cytological scenario of the pathogenesis of human diseases. *Problemy endocrinologii = Problems of Endocrinology*. 2012; (5): 57–65. [In Russian].

4. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. М.: Медицина, 2002. 240 с.
Avtandilov G.G. Fundamentals of quantitative pathological anatomy. Moscow: Meditsina, 2002. 240 p. [In Russian].

5. Nakamura M., Nakamura H., Minematsu N., Chubachi S., Miyazaki M., Yoshida S., Tsuduki K., Shirahata T., Mashimo S., Takahashi S., Nakajima T., Tateno H., Fujishima S., Betsuyaku T. Plasma cytokine profiles related to smoking-sensitivity and phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease. *Biomarkers*. 2014. 19 (5): 368–377. doi: 10.3109/1354750X.2014.915342

6. Soltani A.R., Ewe Y.P., Lim Z.S., Sohal S.S., Reid D., Weston S., Wood-Baker R., Walters E.H. Mast cells in COPD airways: relationship to bronchodilator responsiveness and angiogenesis. *Eur. Respir. J.* 2016; 39 (6): 1361–1367. doi: 10.1183/09031936.00084411

7. Boucherat O., Boczkowski J., Jeannotte L., Delacourt C. Cellular and molecular mechanisms of goblet cell metaplasia in the respiratory airways. *Exp. Lung Res.* 2016; 39 (4): 207–216. doi: 10.3109/01902148.2013.791733

8. Metcalfe H.J., Lea S., Hughes D., Khalaf R., Abbott-Banner K., Singh D. Effects of cigarette smoke on Toll-like receptor (TLR) activation of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) macrophages. *Clin. Exp. Immunol.* 2014; 176 (3): 461–472. doi: 10.1111/cei.12289

9. Givi M.E., Givi M.E., Folkerts G., Mortaz E. Dendritic cells in pathogenesis of COPD. *Curr. Pharm. Des.* 2016; 18 (16): 2329–2335. doi: 10.2174/138161212800166068

10. Hoffmann R.F., Zarrintan S.F., Brandenburg S.M., Kol A., de Bruin H.G., Jafari Sh., Dijk F., Kalicharan D., Kelders M., Gosker H.R., Hacken N.H.T., van der Want J.J., van Oosterhout A.J., Heijink I.H. Prolonged cigarette smoke exposure alters mitochondrial structure and function in airway epithelial cells. *Res. Res.* 2013; 14 (1): 94–97. doi: 10.1186/1465-9921-14-97

11. Hacievliyagil S.S., Mutlu L.C., Temel İ. Airway inflammatory markers in chronic obstructive pulmonary disease patients and healthy smokers. *Niger. J. Clin. Pract.* 2013; 16 (1): 76–81. doi: 10.4103/1119-3077.106771

12. Hara H., Araya J., Ito S., Kobayashi K., Takasaka N., Yoshii Y., Wakui H., Kojima J., Shimizu K., Numata T., Kawaishi M., Kamiya N., Odaka M., Morikawa T., Kaneko Y., Nakayama K., Kuwano K. Mitochondrial fragmentation in cigarette smoke-induced bronchial epithelial cell senescence. *Am. J. Physiol.*

Lung Cell. 2013; 305 (10): 737–746. doi: 10.1152/ajplung.00146.2013

13. Hackett T.L., Shaheen F., Wright J.L., Wright J.L., Churg A. Fibroblast signal transducer and activator of transcription 4 drives cigarette smoke-induced airway fibrosis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2014; 51 (6): 830–839. doi: 10.1165/rcmb.2018-0369OC

14. Berenson C.S., Kruzel R.L., Eberhardt E., Sethi S. Phagocytic dysfunction of human alveolar mac-

rophages and severity of chronic obstructive pulmonary disease. *J. Infect. Dis.* 2013; 208 (12): 2036–2045. doi: 10.1093/infdis/jit400

15. Klar J., Blomstrand P., Brunmark C., Badhai J., Håkansson H.F., Brange C.S., Bergendal B., Dahl N. Fibroblast growth factor 10 haploinsufficiency causes chronic obstructive pulmonary disease. *J. Med. Genet.* 2011; 48 (10): 705–709. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-100166

Сведения об авторах:

Елена Андреевна Геренг, д.м.н., ORCID: 0000-0001-7226-0328, e-mail: e-gereng@mail.ru

Ирина Владимировна Суходоло, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0001-9848-2068, e-mail: staranie@mail.ru

Раиса Ивановна Плешко, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0001-9783-0817, e-mail: raisap57@mail.ru

Екатерина Борисовна Букреева, д.м.н., профессор, ORCID: 0000-0003-4402-0516, e-mail: kbukreeva@mail.ru

Анна Александровна Буланова, к.м.н., ORCID: 0000-0002-9764-4392, e-mail: anjuta107@gmail.com

Иван Сергеевич Кремис, e-mail: ivan.kremis@yandex.ru

Татьяна Сергеевна Ключина, e-mail: klyushina.tatyana@mail.ru

Information about the authors:

Elena A. Gereng, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-7226-0328, e-mail: e-gereng@mail.ru

Irina V. Suhodolo, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0001-9848-2068, e-mail: staranie@mail.ru

Raisa I. Pleshko, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0001-9783-0817, e-mail: raisap57@mail.ru

Ekaterina B. Bukreeva, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0003-4402-0516, e-mail: kbukreeva@mail.ru

Anna A. Bulanova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9764-4392; e-mail: anjuta107@gmail.com

Ivan S. Kremis, e-mail: ivan.kremis@yandex.ru

Tatyana S. Klyushina, e-mail: klyushina.tatyana@mail.ru

Поступила в редакцию 14.07.2020

После доработки 27.10.2020

Принята к публикации 20.11.2020

Received 14.07.2020

Revision received 27.10.2020

Accepted 20.11.2020

Роль гематологических показателей в качестве предикторов летального исхода у пациентов пожилого и старческого возраста в госпитальном периоде

Л.В. Борисова^{1,2}, С.А. Рукавишникова^{2,3}, А.С. Пушкин^{1,2,3}, Т.А. Ахмедов^{2,3}, В.В. Яковлев⁴

¹ НИЦ «Санкт-Петербургский Институт биорегуляции и геронтологии»
197110, г. Санкт-Петербург, просп. Динамо, 3

² Городская многопрофильная больница № 2
194354, г. Санкт-Петербург, Учебный пер., 5

³ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. академика И.П. Павлова Минздрава России
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8

⁴ Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова
194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

Резюме

Актуальность разработки алгоритмов прогноза неблагоприятных исходов, в том числе летального исхода у пациентов пожилого и старческого возраста, не вызывает сомнений. Среди потенциальных предикторов рассматриваются гематологические показатели. Клинический анализ крови – один из наиболее доступных методов диагностики в практической медицине, отражающий системные патологические процессы в организме человека на основе количественной оценки ее клеточного состава и морфологии. Целью настоящего исследования было оценить гематологические показатели в качестве предикторов летального исхода на госпитальном этапе у пациентов пожилого и старческого возраста с острым коронарным синдромом (ОКС). **Материал и методы.** В исследование включено 277 пациентов с ОКС. Гематологические показатели регистрировали с использованием анализатора CELL-DYN Sapphire (Abbott Laboratories, США), в том числе рассчитывали нейтрофильно-лимфоцитарный и тромбоцитарно-лимфоцитарный индексы. **Результаты.** Увеличение общего количества лейкоцитов ($10,45 \times 10^9/\text{л}$) у пациентов с ОКС в возрасте 60–74 лет при госпитализации связано с более высоким риском развития летального исхода на госпитальном этапе. Среди пациентов с ОКС в возрасте 75–89 лет риск летального исхода сопряжен со следующими изменениями в периферической крови при поступлении: абсолютное количество эозинофилов менее $0,086 \times 10^9/\text{л}$, абсолютное количество базофилов более $0,079 \times 10^9/\text{л}$ и тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс ниже 31,06.

Ключевые слова: острый коронарный синдром, гематологические показатели, предикторы, пожилой и старческий возраст.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Борисова Л.В., e-mail: LuciBor@yandex.ru

Для цитирования: Борисова Л.В., Рукавишникова С.А., Пушкин А.С., Ахмедов Т.А., Яковлев В.В. Роль гематологических показателей в качестве предикторов летального исхода у пациентов пожилого и старческого возраста в госпитальном периоде. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (6): 89–98. doi: 10.15372/SSMJ20200609

The role of hematological parameters as predictors of mortality in elderly patients in the hospital period

L.V. Borisova^{1,2}, S.A. Rukavishnikova^{2,3}, A.S. Pushkin^{1,2,3}, T.A. Ahmedov^{2,3}, V.V. Yakovlev⁴

¹ Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology
St. Petersburg, Dinamo av., 3

² City multidisciplinary hospital № 2
St. Petersburg, Uchebnyj lane, 5

³ First Pavlov State Medical University of St. Petersburg of Minzdrav of Russia
St. Petersburg, Lev Tolstoy str., 6-8

⁴ Military medical Academy of S.M. Kirov
St. Petersburg, Akademik Lebedev str., 6

Abstract

The development of algorithms for predicting adverse outcomes, including death in elderly and senile patients, is an urgent issue. Potential predictors include hematologic parameters. A clinical blood test is one of the most affordable diagnostic methods in practical medicine, reflecting systemic pathological processes in the human body based on a quantitative assessment of the cellular composition and blood morphology. The aim of this study was to evaluate hematological parameters as predictors of in-hospital mortality in patients of the elderly and senile age with acute coronary syndrome. **Material and methods.** The study included 277 patients with acute coronary syndrome. The study of hematological parameters was carried out on a CELL-DYN Sapphire hematology analyzer (Abbott Laboratories, USA). The values of neutrophil-lymphocytes ratio and platelet-lymphocytes ratio were also evaluated as predictors of in-hospital mortality. **Results.** High content of leukocytes (above $10.45 \times 10^9/l$) during hospitalization in patients with ACS aged 60–74 years are associated with a higher risk of death at the hospital stage. Among patients with ACS aged 75–89 years, the risk of death is associated with the following changes in peripheral blood upon admission: a decrease in the absolute number of eosinophils below $0.086 \times 10^9/l$, an increase in the absolute number of basophils above $0.079 \times 10^9/l$ and a decrease in platelet-lymphocytes ratio below 31.06.

Key words: acute coronary syndrome, hematological parameters, predictors, elderly and senile age.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Borisova L.V., e-mail: LuciBor@yandex.ru

Citation: Borisova L.V., Rukavishnikova S.A., Pushkin A.S., Ahmedov T.A., Yakovlev V.V. The role of hematological parameters as predictors of mortality in elderly patients in the hospital period. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (6): 89–98. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200609

Введение

Под острым коронарным синдром (ОКС) определяют все острые ситуации, возникающие при заболеваниях коронарных сосудов и приводящие к нестабильной стенокардии либо к инфаркту миокарда. Данная патология представляет собой сложный спектр патофизиологических механизмов, следствием чего является разнообразие клинической картины [1]. Стратификация риска играет решающую роль в ведении лиц с ОКС и позволяет на госпитальном этапе лучше охарактеризовать пациента и разработать подходящую краткосрочную и долгосрочную стратегию лечения [2, 3]. Несмотря на то что на данный момент

существует множество оценок по определению краткосрочных и долгосрочных рисков, продолжается работа над новыми шкалами, а также усовершенствованием уже имеющихся. Такие оценки рисков, как GUSTO, TIMI, PURSUIT и Simple Risk Index, представляют собой более старые шкалы, полученные в исследованиях с использованием терапевтических стратегий, которые больше не отражают текущую практику. Одним из самых надежных алгоритмов для прогнозирования как краткосрочных, так и долгосрочных неблагоприятных исходов, является показатель GRACE [4].

Заболеваемость инфарктом миокарда (ИМ) как одной из форм ОКС увеличивается с возрас-

том, в среднем он составляет более 60 лет [5–9]. Среди пациентов пожилого и старческого возраста высока вероятность наступления летального исхода как на догоспитальном, так и на госпитальном этапе. Актуальность разработки алгоритмов прогноза неблагоприятных исходов, в том числе летального, у таких больных не вызывает сомнений. Среди потенциальных предикторов наступления неблагоприятного исхода рассматриваются гематологические показатели [10–12]. Клинический анализ крови представляет собой один из наиболее доступных методов диагностики в практической медицине, отражающий системные патологические процессы в организме человека на основе количественной оценки ее клеточного состава и морфологии. Целью настоящего исследования явилась оценка значимости гематологических показателей в прогнозировании летального исхода на госпитальном этапе у пациентов с ОКС пожилого и старческого возраста.

Материал и методы

В исследование включено 277 пациентов, госпитализированных в отделение неотложной кардиологии СПб ГБУЗ «Городская многопро-

фильная больница № 2». Инфаркт миокарда и нестабильную стенокардию диагностировали на основании клинической картины, данных ЭКГ и показателей лабораторных маркеров повреждения миокарда (высокочувствительный тропонин I). Пациенты были разделены на две группы: лица пожилого (60–74 года) и старческого возраста (75–89 лет). Каждую из групп составили две подгруппы: с летальным исходом и без него. Клинико-демографические характеристики приведены в табл. 1. У всех пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании, одобренное этическим комитетом АНО НИЦ «Санкт-Петербургский Институт биорегуляции и геронтологии».

Образцы крови для исследования получали путем венепункции поверхностных вен локтевого сгиба в пробирки типа Vacutainer с антикоагулянтом K₃-ЭДТА. Исследование гематологических показателей проводилось на анализаторе CELL-DYN Sapphire (Abbott Laboratories, США) с определением следующих параметров: количество лейкоцитов (WBC), абсолютное количество нейтрофилов (NEU), абсолютное количество лимфоцитов (LYM), абсолютное количество моноцитов (MON), абсолютное количество эозинофилов

Таблица 1. Клинико-демографические характеристики пациентов с ОКС разных возрастных групп

Table 1. Clinical and demographic characteristics of patients with ACS of different age

Показатель, n (%)	Пациенты 60–74 лет (n = 148)	Пациенты 75 лет и старше (n = 129)	p
Женщины	49 (33,1)	73 (56,6)	0,001
Курение	27 (18,2)	7 (5,4)	0,001
Ожирение	79 (51,4)	41 (31,8)	0,001
Сахарный диабет	43 (29,1)	32 (24,8)	0,427
Острое нарушение мозгового кровообращения в прошлом	51 (34,5)	61 (47,3)	0,030
Цереброваскулярная болезнь	45 (30,4)	54 (41,9)	0,047
Дисциркуляторная энцефалопатия	30 (20,3)	46 (35,7)	0,004
Атеросклероз аорты	18 (12,2)	14 (10,9)	0,734
ИМ в прошлом	58 (39,2)	64 (49,6)	0,081
Анемия	41 (27,7)	56 (43,4)	0,006
Дислипидемия	107 (72,3)	70 (54,3)	0,002
Гипертоническая болезнь III стадии	135 (91,2)	241 (87,0)	0,026
Фракция выброса <40	19 (12,8)	14 (10,9)	0,611
Острая сердечная недостаточность по Killip 3 и более	9 (6,1)	9 (7,8)	0,624
Консервативное лечение	62 (41,9)	81 (62,8)	0,001
Операция	86 (58,1)	48 (37,2)	0,001
Стентирование	71 (48,0)	44 (34,1)	0,019
Аортокоронарное шунтирование	14 (9,5)	3 (2,3)	0,014
Коронароангиография	135 (91,2)	84 (65,1)	0,001

(EOS), абсолютное количество базофилов (BAS), количество эритроцитов (RBC), содержание гемоглобина (HBG), гематокрит (HCT), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), средний объем эритроцитов (MCV), коэффициент вариации ширины распределения эритроцитов по объему (RDW-CV), количество тромбоцитов (PLT), тромбоцит (PCT), средний объем тромбоцитов (MPV), ширина распределения тромбоцитов по объему (PDW). Также рассчитывали нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (NLR, отношение абсолютного количества нейтрофилов к абсолютному содержанию лимфоцитов) [13] и тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс (PLR, отношение количества тромбоцитов к абсолютному содержанию лимфоцитов) [14].

Для оценки количественных показателей на предмет соответствия нормальному распределению использовали критерий Шапиро – Уилка, а также показатели асимметрии и эксцесса. Значимость межгрупповых различий количественных признаков определяли с помощью критериев Краскела – Уоллиса и Манна – Уитни. Для оценки связи между непрерывными и дихотомическими параметрами использовали точечно-бисериальный коэффициент. Диагностическую чувствительность и специфичность определяли с помощью анализа ROC-кривых, с оценкой максимальной площади под кривой (AUC). Для анализа влияния гематологических показателей на летальный исход использовали бинарную логистическую регрессию, данные выражали как отношение шансов (ОШ) с расчетом 95%-го доверительного интервала (ДИ). Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты анализа различий гематологических показателей представлены в табл. 2. Для статистически значимых показателей были определены оптимальные пороги отсечения (cut-off) с помощью следующих критериев: максимальная суммарная чувствительность (Se) и специфичность (Sp) модели (Cut-off = max(Se + Sp)) и баланс между чувствительностью и специфичностью, т.е. когда $Se \approx Sp$ (Cut-off = min |Se – Sp|) (табл. 3).

Построение прогностических моделей осуществлялось с использованием многофакторной логистической регрессии с прямым пошаговым включением в модель переменных, оказывающих значимое влияние на качество математической

модели. Для создания моделей по прогнозированию летального исхода для пациентов в возрасте 60–74 лет были включены следующие показатели: WBC, NEU, NLR, PLR. В табл. 4 приведены результаты однофакторного анализа логистической регрессии для показателей, оказывающих влияние на исход заболевания у пациентов 60–74 лет.

Многофакторный анализ методом бинарной логистической регрессии показал, что фактором, вошедшим в модель регрессии и влияющим на развитие летального исхода в госпитальном периоде у пациентов 60–74 лет, было общее количество лейкоцитов более $10,45 \times 10^9/\text{л}$ (ОШ 13,279, ДИ 2,617–67,343, при $p = 0,002$). Вероятность того, что событие произойдет (p , принимает значение от 0 до 1), вычисляется по формуле:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(4,007 + a \times 2,586)}}, \quad (1)$$

где a – WBC ($0 < 10,45 \times 10^9/\text{л}$ и $1 > 10,45 \times 10^9/\text{л}$); e – число Эйлера.

С помощью анализа ROC-кривых определен «порог отсечения», составивший 0,106, – значение p , при превышении которого для пациентов в возрасте 60–74 лет увеличивается риск летального исхода в госпитальном периоде (рисунок, а). При данном пороге отсечения чувствительность полученной модели на основе гематологических показателей составляет 77,8 %, специфичность – 79,1 % (AUC 0,785 (0,622–0,947)), для шкалы GRACE порог отсечения был определен на уровне 127,0, при котором чувствительность была равна 88,9 %, специфичность – 59,7 % (AUC 0,789 (0,658–0,920)).

Для создания моделей по прогнозированию летального исхода для пациентов в возрасте 75–89 лет были включены следующие показатели: WBC, NEU, LYM, EOS, BAS, MCH, MCHC, PDW, PCT, NLR, PLR. В табл. 5 приведены результаты однофакторного анализа логистической регрессии для показателей, оказывающих влияние на исход заболевания у пациентов в возрасте 75–89 лет.

Многофакторный анализ методом бинарной логистической регрессии показал, что факторами, вошедшими в модель регрессии и влияющими на развитие летального исхода в госпитальном периоде у пациентов 75 лет и старше, оказались абсолютное количество эозинофилов менее $0,086 \times 10^9/\text{л}$ (ОШ 13,359, ДИ 4,098–43,552, $p < 0,001$), абсолютное количество базофилов более $0,079,45 \times 10^9/\text{л}$ (ОШ 5,397, ДИ 1,794–16,236, $p = 0,003$) и тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс со значением ниже 31,06 (ОШ 4,274,

Таблица 2. Сравнительная характеристика гематологических показателей у пациентов с ОКС с летальным исходом и без него, медиана (нижний квартиль; верхний квартиль)**Table 2.** Comparative characteristics of hematological parameters in patients with ACS with fatal and non-fatal outcomes, median (lower quartile, upper quartile)

Показатель	60–74 года		<i>p</i>	75–89 лет		<i>p</i>
	Умершие (<i>n</i> = 9)	Выжившие (<i>n</i> = 139)		Умершие (<i>n</i> = 36)	Выжившие (<i>n</i> = 93)	
WBC, ×10 ⁹ /л	11,7 (9,6; 12,55)	8,14 (6,60; 10,00)	0,002	11,9 (9,2; 14,5)	8,53 (6,94; 9,90)	0,001
NEU, ×10 ⁹ /л	8,10 (6,33; 10,55)	5,10 (4,00; 7,00)	0,003	9,05 (6,15; 11,97)	5,1 (4,04; 6,78)	0,001
LYM, ×10 ⁹ /л	1,74 (1,58; 2,21)	1,90 (1,50; 2,35)	0,810	1,43 (0,925; 2,10)	1,84 (1,32; 2,54)	0,021
MON, ×10 ⁹ /л	0,780 (0,577; 1,070)	0,624 (0,473; 0,800)	0,112	0,580 (0,473; 1,001)	0,588 (0,478; 0,787)	0,638
EOS, ×10 ⁹ /л	0,050 (0,010; 0,275)	0,130 (0,08; 0,220)	0,076	0,030 (0,003; 0,075)	0,141 (0,086; 0,247)	0,001
BAS, ×10 ⁹ /л	0,110 (0,05; 0,125)	0,070 (0,05; 0,09)	0,063	0,085 (0,06; 0,118)	0,061 (0,030; 0,089)	0,003
RBC, ×10 ¹² /л	4,67 (4,314 4,84)	4,70 (4,4; 5,08)	0,432	4,36 (3,79; 4,89)	4,37 (3,98; 4,73)	0,960
HCT, %	41,0 (38,74 45,1)	41,5 (38,14 44,3)	0,794	38,5 (32,4; 43,6)	39,5 (34,5; 42,3)	0,743
HGB, г/л	135,0 (127,54 145,0)	137,0 (125,0; 149,0)	0,779	122,0 (105,5; 140,8)	130,0 (115,5; 141,0)	0,220
MCV, фл	92,3 (87,1; 94,1)	88,1 (84,2; 92,2)	0,186	87,7 (82,6; 91,3)	88,4 (84,9; 90,9)	0,480
MCH, пг	30,1 (28,5; 30,9)	28,9 (27,3; 31,0)	0,308	28,6 (26,3; 29,4)	29,4 (27,6; 31,1)	0,012
MCHC, г/л	329,0 (316,5; 334,5)	330,0 (318,0; 343,0)	0,475	324,0 (310,3; 330,8)	333,0 (320,0; 348,0)	0,004
RDW-CV, %	12,3 (11,9; 13,4)	12,2 (11,4; 12,8)	0,443	12,9 (11,9; 13,5)	12,4 (11,9; 13,2)	0,211
PLT, ×10 ⁹ /л	238,0 (208,0; 245,5)	237,0 (193,0; 278,0)	0,904	210,5 (156,8; 264,5)	220,0 (180,0; 256,5)	0,487
MPV, фл	8,50 (8,1; 9,3)	8,60 (7,8; 9,7)	0,854	8,8 (7,6; 9,98)	8,7 (7,68; 9,72)	0,873
PDW, %	19,6 (19,3; 20,7)	19,3 (16,8; 20,3)	0,251	19,8 (18,8; 20,6)	18,4 (15,9; 19,9)	0,001
PCT, %	0,210 (0,175; 0,265)	0,230 (0,190; 1,68)	0,289	0,175 (0,1404 0,240)	0,270 (0,190; 1,85)	0,001
NLR	4,85 (2,683; 6,888)	2,57 (1,918; 3,862)	0,051	7,15 (2,75; 10,35)	2,84 (1,79; 4,10)	0,001
PLR	26,42 (22,18; 39,53)	45,95 (35,0; 57,76)	0,008	24,68 (17,92; 31,95)	42,18 (31,06; 55,98)	0,001

ДИ 1,494–12,229, $p = 0,007$). Вероятность того, что событие произойдет (p , принимает значение от 0 до 1), вычисляется по формуле:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-3,909 + a \times 2,592 + b \times 1,686 + c \times 1,453)}}, \quad (2)$$

где a – EOS ($0 > 0,086$, $1 < 0,086$); b – BAS ($0 < 0,079$, $1 > 0,079$); c – PLR ($0 > 31,06$, $1 < 31,06$); e – число Эйлера.

С помощью анализа ROC-кривых определен «порог отсечения», составивший 0,246 (рисунок, б). При данном пороге отсечения чувствительность полученной модели на основе гематологических показателей составляет 86,1 %, специфичность – 80,6 % (AUC 0,884 (0,815–0,954)), для шкалы GRACE порог отсечения был определен на уровне 169,0, при котором чувствительность была равна 75,0 %, специфичность – 90,3 % (AUC 0,897 (0,841–0,952)).

Таблица 3. Пороги отсечения с чувствительностью и специфичностью для прогнозирования наступления летального исхода

Table 3. Cut-off of hematological parameters for predicting in-hospital deaths

Показатель	Пациенты 60–74 лет			Пациенты 75 лет и старше		
	Cut-off	Se, %	Sp, %	Cut-off	Se, %	Sp, %
WBC, $\times 10^9/\text{л}$	10,45	77,8	79,1	9,81	72,2	72,0
NEU, $\times 10^9/\text{л}$	6,09	88,9	67,6	6,89	75,0	76,3
LYM, $\times 10^9/\text{л}$	—	—	—	1,585	41,7	39,8
EOS, $\times 10^9/\text{л}$	—	—	—	0,086	16,7	24,7
BAS, $\times 10^9/\text{л}$	—	—	—	0,079	61,1	67,7
MCH, пг	—	—	—	28,95	41,7	40,9
MCHC, г/л	—	—	—	324,50	47,2	33,3
PDW, %	—	—	—	19,15	66,7	61,3
PCT, %	—	—	—	0,215	41,7	39,8
NLR	3,53	77,8	71,9	4,41	69,4	78,5
PLR	33,39	33,3	23,7	31,06	25,0	24,7

Таблица 4. ОШ для факторов, влияющих на развитие неблагоприятного исхода в госпитальном периоде у пациентов 60–74 лет

Table 4. Univariate analyses for patients aged 60–74

Параметр	Однофакторный анализ		
	ОШ	95%-й ДИ	<i>p</i>
WBC $> 10,45 \times 10^9/\text{л}$	13,276	2,617–67,343	0,002
NEU $> 6,085$	16,711	2,028–137,699	0,009
NLR $> 3,53$	8,974	1,786–45,097	0,008
PLR $< 33,4$	6,424	1,522–27,113	0,011

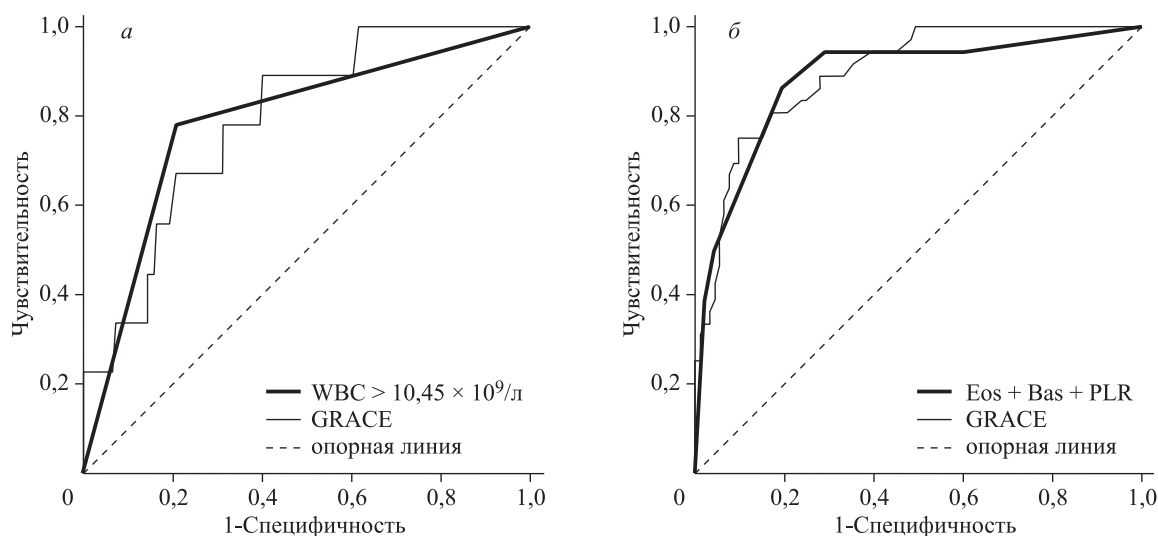


Рис. Сравнение ROC-кривых полученной модели и шкалы GRACE в качестве предикторов летального исхода у пациентов с ОКС пожилого (а) и старческого (б) возраста

Fig. Receiver-operating characteristic (ROC) curves for the resulting model in prediction of in-hospital deaths in patients with ACS aged 60–74 (a) and 75–89 years (b)

Таблица 5. ОШ для факторов, влияющих на развитие неблагоприятного исхода в госпитальном периоде у пациентов 75–89 лет

Table 5. Univariate analyses for patients aged 75–89

Параметр	Однофакторный анализ		
	ОШ	95%-й ДИ	p
WBC > 9,81	6,700	2,840–15,809	<0,001
NEU > 6,89	9,682	3,963–23,652	<0,001
LYM < 1,59	2,119	0,969–4,631	0,060
EOS < 0,086	15,217	5,626–41,162	<0,001
BAS > 0,079	3,300	1,485–7,335	0,003
MCH < 28,95	2,026	0,928–4,425	0,076
MCHC < 324,5	2,235	1,021–4,894	0,044
PDW > 19,15	3,167	1,410–7,110	0,005
PCT > 0,215	0,472	0,216–1,032	0,060
NLR > 4,41	8,295	3,494–19,694	<0,001
PLR < 31,06	9,130	3,752–22,22	<0,001

Обсуждение

Для поиска предикторов летального исхода выполнено сравнение гематологических параметров среди пациентов разных возрастных групп. Установлено, что WBC при поступлении в клинику было статистически значимо выше у больных, умерших на госпитальном периоде, как среди лиц в возрасте 60–74 лет, так и среди пациентов 75 лет и старше. При этом медиана WBC в обеих возрастных группах среди умерших превышала $11 \times 10^9/\text{л}$. M. Grzybowski et al. при изучении связи WBC и госпитальной летальности у больных с ИМ (возраст $68,8 \pm 14,3$ года, доля пациентов старше 75 лет около 40 %) обнаружили увеличение госпитальной летальности по мере возрастания WBC. Так, при WBC $(5,0\text{--}7,7) \times 10^9/\text{л}$, $(7,8\text{--}9,7) \times 10^9/\text{л}$, $(9,8\text{--}12,4) \times 10^9/\text{л}$ и более $12,5 \times 10^9/\text{л}$ летальность составила соответственно 4,4, 6,2, 8,4 и 15,9 % ($p < 0,001$) [10].

Лейкоциты играют центральную роль в воспалительном репаративном ответе, инициированном в организме с целью образования рубца вместо некротической ткани после острого ИМ; чем больше размер инфаркта, тем выше ответ лейкоцитов. Поскольку крупноочаговые инфаркты более склонны к развитию осложнений, таких как сердечная недостаточность и смерть, зависимость между их размерами и WBC может иметь потенциальное прогностическое значение. В литературе отмечено большое количество работ по исследованию связи количества нейтрофилов и лимфоцитов с неблагоприятными исходами у пациентов с ОКС. Однако несмотря на высокую частоту распространения ОКС среди лиц пожилого и старческого возраста гематологические показате-

тели в большинстве исследований оценивались среди пациентов моложе 65 лет. Изменения субпопуляций лейкоцитов в фазу острого периода связаны с увеличением количества нейтрофилов и снижением числа лимфоцитов. По результатам нашего исследования у пациентов как пожилого, так и старческого возраста отмечалась описанная выше тенденция количественного изменения субпопуляций клеток периферической крови. Такой интегральный показатель, как NLR, также имел более высокие значения у больных с летальным исходом в обеих возрастных группах. В ряде исследований внутрибольничная смертность была больше среди пациентов с ОКС, имевших высокие значения NLR и возраст до 67 лет [11, 12, 15, 16]. Увеличение NLR может отражать активность воспалительного процесса, атеросклероза и наличие нестабильных бляшек. Активированные циркулирующие нейтрофилы выделяют мембранные микрочастицы, которые обладают провоспалительными свойствами, включая активацию эндотелиальных клеток и индукцию генов цитокинов [17].

Изменения в периферической крови в сторону уменьшения количества лимфоцитов при ишемии и реперфузии миокарда были отмечены давно, и подобная лимфопения связывалась с худшим прогнозом [18]. В нашем исследовании снижение числа лимфоцитов было более выражено у лиц 75 лет и старше, однако причины этого до конца не ясны. Данные изменения связывают с апоптозом лимфоцитов в периферической крови, а также с мобилизацией клеток в очаг ишемии.

В ряде исследований описывается уменьшение количества эозинофилов в крови у пациентов с ОКС [19, 20]. Нами показано, что в крови лиц

75 лет и старше, умерших при явлениях ОКС, было статистически значимо снижено абсолютное количество эозинофилов. Больные с EOS менее $0,086 \times 10^9/\text{л}$ имели более высокий риск летального исхода. Подобную эозинопению некоторые авторы объясняют участием клеток в формировании коронарных тромбов. Гистологическое исследование миокарда свиней после моделирования ИМ и реперфузии показало инфильтрацию миокарда эозинофилами, которая была более выражена в областях с наиболее выраженными структурными повреждениями, а именно в зонах с микрососудистой обструкцией. Последняя приводит к серьезным повреждениям структуры миокарда, оказывая негативное влияние на процессы ремоделирования левого желудочка [21]. Вероятно, выраженная эозинофильная инфильтрация миокарда может спровоцировать локальную нерегулируемую воспалительную реакцию, приводящую к более сильному повреждению миокарда [22].

В развитии атеросклероза и его осложнений одну из ключевых ролей играют тромбоциты и их взаимодействия с лейкоцитами. Помимо привлечения клеток в очаг, тромбоциты образуют комплексы с нейтрофилами и моноцитами, которые депонируются в местах атеросклеротического повреждения [23]. В работе S.R.H. Al-Obeidi et al. PLT, MPV, PCT и PDW были статистически значимо больше у пациентов с ОКС, чем у здоровых людей [24]. Увеличение объема тромбоцитов указывает на его неоднородность: активированные тромбоциты претерпевают морфологические изменения, становясь более крупными и реактивными, образуя псевдоподии. PDW рассматривается как более конкретный параметр оценки активации тромбоцитов [25, 26]. J. Wang et al. показали, что MPV и PDW были независимыми факторами риска разрыва атеросклеротической бляшки, а также возникновения фиброатеромы с тонкой крышкой. Кроме того, MPV являлся независимым предиктором 6-месячной смертности у пациентов с ИМ без подъема сегмента ST [27]. По нашим данным, у пациентов 75 лет и старше с летальным исходом величина PDW статистически значимо больше, а значение PCT – меньше, чем у пациентов без летального исхода. По результатам нашего исследования для пациентов старческого возраста в качестве предиктора летального исхода в прогностическую модель был включен такой расчетный показатель, как тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс.

Таким образом, увеличение значения WBC (более $10,45 \times 10^9/\text{л}$) у пациентов с ОКС в возрасте 60–74 лет при госпитализации связано с более высоким риском развития летального исхода на

госпитальном этапе. Среди больных ОКС в возрасте 75–89 лет риск летального исхода сопряжен со следующими изменениями в периферической крови при поступлении: абсолютное количество эозинофилов менее $0,086 \times 10^9/\text{л}$, абсолютное количество базофилов более $0,079 \times 10^9/\text{л}$ и тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс ниже 31,06. Полученные чувствительность и специфичность рассматриваемых показателей сопоставимы с чувствительностью и специфичностью, рассчитанными по шкале GRACE. В ряде исследований применение сочетания гематологических показателей со шкалой GRACE давало возможность более точно прогнозировать наступление сердечно-сосудистых событий у больных ОКС по сравнению с использованием изолированно оценки GRACE [28–30]. Таким образом, гематологические показатели могут выступать в качестве предикторов летального исхода на госпитальном этапе и использоваться совместно с уже имеющимися шкалами оценки риска для улучшения прогнозирования наступления летального исхода среди лиц пожилого и старческого возраста.

Ограничениями данного исследования являются нерандомизированная выборка, а также включение в многофакторный анализ относительно небольшого числа факторов.

Список литературы / References

1. Белялов Ф.И. Прогнозирование заболеваний с помощью шкал. *Комплекс. пробл. сер.-сосуд. заболеваний*. 2018; 7 (1): 84–93. doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-1-84-93
- Belialov F.I. Risk prediction scores of diseases. *Kompleksnyye problemy serdechno-sosudistykh zabolevaniy = Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018; 7 (1): 84–93. [In Russian]. doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-1-84-93
2. Niu X., Liu G., Huo L., Zhang J., Bai M., Peng Y., Zhang Z. Risk stratification based on components of the complete blood count in patients with acute coronary syndrome: A classification and regression tree analysis. *Sci. Rep.* 2018; 8 (1): 2838. doi: 10.1038/s41598-018-21139-w
3. Roffi M., Patrono C., Collet J.P., Mueller C., Valgimigli M., Andreotti F., Bax J.J., Borger M.A., Brotons C., Chew D.P., Gencer B., Hasenfuss G., Kjeldsen S., Lancellotti P., Landmesser U., Mehilli J., Mukherjee D., Storey R.F., Windecker S., ESC Scientific Document Group. 2015 ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology. *Euro-*

pean Heart Journal. 2016; 37: 267–315. doi: 10.1093/eurheartj/ehv320

4. Ibanez B., James S., Agewall S., Antunes M., Bucciarelli-Ducci C., Bueno H., Caforio A., Crea F., Goudevenos J., Halvorsen S., Hindricks G., Kastrati A., Lenzen M., Prescott E., Roffi M., Valgimigli M., Varenhorst C., Vranckx P., Widimský P. 2017 ESC guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: the Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology. *Eur. Heart J.* 2018; 39: 119–177. doi:10.1093/eurheartj/ehx393

5. Борель К.Н. Прогнозирование сердечно-сосудистых событий у пациентов трудоспособного возраста, перенесших инфаркт миокарда (по данным проспективного 5-летнего клинико-эпидемиологического исследования): дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2015.

Borel' K.N. Prognozirovanie serdechno-sosudistykh sobytiy u patsientov trudosposobnogo vozrasta, perenesshikh infarkt miokarda (po dannym pospektivnogo 5-letnego kliniko-epidemiologicheskogo issledovaniya). Abstract of thesis. ... cand. med. sciences. 2015. [In Russian].

6. Ковальчук Е.Ю., Сорока В.В. Современный клинико-эпидемиологический портрет пациента с острым инфарктом миокарда (по материалам регионального сосудистого центра). *Учен. зап. СПбГМУ.* 2015; 22 (2): 56–60.

Koval'chuk E.Yu., Soroka V.V. Sovremennyyi kliniko-epidemiologicheskii portret patsienta s ostrym infarktom miokarda (po materialam regional'nogo sosudistogo tsentra). *Uchenyye zapiski Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta imeni akademika Ivana Petrovicha Pavlova = The Scientific Notes of the I.P. Pavlov St. Petersburg State Medical University.* 2015; 22 (2): 56–60. [In Russian].

7. Hung J., Teng T.K., Finn J., Knuiman M., Briffa T., Stewart S., Sanfilippo F.M., Ridout S., Hobbs M. Trends from 1996 to 2007 in incidence and mortality outcomes of heart failure after acute myocardial infarction: a population-based study of 20812 patients with first acute myocardial infarction in Western Australia. *JAHA.* 2013; 2 (5): 1–9. doi: 10.1161/JAHA.113.000172

8. Kim R.B., Kim B., Kim Y.M., Seo J.W., Lim Y.S., Kim H.S., Lee H.J., Moon J.Y., Kim K.Y., Shin J.Y., Park H.K., Song J.K., Park K.S., Jeong B.G., Park C.G., Shin H.Y., Kang J.W., Oh G.J., Lee Y.H., Seong I.W., Yoo W.S., Hong Y.S. Trends in the incidence of hospitalized acute myocardial infarction and stroke in Korea, 2006–2010. *J. Korean Med. Sci.* 2013; 28 (1): 16–24. doi: 10.3346/jkms.2013.28.1.16

9. Schmidt M., Jacobsen J.B., Lash T.L., Bøtker H.E., Sørensen H.T. 25-year trends in first time hospitalization for acute myocardial infarction, subsequent short and long term mortality, and the prognostic impact of

sex and comorbidity: a Danish nationwide cohort study. *BMJ.* 2012; 344: e356. doi: 10.1136/bmj.e356

10. Grzybowski M., Welch R.D., Parsons L., Ndumele C.E., Chen E., Zalenski R., Barron H.V. The association between white blood cell count and acute myocardial infarction in-hospital mortality: findings from the National Registry of Myocardial Infarction. *Acad. Emerg. Med.* 2004; 11 (10): 1049–1060. doi: 10.1197/j.aem.2004.06.005

11. Tamhane U.U., Aneja S., Montgomery D., Rogers E., Eagle K.A., Gurm H.S. Association between admission neutrophil to lymphocyte ratio and outcomes in patients with acute coronary syndrome. *Am. J. Cardiol.* 2008; 102 (6): 653–657. doi: 10.1016/j.amjcard.2008.05.006.

12. Suliman M.A.R.M., Juma A.A.B., Almadhani A.A.A., Pathare A.V., Alkindi S.S.A., Werner F.U. Predictive value of neutrophil to lymphocyte ratio in outcomes of patients with acute coronary syndrome. *Arch. Med. Res.* 2010; 41: 618–622. doi: 10.1016/j.arcmed.2010.11.006

13. Suliman M.M.A., Juma A.A.B., Ali Almadhani A.A., Pathare A.V., Alkindi S.S.A., Werner F.U. Predictive value of neutrophil to lymphocyte ratio in outcomes of patients with acute coronary syndrome. *Arch. Med. Res.* 2010; 41: 618–622. doi: 10.1016/j.arcmed.2010.11.006

14. Azab B., Shah N., Akerman M., McGinn J.T.Jr. Value of platelet/lymphocyte ratio as a predictor of all-cause mortality after non-ST-elevation myocardial infarction. *J. Thromb. Thrombolys.* 2012; 34 (3): 326–334. doi: 10.1007/s11239-012-0718-6

15. Azab B., Zaher M., Weiserbs K.F., Torbey E., Lacossiere K., Gaddam S., Gobunsuy R., Jadonath S., Baldari D., McCord D., Lafferty J. Usefulness of neutrophil to lymphocyte ratio in predicting short-and long-term mortality after non-ST-elevation myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 2010; 106 (4): 470–476. doi: 10.1016/j.amjcard.2010.03.062

16. Pan W., Zhao D., Zhang C., Li W., Yu J., Wang S., Li Z., Wang Z., Sun X., Liu H., Sun Y., Tian Y., Wang L. Application of neutrophil/lymphocyte ratio in predicting coronary blood flow and mortality in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing percutaneous coronary intervention. *J. Cardiol.* 2015; 66 (1): 9–14. doi: 10.1016/j.jjcc.2014.10.014

17. Mesri M., Altieri D.C. Endothelial cell activation by leukocyte microparticles. *J. Immunol.* 1998; 161 (8): 4382–4387.

18. Thomson S.P., Gibbons R.J., Smars P.A., Suman V.J., Pierre R.V., Santrach P.J., Jiang N.S. Incremental value of the leukocyte differential and the rapid creatine kinase-MB isoenzyme for the early diagnosis of myocardial infarction. *Ann. Intern. Med.* 1995; 122 (5): 335–341. doi: 10.7326/0003-4819-122-5-199503010-00003

19. Konishi T., Funayama N., Yamamoto T., Morita T., Hotta D., Nishihara H., Tanaka S. The prognostic

value of eosinophil to leukocyte ratio in patients presenting with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *J. Atheroscler. Thromb.* 2017; 24 (8): 827–840. doi: 10.5551/jat.37937

20. Toor I.S., Jaumdally R., Lip G.Y.H., Millane T., Varma C. Eosinophil count predicts mortality following percutaneous coronary intervention. *Thromb. Res.* 2012; 130 (4): 607–611. doi: 10.1016/j.thromres.2012.05.033

21. Rios-Navarro C., Gavara J., Vidal V., Racugno P., Bayes-Genis A., Minana G., Husser O., Oltra R., Nunez J., Chorro F.J., Bobi V., Ruiz-Sauri A. Characterization and implications of the dynamics of eosinophils in blood and in the infarcted myocardium after coronary reperfusion. *PLoS One.* 2018; 13 (10): 1–20. doi: 10.1371/journal.pone.0206344

22. Jacobsen E.A., Taranova A.G., Lee N.A., Lee J.J. Eosinophils: singularly destructive effector cells or purveyors of immunoregulation? *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007; 119 (6): 1313–1320. doi: 10.1016/j.jaci.2007.03.043

23. Пинегина Н.В. Лейкоцитарно-тромбоцитарные комплексы в патогенезе острого коронарного синдрома. Часть 1. *Креатив. кардиология.* 2016; 10 (2): 128–135. doi: 10.15275/kreatkard.2016.02.03

Pinegina N.V. Leukocyte-platelet complexes in the pathogenesis of acute coronary syndrome. Part 1. *Kreativnaya kardiologiya = Creative Cardiology.* 2016; 10 (2): 128–135. [In Russian]. doi: 10.15275/kreatkard.2016.02.03

24. Al-Obeidi S.R.H. Ahmedm S., Obeid F.A. Evaluation of platelet indices in patients with acute coronary syndrome. *Mustansiriyah Med. J.* 2013; 12 (1): 58–64.

25. Varasteh-ravan H.R., Ali-Hassan-Sayegh S., Shokraneh S., Mozayan M.R., Karimi-bondarabadi A.A.

Relationship of admission mean platelet volume, platelet distribution width and white blood cells with ST resolution in patients with acute ST segment elevation myocardial infarction treated with streptokinase without history of previous cardiovascular surgery. *Perspect. Clin. Res.* 2013; 4 (2): 125–129. doi: 10.4103/2229-3485.111792

26. El-Dosouky I.I., Shehata I.E. Value of the mean platelet volume in evaluation of patients with acute coronary syndrome. *J. Med. Diagn. Meth.* 2016; 5 (1): 1–5. doi: 10.4172/2168-9784.1000201

27. Wang J., Li X., Pu J., Jin S., Jia L., Li X., Liu F., Yang Y. Mean platelet volume and coronary plaque vulnerability: an optical coherence tomography study in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2019; 19 (1): 128. doi: 10.1186/s12872-019-1115-2

28. Crea F., Libby P. Acute coronary syndromes: the way forward from mechanisms to precision treatment. *Circulation.* 2017; 136: 1155–1166. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029870

29. Zhao N., Mi L., Liu X., Pan S., Xu J., Xia D., Liu Z., Zhang Y., Xiang Y., Yuan Z., Guan G., Wang J. Combined value of red blood cell distribution width and Global Registry of Acute Coronary Events risk score for predicting cardiovascular events in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention. *PLoS One.* 2015; 10 (1): e0140532. doi: 10.1371/journal.pone.0140532

30. Correia L.C., Souza A.C., Sabino M., Brito M., Maraun M., Garcia G., Esteves J.P., Noya-Rabelo M.M. Hemoglobin level adds prognostic value to the Global Registry of Acute Coronary Events score in non-ST elevation acute coronary syndromes. *Cardiology.* 2012; 121: 213–219. doi: 10.1159/000336954

Сведения об авторах:

Людмила Викторовна Борисова, ORCID: 0000-0001-7016-4463, e-mail: lucibor@yandex.ru

Светлана Александровна Рукавишникова, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0002-8161-2425, e-mail: kdlb2@yandex.ru

Александр Сергеевич Пушкин, к.м.н., ORCID: 0000-0003-2875-9521, e-mail: pushkindoc@mail.ru

Тимур Артыкович Ахмедов, к.м.н., ORCID: 0000-0002-3105-4322, e-mail: timaxm@gmail.ru

Владимир Валерьевич Яковлев, д.м.н., ORCID: 0000-0001-5310-0812, e-mail: yakovlev-mma@yandex.ru

Information about the authors:

Lyudmila V. Borisova, ORCID: 0000-0001-7016-4463, e-mail: lucibor@yandex.ru

Svetlana A. Rukavishnikova, Doctor of Biological Sciences, Professor, ORCID: 0000-0002-8161-2425, e-mail: kdlb2@yandex.ru

Alexander S. Pushkin, Candidate of Medical Sciences, ORCID: 0000-0003-2875-9521, e-mail: pushkindoc@mail.ru

Timur A. Akhmedov, Candidate of Medical Sciences, ORCID: 0000-0002-3105-4322, e-mail: timaxm@gmail.ru

Vladimir V. Yakovlev, Doctor of Medical Sciences, ORCID: 0000-0001-5310-0812, e-mail: yakovlev-mma@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.07.2020

После доработки 30.09.2020

Принята к публикации 09.11.2020

Received 22.07.2020

Revision received 30.09.2020

Accepted 09.11.2020

Факторы риска у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с артериальной гипертензией, избыточной массой тела и ожирением

Ю.А. Николаев, Е.В. Севостьянова, В.Я. Поляков, И.М. Митрофанов, А.А. Ус

*ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2*

Резюме

Цель исследования – изучить особенности встречаемости факторов риска у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с артериальной гипертензией, избыточной массой тела и ожирением. **Материал и методы.** Объектом исследования явились данные 14 393 историй болезней пациентов с артериальной гипертензией (АГ), неалкогольной жировой болезнью печени (НЖБП), избыточной массой тела (ИЗМТ) и ожирением, проходивших обследование и лечение на базе клиники Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины (г. Новосибирск). **Результаты и их обсуждение.** Показано, что у больных с НЖБП, АГ, избыточной массой тела и ожирением статистически значимо больше, чем у пациентов с изолированными заболеваниями, транссистемная полиморбидность, систолическое и диастолическое артериальное давление, индекс массы тела, концентрация в сыворотке крови общего холестерина, триглицеридов, холестерина липопротеинов высокой плотности, глюкозы, мочевой кислоты, индекс атерогенности. Изучение частоты встречаемости факторов риска в группах показало у пациентов с ассоциированными заболеваниями наибольшие величины частоты повышенного артериального давления, дислипидемии, гипертриглицеридемии, гиперхолестеринемии, гипоальфахолестеринемии, гиперлипидемии, повышенного индекса атерогенности, гипергликемии, гиперурикемии, увеличения содержания С-реактивного белка, что указывает на наличие более выраженных изменений углеводного, липидного и пуринового обмена при данной сочетанной патологии. Эти изменения являются факторами утяжеления течения патологии и факторами риска развития сахарного диабета, атеросклероза и ассоциированных состояний, что требует персонализированного подхода к лечению и профилактике данной категории больных. Результаты настоящего исследования могут быть положены в основу разработки новой медицинской технологии для оценки тяжести состояния больных НЖБП, сочетанной с АГ, избыточной массой тела и ожирением.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, артериальная гипертензия, избыточная масса тела, ожирение, факторы риска.

Конфликт интересов. Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с материалами данной статьи.

Автор для переписки: Николаев Ю.А., e-mail: nicol@centercem.ru

Для цитирования: Николаев Ю.А., Севостьянова Е.В., Поляков В.Я., Митрофанов И.М., Ус А.А. Факторы риска у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с артериальной гипертензией, избыточной массой тела и ожирением. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2020; 40 (6): 99–105. doi: 10.15372/SSMJ20200610

Risk factors in patients with non-alcoholic fatty liver disease associated with arterial hypertension, overweight and obesity

Yu.A. Nikolaev, E.V. Sevostyanova, V.Ya. Polyakov, I.M. Mitrofanov, A.A. Us

*Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

Abstract

Purpose of the study was to investigate the features of the occurrence of risk factors in patients with non-alcoholic fatty liver disease associated with arterial hypertension, overweight and obesity. **Material and methods.** The object of the study was the data of 14 393 case histories of patients with arterial hypertension (AH), non-alcoholic fatty liver disease (NFLD), overweight body (OB) and obesity, examined and treated at the clinic of the Federal Research Center for

Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk). **Results and discussion.** Features of biochemical parameters in patients with NFLD with AH, OB and obesity were studied in comparison with patients with isolated diseases. It was shown that in patients, in case of the presence of this comorbidity, the value of transsystem polymorbidity is statistically significantly increased compared with groups of patients with isolated diseases. It was established that patients with concomitant diseases have higher, statistically significant values of systolic and diastolic blood pressure, body mass index. They have higher concentrations of total cholesterol, triglycerides, high density lipoprotein cholesterol, glucose, uric acid in the blood serum, higher atherogenic index. A study of the frequency of occurrence of risk factors in the groups showed the highest frequency values in patients with associated diseases: high blood pressure, dyslipidemia, hypertriglyceridemia, hypercholesterolemia, hypoalphacholesterolemia, hyperlipidemia, increased atherogenic index, hyperglycemia, hyperuricemia, the higher levels of C-reactive protein, which indicates that with associated pathology, changes in carbohydrate, lipid and purine metabolism are more pronounced. These changes are factors that aggravate the course of the pathology and are risk factors for the development of diabetes mellitus, atherosclerosis and associated conditions, which requires a personalized approach to the treatment and prevention of this category of patients. The results of this study can form the basis for the development of new medical technology for assessing the severity of condition in patients with non-alcoholic fatty liver disease combined with arterial hypertension, overweight and obesity.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, arterial hypertension, overweight, obesity, risk factors.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Nikolaev Yu.A., e-mail: nicol@centercem.ru

Citation: Nikolaev Yu.A., Sevostyanova E.V., Polyakov V.Ya., Mitrofanov I.M., Us A.A. Risk factors in patients with non-alcoholic fatty liver disease associated with arterial hypertension, overweight and obesity. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (6): 99–105. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200610

Введение

Полиморбидность является актуальнейшей проблемой современной медицины [1, 2]. У больных с сочетанной патологией более высокие показатели осложнений, инвалидности, затрат на лечение, смертности, ухудшается прогноз заболеваемости, снижены функциональные возможности и качество жизни [1, 3].

Известно, что при полиморбидности поражение, начинающееся с одного органа, в дальнейшем вызывает развитие ряда заболеваний других органов и систем [4]. Сочетанная патология создает новую клиническую ситуацию, требующую учета ее особенностей при диагностике, лечении и профилактике заболеваний [5]. Анализ полиморбидности важен для выявления обуславливающих ее факторов, а также разработки лечебно-профилактических мероприятий [6]. Сочетанные заболевания имеют общие звенья патогенеза [7]. Так, патологии гепатобилиарной системы, в случае наличия изолированных форм и их сочетаний, свойственна особая клиничко-биохимическая и иммунологическая характеристика. Однако кумулятивный эффект таких сочетаний недооценивается [8]. Остаются не изученными особенности формирования коморбидности данных заболеваний. Вместе с тем понимание этих особенностей может послужить основой для разработки новых медицинских технологий.

Целью исследования было изучение особенностей встречаемости факторов риска у больных не-

алкогольной жировой болезнью печени (НЖБП), ассоциированной с артериальной гипертензией (АГ), избыточной массой тела и ожирением.

Материал и методы

Объектом исследования явились 14 393 истории болезни пациентов с АГ, НЖБП, избыточной массой тела и ожирением, проходивших обследование и лечение на базе клиники Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины (ФИЦ ФТМ) (г. Новосибирск). В соответствии с МКБ-10 АГ относилась к классам болезней I00-I99, I10-I13, НЖБП – к классам 73.0; K 73.9; K 76; K 74.6, ожирение – к классу E66.0

Пациенты были разделены на четыре группы. 1-я группа – больные АГ без НЖБП, избыточной массы тела и ожирения (10 357 человек, из них 41,3 % мужчин; средний возраст $60,2 \pm 0,1$ года); 2-я группа – больные НЖБП без АГ, избыточной массы тела и ожирения (593 человека, из них 53,5 % мужчин; средний возраст $56,2 \pm 0,5$ года); 3-я группа – пациенты с избыточной массой тела и ожирением (1192 человека, из них 24,2 % мужчин; средний возраст $44,4 \pm 0,4$ года); 4-я группа – больные НЖБП, ассоциированной с АГ, избыточной массой тела и ожирением (2251 человек, из них 37,4 % мужчин; средний возраст $55,7 \pm 0,2$ года). Все включенные в обследование лица дали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование проводилось в

соответствии со стандартами Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2008 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Верификация диагноза у обследованных лиц осуществлялась в условиях стационара с использованием современных методов клинической, функциональной и лабораторной диагностики. Коэффициент транснозологической полиморбидности рассчитывали по наличию заболеваний по классификации МКБ-10; за единицу принимали наличие одной нозологической формы, величина коэффициента транснозологической полиморбидности для пациента представляла собой общую сумму нозологий.

У всех пациентов ежедневно измеряли артериальное давление (АД) аускультативно-манжеточным способом, максимальное АД фиксировали по первому тону, минимальное – по 5-й фазе Короткова (исчезновение тонов). Определяли рост и массу тела с расчетом индивидуального индекса массы тела (норма $< 25 \text{ кг/м}^2$, $25\text{--}29,9 \text{ кг/м}^2$ – избыточная масса тела, $\geq 30 \text{ кг/м}^2$ – ожирение). Для биохимических исследований кровь забирали из локтевой вены, натощак, в утренние часы, не ранее чем через 12 часов после последнего приема пищи; определяли содержание глюкозы, мочевой кислоты (норма 480 мкмоль/л для мужчин, 420 мкмоль/л для женщин) и С-реактивного белка (норма до 5 мг/л) на автоматических анализаторах «Konelab 30i» (Thermo Clinical Labsystems, Финляндия) и «AU 480» (Beckman Coulter, США).

Исследование липидного обмена включало определение уровня общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) с расчетом индекса атерогенности (АИ). Содержание ОХ определяли пероксидазным методом, ЛПВП – пероксидазным методом с преципитацией, ТГ в сыворотке крови – ферментативным методом. Концентрацию ЛПНП рассчитывали из известных значений ОХ, ЛПВП и ТГ согласно формуле Фридвальда, АИ – по формуле $\text{АИ} = (\text{ОХ} - \text{ЛПВП})/\text{ЛПВП}$. При определении нарушений липидного профиля руководствовались рекомендациями Рабочей группы Европейского общества кардиологов (ЕОК) и Европейского общества атеросклероза (ЕОА) по диагностике и лечению дислипидемий 2019 г. [9]. К гиперхолестеринемии относили содержание $\text{ОХ} \geq 5,0 \text{ ммоль/л}$, повышенным уровнем ХС ЛПНП считали $\geq 3,0 \text{ ммоль/л}$. Снижение

концентрации ХС ЛПВП регистрировали при $\leq 1,0 \text{ ммоль/л}$ у мужчин и $\leq 1,2 \text{ ммоль/л}$ у женщин. К гипертриглицеридемии относили уровень $\text{ТГ} \geq 1,7 \text{ ммоль/л}$.

Результаты представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ошибки среднего ($M \pm SE$), частоты встречаемости признака (n (%)). Для сравнительного анализа различий между величинами показателей в группах применяли критерий Ньюмена – Кейлса. Для сравнительного анализа различий между частотой встречаемости признаков в группах использовали z-критерий с поправкой Бонферрони. Различия сравниваемых показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Анализ расчета величин коэффициентов транссистемной полиморбидности показал статистически значимое его увеличение у пациентов с сочетанием заболеваний: АГ, НЖБП, ИМТ и ожирением ($6,02 \pm 0,02$) по сравнению с группами с изолированными нозологиями – АГ ($5,43 \pm 0,03$), НЖБП ($4,31 \pm 0,03$).

У пациентов с сочетанными заболеваниями систолическое и диастолическое АД, а также ИМТ были статистически значимо больше, чем у лиц с изолированными заболеваниями (табл. 1). Также наибольшей в группе 4 были концентрации ОХ и ТГ (табл. 2). По содержанию ХС ЛПНП и ХС ЛПВП группы не различались, однако АИ у больных с ассоциированной патологией был значимо выше, чем у пациентов с изолированной патологией (см. табл. 2). В сыворотке крови пациентов с сочетанными заболеваниями содержание мочевой кислоты и глюкозы было достоверно больше, чем у больных с наличием изолированных патологий, по концентрации С-реактивного белка сравниваемые группы не различались (см. табл. 2).

Изучение встречаемости факторов риска (табл. 3) показало, что наибольшая частота повышенного артериального давления ($77,5 \%$) была у пациентов с ассоциированными заболеваниями, достоверно превышая величину показателя в других группах (в $1,1\text{--}2,9$ раза); также чаще у них наблюдалась дислипидемия (на $4,6\text{--}8,4 \%$), гипертриглицеридемия (на $62\text{--}85 \%$), гиперхолестеринемия (на $3,8\text{--}28 \%$), гипоальфахолестеринемия (на $33,8\text{--}81 \%$), повышенное содержание ХС ЛПНП (на $3\text{--}5,7 \%$) и АИ (на $15\text{--}27 \%$), гипергликемия (в $2,6\text{--}2,9$ раза), гиперурикемия (на $95\text{--}97 \%$), повышенный уровень С-реактивного белка (на $53\text{--}65 \%$).

Таблица 1. Показатели артериального давления, роста, веса, индекса массы тела у больных НЖБП, ассоциированной с АГ, избыточной массой тела и ожирением ($M \pm SE$)

Table 1. Indicators of blood pressure, height, weight, body mass index in patients with non-alcoholic fatty liver disease associated with arterial hypertension, overweight and obesity ($M \pm SE$)

Показатель	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	$P_{\{1-2\}}$	$P_{\{1-3\}}$	$P_{\{1-4\}}$	$P_{\{2-3\}}$	$P_{\{2-4\}}$	$P_{\{3-4\}}$
Систолическое АД, мм рт. ст	143,9 $\pm$ 0,2	123,6 $\pm$ 0,7	126,2 $\pm$ 0,6	147,2 $\pm$ 0,5	<0,0001	<0,0001	0,0006	0,0059	<0,0001	<0,0001
Диастолическое АД, мм рт. ст	89,6 $\pm$ 0,1	81,7 $\pm$ 1,7	81,3 $\pm$ 0,4	93,0 $\pm$ 0,3	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,5373	<0,0001	<0,0001
Масса тела, кг	77,4 $\pm$ 0,1	77,4 $\pm$ 0,7	90,0 $\pm$ 0,5	99,9 $\pm$ 0,4	0,9758	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Рост, см	165,3 $\pm$ 0,3	169,2 $\pm$ 0,4	165,4 $\pm$ 0,3	165,5 $\pm$ 0,3	0,0002	0,9149	0,9690	0,0001	0,0001	0,8948
ИМТ, кг/м ²	28,97 $\pm$ 0,45	27,07 $\pm$ 0,22	32,51 $\pm$ 0,21	45,82 $\pm$ 5,48	0,6673	0,4219	0,0004	0,4337	0,0001	0,0025

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 группа 1 – больные АГ, группа 2 – больные НЖБП, группа 3 – лица с избыточной массой тела и ожирением, группа 4 – больные НЖБП, ассоциированной с АГ, избыточной массой тела и ожирением.

Таблица 2. Показатели липидного, пуринового и углеводного обменов у больных НЖБП, ассоциированной с АГ, избыточной массой тела и ожирением ($M \pm SE$)

Table 2. Indicators of lipid, purine and carbohydrate metabolism in patients with non-alcoholic fatty liver disease associated with arterial hypertension, overweight and obesity ($M \pm SE$)

Показатель	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	$P_{\{1-2\}}$	$P_{\{1-3\}}$	$P_{\{1-4\}}$	$P_{\{2-3\}}$	$P_{\{2-4\}}$	$P_{\{3-4\}}$
Содержание ОХ, ммоль/л	5,93 $\pm$ 0,01	5,50 $\pm$ 0,07	5,79 $\pm$ 0,06	6,14 $\pm$ 0,05	<0,0001	0,0187	0,0008	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Содержание ТГ, ммоль/л	1,64 $\pm$ 0,01	1,66 $\pm$ 0,07	1,66 $\pm$ 0,03	2,35 $\pm$ 0,04	0,7408	0,9024	<0,0001	0,9196	<0,0001	<0,0001
Содержание ХС ЛПВП, ммоль/л	1,36 $\pm$ 0,03	1,27 $\pm$ 0,02	1,44 $\pm$ 0,16	1,23 $\pm$ 0,06	0,4472	0,5163	0,5426	0,3361	0,7686	0,3219
Содержание ХС ЛПНП, ммоль/л	4,77 $\pm$ 0,22	3,59 $\pm$ 0,09	4,53 $\pm$ 0,53	3,78 $\pm$ 0,07	0,4957	0,7752	0,4652	0,5016	0,8213	0,3712
АИ	3,78 $\pm$ 0,02	3,84 $\pm$ 0,11	3,85 $\pm$ 0,05	4,54 $\pm$ 0,05	0,5400	0,6983	<0,0001	0,8456	<0,0001	<0,0001
Содержание глюкозы, ммоль/л	4,91 $\pm$ 0,01	4,90 $\pm$ 0,06	4,81 $\pm$ 0,03	5,71 $\pm$ 0,04	0,9267	0,1831	<0,0001	0,0953	<0,0001	<0,0001
Содержание мочевой кислоты, ммоль/л	320,0 $\pm$ 1,2	325,3 $\pm$ 5,6	318,8 $\pm$ 3,5	368,0 $\pm$ 2,5	0,2918	0,8024	<0,0001	0,3927	<0,0001	<0,0001
Содержание С-реактивного белка, мг/л	6,06 $\pm$ 0,21	6,65 $\pm$ 0,57	5,68 $\pm$ 0,44	6,16 $\pm$ 0,25	0,7155	0,6250	0,8940	0,5831	0,5180	0,8081

Таблица 3. Частота встречаемости факторов риска у больных НЖБП, ассоциированной с АГ, избыточной массой тела и ожирением, n (%) ($M \pm SE$)

Table 3. Frequency of occurrence of risk factors in patients with non-alcoholic fatty liver disease associated with arterial hypertension, overweight and obesity, % ($M \pm SE$)

Показатель	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	$P_{(1,2)}$	$P_{(1,3)}$	$P_{(1,4)}$	$P_{(2,3)}$	$P_{(2,4)}$	$P_{(3,4)}$
АГ	5175 (70,2)	96 (24,1)	216 (26,3)	1358 (77,5)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	1,0000	<0,0001	<0,0001
Дислипидемия	8270 (90,7)	393 (87,7)	910 (90,9)	1987 (95,1)	0,1098	1,0000	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Гипертриглицеридемия	3270 (34,2)	174 (33,3)	422 (38,2)	1327 (61,9)	1,0000	0,0258	<0,0001	0,1725	<0,0001	<0,0001
Гиперхолестеринемия	7424 (77,1)	330 (62,3)	795 (71,4)	1706 (80,1)	<0,0001	<0,0001	0,0090	0,0006	<0,0001	<0,0001
Гиперлипидемия ХС ЛПНП	5663 (78,6)	220 (68,1)	574 (76,5)	1346 (78,8)	<0,0001	0,5433	1,0000	0,0117	<0,0001	0,6243
Гипоальфахолестеринемия	694 (9,6)	55 (16,9)	98 (13,0)	301 (17,4)	<0,0001	0,0099	<0,0001	0,2601	1,0000	0,0159
Повышенный АИ	5668 (78,5)	235 (71,2)	593 (78,5)	1557 (90,9)	0,0054	1,0000	<0,0001	0,0270	<0,0001	<0,0001
Гипергликемия	1298 (13,5)	67 (12,5)	129 (11,6)	772 (35,8)	1,0000	0,2358	<0,0001	1,0000	<0,0001	<0,0001
Гиперурикемия	1531 (22,3)	72 (21,1)	163 (22,1)	793 (43,7)	1,0000	1,0000	<0,0001	1,0000	<0,0001	<0,0001
Повышенный уровень С-реактивного белка	613 (13,4)	58 (20,7)	62 (14,5)	225 (22,2)	0,0018	1,0000	<0,0001	0,0960	1,0000	0,0027

Обсуждение

Можно предположить, что общими факторами, влияющими на формирование данной коморбидности, могут быть наличие хронической инфекции, инволютивные и системные метаболические изменения, ятрогения, социальный статус, экология и генетическая предрасположенность, а общими патогенетическими звеньями в формировании данных патологий являются: психоэмоциональный стресс, системные сосудистые нарушения (эндотелиальная дисфункция), изменения системы гемостаза и иммунного статуса, модулирование липидного, пуринового и белкового, углеводного обменов, реорганизация клеточных мембран в результате активации перекисного окисления липидов на фоне антиоксидантной недостаточности, воспаление, нарушения секреции и метаболизма инсулина, гормонов жировой ткани, которые, вероятно, опосредуются через изменения состояния вегетативной нервной системы [5, 10].

Известно, что жировая ткань обладает высокой чувствительностью к липолитическому действию катехоламинов и слабо отвечает на антилиполитическую активность инсулина. У пациентов с ожирением и метаболическим синдромом это приводит к гормональным нарушениям, усилению инсулинрезистентности. Жиры салника липолизуются, и большое количество свободных жирных кислот переходит в портальную вену, способствуя гиперлипидемии. Избыток свободных жирных кислот транспортируется в гепатоциты с образованием ТГ, ЛПНП, что приводит к повышенной секреции печенью глюкозы. Сочетание увеличения захвата печенью свободных жирных кислот и повышенного их образования поддерживает и усиливает инсулинрезистентность, в результате нарушается усвоение глюкозы инсулинзависимыми тканями, компенсаторно увеличивается секреция инсулина β -клетками поджелудочной железы. Повышенное, а чаще избыточное содержание инсулина в крови стимулирует утилизацию углеводов и способствует депонированию жира, что приводит к увеличению массы тела вследствие накопления жировой ткани [11, 12]. По последним представлениям НЖБП – одна из составляющих метаболического синдрома [13], который представляет собой комплекс взаимосвязанных нарушений углеводного и жирового обмена, а также механизмов регуляции артериального давления и функции эндотелия сосудов [11]. Если рассматривать структуру коморбидности у пациентов с НАЖБП, то мы можем заметить, что чаще всего она ассоциируется с метаболическим синдромом [14, 15], ожи-

рением [16, 17] и АГ [6, 10, 16]. Общее звено их патогенеза – инсулинрезистентность [14, 15], которая в структуре патогенеза НЖБП и ожирения является основным фактором, а в структуре патогенеза АГ – вторичным, поскольку приводит к атеросклерозу сосудов, фиброзу печени, что и опосредует развитие и отягощение АГ [11, 16].

Заключение

У больных НЖБП, ассоциированной с АГ, избыточной массой тела и ожирением, выявлено статистически значимое увеличение транс-системной полиморбидности по сравнению с группами пациентов с наличием изолированных заболеваний. Степень выраженности воспалительного процесса выше при ассоциированной патологии, чем при наличии изолированных форм заболеваний. При данной сочетанной патологии более выражены изменения углеводного, липидного и пуринового обменов, которые являются факторами утяжеления течения патологии и факторами риска развития сахарного диабета, атеросклероза и ассоциированных состояний, что требует персонифицированного подхода к лечению и профилактике у данной категории больных. Результаты настоящего исследования могут быть положены в основу разработки новой медицинской технологии для оценки тяжести состояния больных НЖБП, сочетанной с АГ, избыточной массой тела и ожирением.

Список литературы / References

1. Белялов Ф.И. Лечение внутренних болезней в условиях коморбидности. Иркутск: РИО ИГМАПО, 2014. 308 с.
Belyalov F.I. Treatment of internal diseases in conditions of comorbidity. Irkutsk, 2014. 308 p. [In Russian].
2. Николаев Ю.А., Севостьянова Е.В., Митрофанов И.М., Поляков В.Я., Долгова Н.А. Особенности полиморбидности у пациентов терапевтической клиники кардиологического и гастроэнтерологического профиля. *Терапевт. архив*. 2016; 1: 40–45.
Nikolaev Yu.A., Sevost'yanova E.V., Mitrofanov I.M., Polyakov V.Ya., Dolgova N.A. Features of polymorbidity in patients of the therapeutic clinic of cardiological and gastroenterological profiles. *Tерапевтический архив = Therapeutic Archive*. 2016; 1: 40–45. [In Russian].
3. Оганов Р.Г. Сосудистая коморбидность: общие подходы к профилактике и лечению. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2015; 11 (1): 4–7.
Oganov R.G. Vascular comorbidity: general approaches to prevention and treatment. *Rational'naya farmakoterapiya v kardiologii = Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2015; 11 (1): 4–7. [In Russian].
4. Boyd C.M., Reider L., Frey K., Scharfstein D., Leff B., Wolff J., Groves C., Karm L., Wegene S., Marsteller J., Boul C. The effects of guided care on the perceived quality of health care for multi-morbid older persons: 18-month outcomes from a cluster-randomized controlled trial. *J. Gen. Intern. Med.* 2010; 25: 235–242. doi: 10.1007/s11606-009-1192-5
5. Николаев Ю.А., Геворгян М.М., Козарук Т.В., Кузнецова А.П., Поляков В.Я. Особенности клинико-биохимических и иммунологических показателей у больных артериальной гипертензией, приехавших жителей Севера, сочетанной с заболеваниями гепатобилиарной системы. *Бюл. СО РАМН*. 2012; 32 (4): 66–71.
Nikolaev Yu.A., Gevorgyan M.M., Kozaruk T.V., Kuznetsova A.P., Polyakov V.Ya. Features of clinical-biochemical and immunological indices in patients with hypertension, alien residents of the North, combined with diseases of the hepatobiliary system. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Bulletin of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences*. 2012; 32 (4): 66–71. [In Russian].
6. Севостьянова Е.В., Николаев Ю.А., Митрофанов И.М., Поляков В.Я. Особенности полиморбидности у больных артериальной гипертензией. *Артериальная гипертензия*. 2019; 25 (2): 200–208.
Sevost'yanova E.V., Nikolaev Yu.A., Mitrofanov I.M., Polyakov V.Ya. Features of polymorbidity in patients with arterial hypertension. *Arterial'naya gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2019; 25 (2): 200–208. [In Russian].
7. Лазебник Л.Б., Конев Ю.В., Ефремов Л.И. Основная проблема гериатрии – множественность болезней у пожилого больного. *Клин. геронтология*. 2019; 25 (1-2): 4–9.
Lazebnik L.B., Konev Yu.V., Efremov L.I. The main problem of geriatrics is the multiplicity of diseases in an elderly patient. *Klinicheskaya gerontologiya = Clinical Gerontology*. 2019; 25 (1-2): 4–9. [In Russian].
8. Неалкогольная жировая болезнь печени и неалкогольный стеатогепатит. Глобальные практические рекомендации Всемирной гастроэнтерологической организации. Июнь 2012. Режим доступа: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/nafl-d-nash-russian-2012.pdf>
Non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. Global guidelines of the World gastroenterological organization. June 2012. Available at: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/nafl-d-nash-russian-2012.pdf> [In Russian].
9. Mach F., Baigent C., Catapano A.L., Koskinas K.C., Casula M., Badimon L., Chapman M.J., de Backer G.G., Delgado V., Ference B.A., Graham I.M., Halliday A., Landmesser U., Mihaylova B., Pedersen T.R., Riccardi G., Richter D.J., Sabatine M.S., Taskinen M.R., Tokgozoglul., Wiklund O., ESC Sci-

entific Document Group. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur. Heart J.* 2020; 41 (1): 111–188. doi: 10.1093/eurheartj/ehz455

10. Драпкина О.М., Яфарова А.А. Неалкогольная жировая болезнь печени и сердечно-сосудистый риск: состояние проблемы. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2017; 13 (5): 645–650.

Drapkina O.M., Yafarova A.A. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk: state of the problem. *Racional'naya farmakoterapiya v kardiologii = Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2017; 13 (5): 645–650. [In Russian].

11. Черкашина Е.А., Петренко Л.В., Евстигнеева А.Ю. Неалкогольная жировая болезнь печени: патогенез, диагностика, лечение. *Ульян. мед.-биол. журн.* 2014; (1): 35–46.

Cherkashina E.A., Petrenko L.V., Evstigneeva A.YU. Non-alcoholic fatty liver disease: pathogenesis, diagnosis, treatment. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal = Ulyanovsk Medico-Biological Journal*. 2014; (1): 35–46. [In Russian].

12. Targher G., Marra F., Marchesini G. Increased risk of cardiovascular disease in non-alcoholic fatty liver disease: causal effect or epiphenomenon? *Diabetologia*. 2008; 51 (11): 1947–1953. doi: 10.1007/s00125-008-1135-4

13. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М., Павлов Ч.С., Бакулин И.Г., Корнеева О.Н. Неалкогольный стеатогепатит при метаболическом синдроме. *Consilium medicum*. 2007; (2): 18–21.

Ivashkin V.T., Drapkina O.M., Pavlov Ch.S., Bakulin I.G., Korneeva O.N. Non-alcoholic steatohepatitis in metabolic syndrome. *Consilium Medicum*. 2007; (2): 18–21. [In Russian].

14. Asrih M., Jornayvaz F.R. Metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease: Is insulin resistance the link? *Mol. Cell. Endocrinol.* 2015; 418: 55–65. doi: 10.1016/j.mce.2015.02.018

15. Kanwar P., Kowdley K.V. The metabolic syndrome and its influence on nonalcoholic steatohepatitis. *Clin. Liver Dis.* 2016; 20 (2): 225–243. doi: 10.1016/j.cld.2015.10.002

16. Стаценко М.Е., Туркина С.В., Косивцова М.А., Тыщенко И.А. Неалкогольная жировая болезнь печени как мультисистемное заболевание. *Вестн. ВолгГМУ*. 2016; (2): 58–66.

Stacenko M.E., Turkina S.V., Kosivcova M.A., Tyshchenko I.A. Non-alcoholic fatty liver disease as a multisystem disease. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Volgograd State Medical University*. 2016; (2): 58–66. [In Russian].

17. Younossi Z.M., Koenig A.B., Abdelatif D., Fazel Y., Henry L., Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016; 64 (1): 73–84. doi: 10.1002/hep.28431

Сведения об авторах:

Юрий Алексеевич Николаев, д.м.н., e-mail: nicol@centercem.ru

Евгения Викторовна Севостьянова, к.м.н., e-mail: luck.nsk@rambler.ru

Владимир Яковлевич Поляков, д.м.н., e-mail: vpolyakov15@mail.ru

Игорь Михайлович Митрофанов, д.м.н., e-mail: mim007@mail.ru

Алина Алексеевна Ус, e-mail: olimpiada2121@gmail.com

Information about the authors:

Yuri A. Nikolaev, doctor of medical sciences, e-mail: nicol@centercem.ru

Evgenia V. Sevostyanova, candidate of medical sciences, e-mail: luck.nsk@rambler.ru

Vladimir Ya. Polyakov, doctor of medical sciences, e-mail: vpolyakov15@mail.ru

Igor M. Mitrofanov, doctor of medical sciences, e-mail: mim007@mail.ru

Alina A. Us, e-mail: olimpiada2121@gmail.com

Поступила в редакцию 02.07.2020

После доработки 14.07.2020

Принята к публикации 27.08.2020

Received 02.07.2020

Revision received 14.07.2020

Accepted 27.08.2020