

ISSN 2227-1848 (Print)
ISSN 2687-1637 (Online)



УЛЬЯНОВСКИЙ
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ



№3

2022



Учредитель

Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«УЛЬЯНОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе
по надзору в сфере связи,
информационных технологий
и массовых коммуникаций
(Роскомнадзор)
(Свидетельство о регистрации
средства массовой информации
ПИ № ФС77-77594
от 31 декабря 2019 г.)

ISSN 2227-1848 (печатная версия)
ISSN 2687-1637 (электронная версия)

**Журнал включен
Высшей аттестационной комиссией
Министерства образования и науки РФ
в Перечень российских рецензируемых
научных журналов, в которых должны быть
опубликованы основные научные результаты
диссертаций на соискание ученых степеней
доктора и кандидата наук**

Распространяется на территории
Российской Федерации
и в зарубежных странах

Цена - свободная

Основан в 2011 году
Выходит 4 раза в год

Подписной индекс
в каталоге «Пресса России»:
44070

Очередной номер журнала
можно приобрести в редакции

Адрес редакции:

432017, Ульяновская обл., г. Ульяновск,
ул. Набережная реки Свияги,
д. 40, корп. 3, каб. 225
Тел.: 8(8422)32-10-23
E-mail: ulsubook@yandex.ru

Редакционная группа:

Е.Г. Туженкова, Е.П. Мамаева,
Н.В. Пенькова

Адрес издателя:

432017, Ульяновская обл., г. Ульяновск,
ул. Л. Толстого, 42

Оригинал-макет подготовлен и тираж
отпечатан в Издательском центре
Ульяновского государственного
университета:

432017, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42

Подписано в печать 23.09.2022.
Дата выхода в свет 10.10.2022.

Формат 60×84 1/8.
Усл. печ. л. 19,2. Тираж 500 экз.
Заказ № 54 /

УЛЬЯНОВСКИЙ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 3
2022

Главный редактор – В.И. Мидленко (Ульяновск, Россия)
Заместитель главного редактора – М.В. Балыкин (Ульяновск, Россия)
Заместитель главного редактора – А.М. Шутов (Ульяновск, Россия)
Ответственный секретарь – И.В. Антипов (Ульяновск, Россия)

Редакционный совет

К. Аллегра (Рим, Италия)
П.Л. Антигнани (Рим, Италия)
Е.С. Белозеров (Санкт-Петербург, Россия)
Ш.Х. Ганцев (Уфа, Россия)
В.И. Горбунов (Ульяновск, Россия)
А.В. Жестков (Самара, Россия)
А.Г. Зарифьян (Бишкек, Кыргызстан)
В.В. Зинчук (Гродно, Беларусь)
Л.В. Кактурский (Москва, Россия)
М.В. Кукош (Нижний Новгород, Россия)
Е.И. Маевский (Пушкино, Россия)
А.Л. Максимов (Магадан, Россия)
А.Б. Песков (Ульяновск, Россия)
Н.И. Потатуркина-Нестерова (Ульяновск, Россия)
А. Скудери (Сорокаба, Бразилия)
С.И. Сороко (Санкт-Петербург, Россия)
М.М. Танащян (Москва, Россия)
Е.М. Франциянц (Ростов-на-Дону, Россия)
Б.П. Чураков (Ульяновск, Россия)
А.С. Шаназаров (Бишкек, Кыргызстан)

Редакционная коллегия

И.И. Антонеева (Ульяновск, Россия)
Ш.К. Батырханов (Алматы, Казахстан)
Л.А. Белова (Ульяновск, Россия)
М.И. Бочаров (Ухта, Россия)
В.Х. Габитов (Бишкек, Кыргызстан)
Т.П. Генинг (Ульяновск, Россия)
Ю.П. Герасименко (Санкт-Петербург, Россия)
Н.Г. Камышев (Санкт-Петербург, Россия)
С.Г. Кривошеков (Новосибирск, Россия)
А.И. Кусельман (Ульяновск, Россия)
Е.Н. Маджидова (Ташкент, Узбекистан)
В.В. Машин (Ульяновск, Россия)
А.И. Мидленко (Ульяновск, Россия)
А.В. Овечкин (Луисвилль, США)
В.Е. Радзинский (Москва, Россия)
В.В. Родионов (Москва, Россия)
Е.М. Романова (Ульяновск, Россия)
В.И. Рузов (Ульяновск, Россия)
Ю.В. Саенко (Ульяновск, Россия)
Л.И. Трубникова (Ульяновск, Россия)
М.М. Филиппов (Киев, Украина)
Э. Хусуйин (Киршехир, Турция)
А.Л. Чарышкин (Ульяновск, Россия)

© Ульяновский государственный университет, 2022

* Воспроизведение всего или части данного издания
недопустимо без письменного разрешения редакции.

16+



Founder
ULYANOVSK
STATE
UNIVERSITY

The journal is registered
in the Federal Service
for Supervision
in the Sphere of Communications,
Information Technology
and Mass Communications.
Certificate of Registration
of Media Outlet ПИ
№ ФС77-77594, December 31, 2019.

ISSN 2227-1848 (Print)
ISSN 2687-1637 (Online)

**The journal is included by the Higher
Attestation Commission of the Ministry
of Education and Science of the Russian
Federation in the list of Russian reviewed
scientific journals, in which major scientific
results of theses for academic degrees
of doctor and candidate of science have
to be published**

Circulates
on the territory
of the Russian Federation
and abroad

Price is not fixed

Founded in 2011
Issued 4 times a year

Index in catalogue "Press of Russia":
44070

The journal is available
in the editor's office

Editorial office:
432017, Ul'yankovskaya oblast', Ul'yankovsk,
Naberezhnaya reki Sviyagi St., 40,
Building 3, Room 225.
Tel. 8(8422)32-10-23
E-mail: ulsubook@yandex.ru

Editorial team:
E.G. Tuzhenkova, E.P. Mamaeva,
N.V. Penkova

Publishing office:
432017, Ul'yankovskaya oblast', Ul'yankovsk,
L. Tolstoy St., 42.

The dummy is prepared
and circulation is printed
in the Publishing Center
The Ulyanovsk State University:
432017, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42

Sent for the press 23.09.2022.
Date of the press 10.10.2022.

Format 60×84 1/8.
Print. page 19,2.
Circulation is 500 copies.
Order No. 54 /

ULYANOVSK MEDICO-BIOLOGICAL JOURNAL

№ 3
2022

Editor-in-chief – V.I. Midlenko (Ulyanovsk, Russia)
Vice editor-in-chief – M.V. Balykin (Ulyanovsk, Russia)
Vice editor-in-chief – A.M. Shutov (Ulyanovsk, Russia)
Executive editor – I.V. Antipov (Ulyanovsk, Russia)

Editorial Team

C. Allegra (Rome, Italia)
P.L. Antignani (Rome, Italia)
E.S. Belozerov (St. Petersburg, Russia)
S.K. Gantsev (Ufa, Russia)
V.I. Gorbunov (Ulyanovsk, Russia)
A.V. Zhestkov (Samara, Russia)
A.G. Zarif'yan (Bishkek, Kyrgyzstan)
V.V. Zinchuk (Grodno, Belarus)
L.V. Kakturskiy (Moscow, Russia)
M.V. Kukosh (N. Novgorod, Russia)
E.I. Maevskiy (Pushchino, Russia)
A.L. Maksimov (Magadan, Russia)
A.B. Peskov (Ulyanovsk, Russia)
N.I. Potaturkina-Nesterova (Ulyanovsk, Russia)
A. Scuderi (Sorocaba, Brazil)
S.I. Soroko (St. Petersburg, Russia)
M.M. Tanashyan (Moscow, Russia)
E.M. Frantsiyants (Rostov-on-Don, Russia)
B.P. Churakov (Ulyanovsk, Russia)
A.S. Shanazarov (Bishkek, Kyrgyzstan)

Editorial Board

I.I. Antoneeva (Ulyanovsk, Russia)
Sh.K. Batyrkhanov (Almaty, Kazakhstan)
L.A. Belova (Ulyanovsk, Russia)
M.I. Bocharov (Ukhta, Russia)
V.Kh. Gabitov (Bishkek, Kyrgyzstan)
T.P. Gening (Ulyanovsk, Russia)
Y.P. Gerasimenko (St. Petersburg, Russia)
N.G. Kamyshev (St. Petersburg, Russia)
S.G. Krivoshechekov (Novosibirsk, Russia)
A.I. Kuselman (Ulyanovsk, Russia)
E.N. Madzhidova (Tashkent, Uzbekistan)
V.V. Mashin (Ulyanovsk, Russia)
A.I. Midlenko (Ulyanovsk, Russia)
A.V. Ovechkin (Louisville, USA)
V.E. Radzinsky (Moscow, Russia)
V.V. Rodionov (Moscow, Russia)
E.M. Romanova (Ulyanovsk, Russia)
V.I. Ruzov (Moscow, Russia)
Y.V. Saenko (Ulyanovsk, Russia)
L.I. Trubnikova (Ulyanovsk, Russia)
M.M. Filippov (Kiev, Ukraine)
E. Huseyin (Kirsehir, Turkey)
A.L. Charyshkin (Ulyanovsk, Russia)

СОДЕРЖАНИЕ

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА	6
Дохоян А.Ю., Глущенко М.В., Орлов Ю.Л. РЕКОНСТРУКЦИЯ ГЕННОЙ СЕТИ ШИЗОФРЕНИИ ДЛЯ ПОИСКА ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ	6
Голубцова Т.С., Юдина Е.Е., Прибылова С.А., Керова И.Р., Песков А.Б., Волков М.А., Хохлов М.П., Костишко Б.М. ПРЕДИКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЬЮТЕРНОЙ ЭЛЕКТРОАКУПНКТУРЫ В ЛЕЧЕНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ	23
Макарова Н.В., Бусалаева Е.И., Туйзарова И.А., Визе-Хрипунова М.А. СЛОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ	35
Марковцева М.В., Згуральская Е.Н. ХРОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ ПОЧЕК У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ И ИХ ВЫЖИВАЕМОСТЬ	43
Панченко И.С., Родионов В.В., Панченко С.В., Шарафутдинов М.Г. ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АНДРОГЕН-РЕЦЕПТОР-ПОЗИТИВНОГО РАКА В ГРУППЕ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	49
Сидорова Ю.Д., Давидян Л.Ю., Богдасаров А.Ю. ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ГОМОЦИСТЕИНА У ЖЕНЩИН С СИМПТОМНОЙ МИОМОЙ МАТКИ	61
Абоян И.А., Федотова Е.Н., Максимов А.Ю., Комарова Е.Ф. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ APC, GSTP1 И RASSF1A КАК МАРКЕРОВ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	73
ФИЗИОЛОГИЯ	86
Иванов А.Б., Борукаева И.Х., Абазова З.Х., Моллов А.А., Кипкеева Т.Б., Шокуева А.Г., Шхагумов К.Ю. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ЦИРКУЛЯТОРНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ПОДРОСТКОВ ПРИ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ	86
Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Дремза И.К., Носович М.А., Храповицкая К.А. ХАРАКТЕРИСТИКА НАРУШЕНИЙ ПРООКСИДАНТНО-ОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА У КРЫС С ИШЕМИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА	97
Купцова А.М., Бугров Р.К., Зиятдинова Н.И., Зефирова Т.Л. ОСТРЕЙШАЯ СТАДИЯ ИНФАРКТА МИОКАРДА: ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ If НА ИЗОЛИРОВАННОЕ СЕРДЦЕ КРЫС	106
Виноградов А.А., Симакова Е.С. ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГИДРАТАЦИИ И ГИСТОСТРУКТУРЫ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ	120
Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Сурикова Е.И., Шлык С.В., Нескубина И.В., Погорелова Ю.А., Трепитаки Л.К., Котиева И.М., Шумарин К.А. ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ НЕКОТОРЫХ ГОРМОНОВ И РЕЦЕПТОРОВ В ОПУХОЛИ И ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ЗОНЕ У САМОК МЫШЕЙ BALB/C NUDE С ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННЫМ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМ ПРОЦЕССОМ, РАЗВИВАЮЩИМСЯ НА ФОНЕ ПЕРВИЧНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА	129
Погодина Е.С., Расторгуева Е.В., Юрова Е.В., Белобородов Е.А., Сугак Д.Е., Саенко Ю.В., Фомин А.Н., Волков М.А., Костишко Б.М. АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ И СЕТЕЙ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ НА РАЗВИТИЕ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК	142
ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ	156
Дьякова Н.А. ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ПОЛЫНИ ГОРЬКОЙ ЕСТЕСТВЕННОГО ФИТОЦЕНОЗА ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ	156

CONTENTS

CLINICAL MEDICINE	6
Dokhoyan A.Yu., Glushchenko M.V., Orlov Yu.L. RECONSTRUCTION OF SCHIZOPHRENIA GENE NETWORK IN SEARCH FOR TARGET GENES	6
Golubtsova T.S., Yudina E.E., Pribylova S.A., Kerova I.R., Peskov A.B., Volkov M.A., Khokhlov M.P., Kostishko B.M. PREDICTORS OF COMPUTERIZED ELECTROACUPUNCTURE EFFICACY IN BRONCHIAL ASTHMA TREATMENT	23
Makarova N.V., Busalaeva E.I., Tuyzarova I.A., Vize-Khripunova M.A. PULMONARY EMBOLISM: CHALLENGES IN CLINICAL DIAGNOSIS	35
Markovtseva M.V., Zgural'skaya E.N. CHRONIC KIDNEY DISEASE IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHATIC LEUKEMIA AND THEIR SURVIVABILITY	43
Panchenko I.S., Rodionov V.V., Panchenko S.V., Sharafutdinov M.G. PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF ANDROGEN RECEPTOR-POSITIVE CANCER IN THE TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER GROUP	49
Sidorova Yu.D., Davidyan L.Yu., Bogdasarov A.Yu. HOMOCYSTEINE LEVELS IN WOMEN WITH SYMPTOMATIC UTERINE FIBROIDS	61
Aboyan I.A., Fedotova E.N., Maksimov A.Yu., Komarova E.F. EFFECTIVENESS OF EVALUATION OF APC, GSTP1 AND RASSF1A METHYLATION LEVEL AS A PROSTATE CANCER MARKER	73
PHYSIOLOGY	86
Ivanov A.B., Borukaeva I.Kh., Abazova Z.Kh., Molov A.A., Kipkeeva T.B., Shokueva A.G., Shkhagumov K.Yu. COMPARATIVE ANALYSIS OF BRAIN BIOELECTRICAL ACTIVITY AND CIRCULATORY SUPPLY IN ADOLESCENTS WITH ACUTE HYPOXIA	86
Bon' E.I., Maksimovich N.Ye., Dremza I.K., Nosovich M.A., Khrapovitskaya K.A. DISTURBANCE OF PRO-OXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN RATS WITH CEREBRAL ISCHEMIA	97
Kuptsova A.M., Bugrov R.K., Ziyatdinova N.I., Zefirov T.L. ACUTE PHASE OF MYOCARDIAL INFARCTION: EFFECT OF IF-CURRENT BLOCKADE ON ISOLATED RAT HEART	106
Vinogradov A.A., Simakova E.S. AGE-RELATED CHANGES IN RAT LIVER HYDRATION AND HISTOSTRUCTURE	120
Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Surikova E.I., Shlyk S.V., Neskubina I.V., Pogorelova Yu.A., Trepitaki L.K., Kotieva I.M., Shumarin K.A. LEVELS OF CERTAIN HORMONES AND RECEPTORS IN TUMOR AND PERITUMORAL AREA IN BALB/C NUDE FEMALE MICE WITH MULTIPLE PRIMARY MALIGNANT PROCESS DEVELOPING ON THE BACKGROUND OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCY	129
Pogodina E.S., Rastorgueva E.V., Yurova E.V., Beloborodov E.A., Sugak D.E., Saenko Yu.V., Fomin A.N., Volkov M.A., Kostishko B.M. IMPACT OF THE GENE EXPRESSION LEVEL AND INTERMOLECULAR INTERACTION NETWORKS ON RADIORESISTANCE OF TUMOR CELLS	142
GENERAL BIOLOGY	156
D'yakova N.A. ULTIMATE COMPOSITION OF NATURAL WORMWOOD IN VORONEZH REGION	156

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.895.8; 577.218; 577.21; 611.811.013; 57.081.23
DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-6-22

РЕКОНСТРУКЦИЯ ГЕННОЙ СЕТИ ШИЗОФРЕНИИ ДЛЯ ПОИСКА ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ

А.Ю. Дохойян, М.В. Глущенко, Ю.Л. Орлов

ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), г. Москва, Россия

На данный момент шизофрения является плохо изученным заболеванием с многообразием симптомов, характерных для иных патологических состояний, и сложной диагностикой без однозначного лечения. Для поиска мишеней терапии необходима реконструкция генной сети заболевания, кластеризация генов в сети, выявление ключевых генов, обладающих наибольшим числом контактов в сети, нахождение категорий генных онтологий.

Цель исследования – анализ генов, связанных с шизофренией, определение их положения в генной сети, установление их взаимосвязи, распознавание ключевых при протекании болезни, оценка их перспективности в качестве генов-мишеней для лекарственных воздействий.

Материалы и методы. С помощью онлайн-инструментов биоинформатики OMIM, PANTHER и DAVID, GeneMANIA и STRING-DB, GeneCards был проанализирован актуальный на данный момент массив данных, связанных с шизофренией, рассчитаны категории генных онтологий для списка из 200 генов, такие как биологические процессы, молекулярные функции и клеточные компартменты, которые отражают влияние шизофрении на передачу нейронных импульсов, визуализированы и построены генные сети, содержащие выявленные ключевые объекты и их взаимосвязи, выделен сильно связанный кластер, включающий гены BDNF, SLC6A4, HTR2A, HTR2C, CHRM1, SRC, AKT, YWHAЕ, DISC1, DRD2, COMT, NDEL1, NOS1, CAMK28 и др., определены наиболее релевантные гены шизофрении: COMT, DISC1, HTR2A, NRXN1.

Результаты. Биологическая интерпретация полученных результатов все еще остается сложной задачей, так как шизофрения является генетически сложной болезнью с большой расходимостью причин и условий возникновения. Анализ генов, связанных с шизофренией, определение их положения в генной сети (связанности) позволяет выявить их взаимосвязь, установить, какие из них являются ключевыми при протекании болезни, оценить их перспективность в качестве генов-мишеней для лекарственных воздействий.

Ключевые слова: биоинформатика, шизофрения, реконструкция генных сетей, генные онтологии.

Введение. Шизофрения – тяжелое полиморфное расстройство психики (или группа психических расстройств), для которого характерен распад процессов мышления и эмоциональных реакций [1]. По данным Global Health Data Exchange (GHDX) за 2019 г., шизофренией страдают примерно 0,32 % людей во всем мире, среди взрослых этот показатель составляет 0,45 % [2]. У мужчин шизофрения диагностируется немного чаще, чем у женщин (1,4:1) [3], причем пик заболеваемости прихо-

дится на 20–28 лет, в то время как у женщин имеется тенденция к более позднему началу болезни (26–32 года) [4]. В детском возрасте (до 13 лет) шизофрения проявляется гораздо реже (1:10 000 детей [5] или 1:30 000 детей [6]), также редки случаи поздней (40–60 лет) и очень поздней (после 60 лет) шизофрении, составляющие 15 % и 4 % соответственно [7].

Единой причины развития шизофрении пока не установлено. Считается, что заболевание может развиваться в результате сложного

комплексного взаимодействия генов и факторов окружающей среды [8–10]. Генетический вклад в развитие шизофрении составляет примерно 70–80 % [11], при этом разделить влияние генов и факторов окружающей среды достаточно сложно [12]. Отягощенная наследственность является одной из причин заболевания. Если болен один из родителей, риск развития заболевания у ребенка составляет около 13 %, если больны оба – почти 50 % [13]. Тем не менее гетерогенность фенотипических характеристик заболевания даже у родственников и слабое влияние каждого конкретного генетического варианта на риск развития болезни указывают на сложные механизмы наследования [14–16]. Также предполагается возможная генетическая корреляция между шизофренией и наличием других психических расстройств: расстройств аутистического спектра, биполярного расстройства, большого депрессивного расстройства, синдрома дефицита внимания и гиперактивности [17].

Таким образом, шизофрения – актуальная медицинская проблема. Активный исследовательский интерес к данной патологии обусловлен неуклонным ростом частоты ее встречаемости (распространение заболевания в популяции выросло с 13,1 млн в 1990 г. до 20,9 млн в 2016 г. [18]); инвалидизирующим влиянием на здоровье, психоэмоциональную, профессиональную сферы жизни пациентов; сложностью диагностики и отсутствием однозначного лечения. Реконструкция и анализ структуры генных сетей с помощью биоинформатических методов позволяет выявить ключевые гены заболевания. Это необходимо для определения эффективности диагностики и терапии, а также дальнейшего подбора и исследования потенциальных вариантов фармакологических веществ, способных взаимодействовать с генами-мишенями, что в перспективе приведет к созданию лекарственных средств на их основе. Решение этих задач должно начаться со сбора списка генов, ассоциированных с развитием шизофрении, анализа категорий генных онтологий для такого списка и реконструкции генной сети. Для ключевых генов заболевания, полученных с помощью анализа структуры генной сети, будут рассмотрены варианты поиска лекарственных

средств (веществ, взаимодействующих с данным белком).

Цель исследования. Анализ генов, связанных с шизофренией, определение их положения в генной сети (связанности), установление их взаимосвязи, распознавание ключевых при протекании болезни, оценка их перспективности в качестве генов-мишеней для лекарственных воздействий.

Материалы и методы. Составление списка генов, связанных с наследственной предрасположенностью к шизофрении, осуществлялось с использованием интернет-ресурса OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man, <https://omim.org/>). Поиск проводился по ключевому слову “schizophrenia” (шизофрения). Полученный список уточнялся и отфильтровывался вручную. Использовались только белок-кодирующие гены. Дополнительно применялся онлайн-ресурс GeneCards.org для уточнения генов, ассоциированных с заболеванием.

С помощью ресурсов PANTHER (Protein ANalysis THrough Evolutionary Relationships, <http://pantherdb.org/>) и DAVID (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery, <https://david.ncifcrf.gov/>) был выполнен анализ обогащения категорий генных онтологий для заданного списка генов. Использовались стандартные статистические критерии, параметры описаны в тексте. Применялась корректировка на множественность гипотез (Бонферрони).

Реконструкция сети взаимодействий генов шизофрении проводилась с помощью двух ресурсов для оценки оптимальных возможностей обоих ресурсов для одного и того же списка генов: GeneMANIA (<https://genemania.org/>) и STRING-DB (<https://string-db.org/>). Рисунки были построены в графическом формате.

Для определения наиболее релевантных генов шизофрении использовался интернет-ресурс GeneCards (<https://www.genecards.org/>). Поиск проводился по ключевому слову “schizophrenia” (шизофрения).

Таким образом, была построена сеть для исследования функциональной и молекулярной связи генов в контексте заболевания.

Результаты. Используя ресурс OMIM, по запросу “schizophrenia” был получен актуаль-

ный список из 256 наименований генов. Из набора исходных генов часть идентификаторов была не распознана системой или не могла быть определена в геноме человека однозначно. В итоге был получен список из 200 наименований генов. Использование информации о мутациях – наследственной информации в связи с заболеванием из базы OMIM – служит только основой для составления списка генов. Получившийся список можно использовать для поиска и анализа определенных генов, мутации которых часто встречаются при шизофрении, в целях нахождения более релевантных генов, передающих сигнал в сети.

Описание общих категорий генных онтологий позволяет выявить общие сущности в списке генов, например для молекулярных функций или типов структур белка, чего нельзя ожидать только от упоминания генов в связи с заболеванием. Выполнен анализ генных онтологий для того же списка генов с помощью ресурса PANTHER. Для получения наиболее информативных результатов значения p ограничились до $1,00E-07$ (коррекция Бонферрони). Таким образом, с помощью PANTHER построена таблица онтологий для категорий биологических процессов (табл. 1).

Таблица 1
Table 1

**Категории генных онтологий для генов шизофрении по PANTHER
(биологические процессы), порог значимости $1,00E-07$**

**Gene ontology categories for schizophrenia genes by PANTHER (biological processes),
significance threshold $1.00E-07$**

Категории генных онтологий для биологических процессов Gene ontology categories for biological processes	Класс онтологий GO Ontology class	Число генов Number of genes	FC*	p (Бонферрони) (Bonferroni)
Регуляция процессов в многоклеточном организме Regulation of multicellular organismal process	GO:0051239	54	3,27	3,21E-12
Регулирование транспортировки Regulation of transport	GO:0051049	43	3,95	1,88E-11
Регулирование локализации Regulation of localization	GO:0032879	53	3,09	7,00E-11
Позитивная регуляция биологического процесса Positive regulation of biological process	GO:0048518	82	2,11	8,78E-11
Модуляция химической синаптической передачи Modulation of chemical synaptic transmission	GO:0050804	22	8,30	4,90E-10
Регуляция трансинаптической сигнализации Regulation of trans-synaptic signaling	GO:0099177	22	8,28	5,13E-10
Положительная регуляция метаболического процесса Positive regulation of metabolic process	GO:0009893	61	2,58	7,29E-10
Регулирование каталитической активности Regulation of catalytic activity	GO:0050790	47	3,18	1,72E-09

Категории генных онтологий для биологических процессов Gene ontology categories for biological processes	Класс онтологий GO Ontology class	Число генов Number of genes	FC*	p (Бонферрони) (Bonferroni)
Позитивная регуляция клеточного процесса Positive regulation of cellular process	GO:0048522	75	2,10	6,88E-09
Регуляция уровня нейротрансмиттеров Regulation of neurotransmitter levels	GO:0001505	16	11,68	1,39E-08
Синаптический сигналинг Synaptic signaling	GO:0099536	21	7,43	1,49E-08
Сигналинг Signaling	GO:0023052	70	2,16	2,40E-08
Регуляция молекулярной функции Regulation of molecular function	GO:0065009	52	2,70	2,80E-08
Клеточная коммуникация Cell communication	GO:0007154	70	2,12	7,93E-08

Примечание. Таблица ограничена до значений ненормированного p-value < 1,00E-07; * – диапазон изменения.

Note. The table was restricted to non-normalized p-value < 1.0E-07; * – fold change.

Приведенные в табл. 1 данные показывают, что при шизофрении одними из значимых категорий для биологических процессов являются модуляция химической синаптической передачи (гены *HTR2A*, *NRXN1*, *DISC1*, *DRD3* и др.), регуляция трансинаптической сигнализации (*HTR2A*, *NRXN1*, *DISC1*, *DRD3*

и др.), регуляция уровня нейротрансмиттеров (*DBH*, *HTR2A*, *COMT*, *NRXN1* и др.), которые указывают на влияние шизофрении на нейронную передачу сигнала.

Далее с помощью PANTHER была построена таблица онтологий для молекулярных функций (табл. 2).

Таблица 2
Table 2

**Категории генных онтологий для генов шизофрении по PANTHER
(молекулярные функции), порог значимости 1,00E-02**

**Gene ontology categories for schizophrenia genes by PANTHER (molecular functions),
significance threshold 1.00E-02**

Категории генных онтологий для молекулярных функций Gene ontology categories for molecular functions	Класс онтологий GO Ontology class	Число генов Number of genes	FC*	p (Бонферрони) (Bonferroni)
Активность регулятора ионных каналов Ion channel regulator activity	GO:0099106	9	10,11	1,32E-03
Активность регулятора канала Channel regulator activity	GO:0016247	9	9,77	1,74E-03

Категории генных онтологий для молекулярных функций Gene ontology categories for molecular functions	Класс онтологий GO Ontology class	Число генов Number of genes	FC*	p (Бонферрони) (Bonferroni)
Связывание кальмодулина Calmodulin binding	GO:0005516	10	7,92	2,51E-03
Активность рецепторов нейротрансмиттеров Neurotransmitter receptor activity	GO:0030594	8	11,22	2,82E-03
Активность трансмембранных сигнальных рецепторов Transmembrane signaling receptor activity	GO:0004888	25	2,98	2,84E-03
Активность молекулярного трансдуктора Molecular transducer activity	GO:0060089	27	2,76	4,15E-03
Активность сигнальных рецепторов Signaling receptor activity	GO:0038023	27	2,76	4,15E-03
Связывание сигнальных рецепторов Signaling receptor binding	GO:0005102	27	2,69	6,69E-03
Связывание серотонина Serotonin binding	GO:0051378	4	52,81	7,46E-03
Связывание аминов Amine binding	GO:0043176	4	48,75	9,70E-03

Примечание. Таблица ограничена до значений ненормированного p-value < 1,00E-02; * – диапазон изменения.

Note. The table was restricted to non-normalized p-value < 1.00E-02; * – fold change.

Данные табл. 2 позволяют выявить наиболее значимые категории молекулярных функций в проявлении шизофрении: активность регулятора ионных каналов (гены *NOS1*, *NRXN1*, *AKT1*, *YWHAЕ* и др.), связывание кальмодулина (*NOS1*, *AKT1*, *CAMK2B*, *PLCB* и др.), активность рецепторов нейротрансмиттеров (*HTR2A*, *DRD3*, *HTR2C* и др.) и активность трансмембранных сигнальных рецепторов (*HTR2A*, *NRXN1*, *DRD3*, *HTR2C* и др.), что свидетельствует о влиянии шизофрении на нейромедиаторы.

Далее с помощью PANTHER была построена таблица онтологий для клеточных компартментов (табл. 3).

Согласно табл. 3 наиболее значимыми категориями клеточных компартментов явля-

ются синапс (гены *DBH*, *HTR2A*, *NRXN1*, *DISC1* и др.), клеточный стык (*DBH*, *HTR2A*, *NRXN1*, *DISC1* и др.), проекция нейронов (*HTR2A*, *COMT*, *NRXN1*, *DISC1* и др.). Следует отметить также такую категорию с относительно невысоким уровнем значимости, как сомато-дендритный компартмент (*HTR2A*, *COMT*, *NRXN1*, *APOE* и др.). Эти данные подтверждают, что шизофрения влияет на синапс и, следовательно, передачу нервного импульса.

Далее список из 200 генов человека был загружен через интерфейс DAVID для поиска значимых категорий генных онтологий для этой группы генов. Было распознано 129 идентификаторов (табл. 4).

Таблица 3
Table 3**Категории генных онтологий для генов шизофрении по PANTHER
(клеточные компартменты), порог значимости 1.00E-04****Gene ontology categories for schizophrenia genes by PANTHER (cellular compartments),
significance threshold 1,00E-04**

Категории генных онтологий для клеточных компартментов Gene ontology categories for cellular compartments	Класс онтологий GO Ontology class	Число генов Number of genes	FC*	р (Бонферрони) (Bonferroni)
Синапс Synapse	GO:0045202	41	4,92	1,11E-14
Клеточный стык Cell junction	GO:0030054	47	3,56	4,51E-12
Глутаматергический синапс Glutamatergic synapse	GO:0098978	19	9,18	9,45E-10
Постсинапс Postsynapse	GO:0098794	22	5,69	1,06E-07
Проекция нейронов Neuron projection	GO:0043005	32	3,74	1,23E-07
Проекция клетки, ограниченная плазматической мембраной Plasma membrane bounded cell projection	GO:0120025	41	2,93	2,48E-07
Проекция клеток Cell projection	GO:0042995	42	2,86	2,64E-07
Периферия клетки Cell periphery	GO:0071944	72	1,78	1,67E-05
Интегральный компонент плазматической мембраны Integral component of plasma membrane	GO:0005887	32	3,05	1,70E-05
Дендрит Dendrite	GO:0030425	19	4,88	2,66E-05
Дендритное дерево Dendritic tree	GO:0097447	19	4,86	2,79E-05
Сомато-дендритный компартмент Somatodendritic compartment	GO:0036477	22	4,15	3,02E-05
Пресинапс Presynapse	GO:0098793	17	5,39	4,04E-05
Интегральный компонент пресинаптической мембраны Integral component of presynaptic membrane	GO:0099056	8	18,11	4,83E-05

Категории генных онтологий для клеточных компартментов Gene ontology categories for cellular compartments	Класс онтологий GO Ontology class	Число генов Number of genes	FC*	p (Бонферрони) (Bonferroni)
Внутренний компонент плазматической мембраны Intrinsic component of plasma membrane	GO:0031226	32	2,91	5,21E-05
Плазматическая мембрана plasma membrane	GO:0005886	67	1,80	7,81E-05
Внутренний компонент пресинаптической мембраны Intrinsic component of presynaptic membrane	GO:0098889	8	16,46	9,57E-05

Примечание. Таблица ограничена до значений ненормированного p-value < 1,00E-04; * – диапазон изменения.

Note. The table was restricted to non-normalized p-value < 1.00E-04; * – fold change.

Таблица 4
Table 4

Категории генных онтологий для генов шизофрении по DAVID, порог значимости 1,0E-04

Gene ontology categories for schizophrenia genes by DAVID, significance threshold 1.0E-04

Группа онтологий Ontology group	Категория онтологий Ontology category	Число генов Number of genes	p-value (значимость) p-value (significance)	Нормированное p по Бенджамини Normalized p (Benjamini)
UP_KEYWORDS	Synapse	14	5,4E-8	6,3E-6
GOTERM_CC_DIRECT	Cell junction	14	3,2E-6	1,4E-4
GOTERM_CC_DIRECT	Postsynaptic membrane	10	4,6E-6	1,6E-4
UP_KEYWORDS	Cell junction	15	1,3E-5	6,1E-4
UP_KEYWORDS	Postsynaptic cell membrane	8	4,7E-5	1,8E-3
GOTERM_BP_DIRECT	Lipoprotein metabolic process	8	3,3E-9	2,0E-6
GOTERM_MF_DIRECT	Lipid binding	8	4,4E-5	4,7E-3
GOTERM_BP_DIRECT	Visual learning	8	1,1E-8	4,7E-6
GOTERM_BP_DIRECT	Cellular calcium ion homeostasis	9	1,2E-7	1,8E-5
KEGG_PATHWAY	Neuroactive ligand-receptor interaction	14	9,5E-7	5,1E-5
SMART	SM01381	9	1,2E-6	1,0E-4

Группа онтологий Ontology group	Категория онтологий Ontology category	Число генов Number of genes	p-value (значимость) p-value (significance)	Нормированное p по Бенджамини Normalized p (Benjamini)
KEGG_PATHWAY	cAMP signaling pathway	11	1,1E-5	3,4E-4
GOTERM_CC_DIRECT	Plasma membrane	44	4,4E-5	1,0E-3
UP_KEYWORDS	Cell membrane	34	6,7E-5	2,2E-3
GOTERM_BP_DIRECT	Synapse assembly	8	1,0E-7	1,8E-5
KEGG_PATHWAY	Serotonergic synapse	8	6,2E-5	1,7E-3

Примечание. Таблица ограничена до значений ненормированного p-value < 1,0E-04; удалены категории (строки таблицы) для групп меньше 8 генов.

Note. The table was restricted to non-normalized p-value < 1.0E-04; categories (table rows) for groups of less than 8 genes are removed.

Приведенные в табл. 4 данные показывают, что наиболее значимыми категориями для генов шизофрении являются синапс (Synapse) (гены *HTR2A*, *DISC1*, *NRXN1*, *NOS1* и др.), клеточный стык (cell junction) (*HTR2A*, *DISC1*, *NOS1*, *NRXN1* и др.) и нейроактивное лиганд-рецепторное взаимодействие (Neuroactive ligand-receptor interaction) (*HTR2A*, *HTR2C*, *DRD3*, *CHRM1* и др.).

Таким образом, анализ категорий генных онтологий по PANTHER и DAVID для генов шизофрении подтверждает наличие категорий генных онтологий, связанных с синаптической сигнализацией и передачей межклеточных сигналов при помощи нейромедиаторов, что соответствует довольно распространенной гипотезе развития данного заболевания – катехоламиновой. Действительно, различные исследования показывают, что у многих больных шизофренией повышен уровень дофамина и серотонина в некоторых отделах мозга [19]. Были найдены часто встречаемые гены: *HTR2A*, *NRXN1*, *DISC1*, *DRD3*, *DBH*, *COMT*, *NOS1*, *AKT1*, *HTR2C*.

Для нахождения генов-мишеней использовались все результаты поиска в OMIM с запасом, при этом все гены не обязательно должны

были взаимодействовать друг с другом – часть генов не входит в сеть, не образует связей (редкие проявления заболевания, обусловленные наследственностью). На рис. 1 представлена генная сеть из 138 генов шизофрении, реконструированная с помощью GeneMANIA. Сеть включает 1767 взаимодействий, автоматически построенных по литературным данным. Гены в реконструированной сети имеют много взаимодействий разных типов, установленных как экспериментально, так и по косвенным данным. Автоматически сгенерированное изображение достаточно громоздко для восприятия, поэтому оно было отредактировано вручную (рис. 1). Сеть получилась достаточно связной, хотя связи выставлялись только по параметрам «коэкспрессия» и «белок-белковые взаимодействия». Снизу построенной сети находятся гены, которые являются статистически значимыми для шизофрении по данным GeneCards, – *COMT*, *DISC1*, *HTR2A*, *NRXN1*. Чуть выше – гены, имеющие наибольшее число связей с другими элементами, – *POMC*, *PLCB1*, *APP*, *YWHAE*. Справа расположены гены, которые являются основными генами-мишенями для лекарственных воздействий при терапии шизофрении, – *DRD2*, *BDNF*, *COMT*, *SRR*.

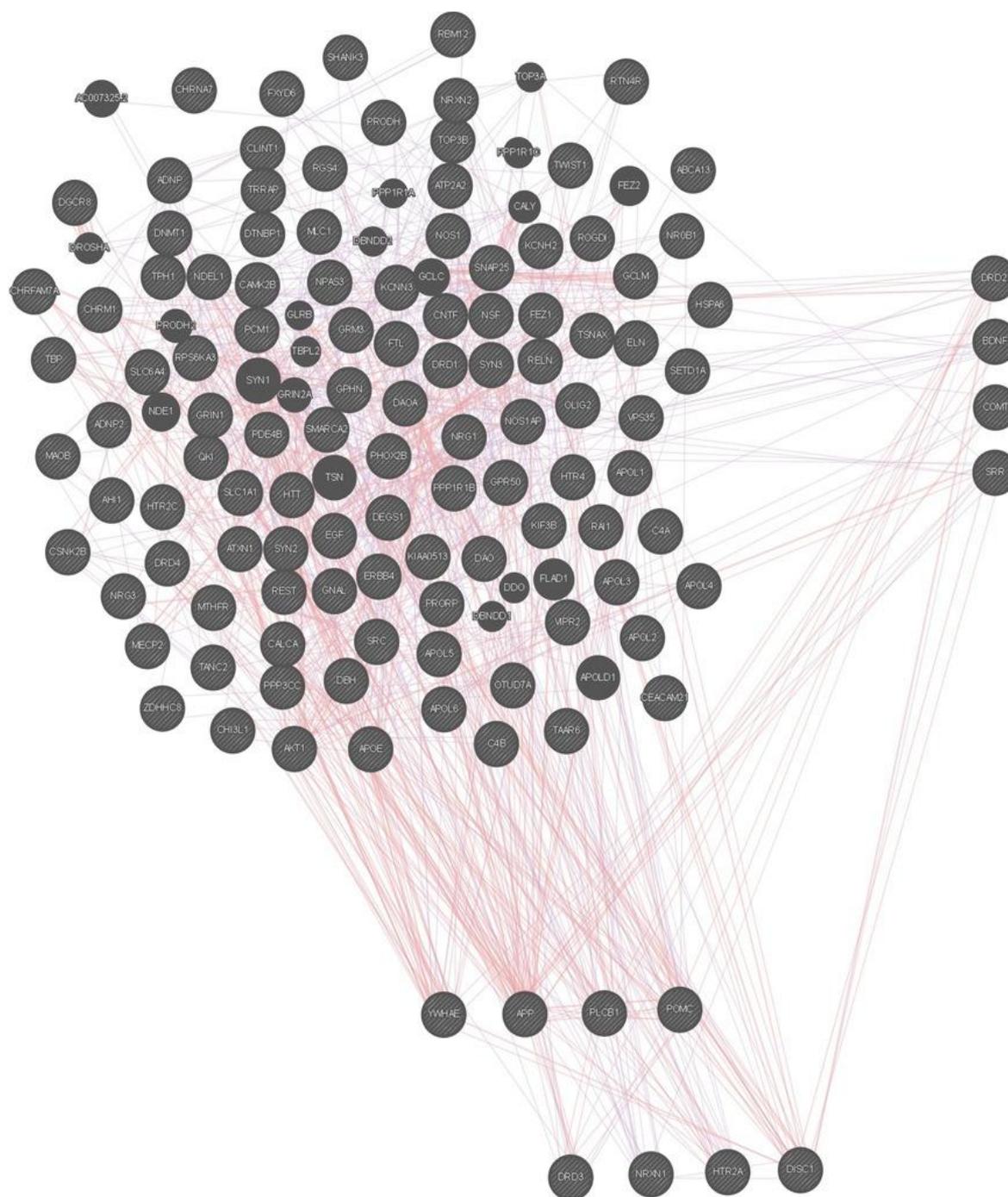


Рис. 1. Генная сеть генов шизофрении, реконструированная с помощью GeneMANIA

Fig. 1. Schizophrenia gene network reconstructed with GeneMANIA

На рис. 2 представлена реконструкция генной сети с помощью ресурса STRING-DB. STRING-DB распознал 136 генов из списка и построил сетевые структуры, функционально связанные с известными генами риска развития шизофрении. Первоначальный вариант реконструированной с помощью ресурса STRING-DB

сети оказался достаточно разреженным, некоторые объекты сети не контактировали с другими, что говорит об отсутствии взаимодействий между генами. Тем не менее в первичной реконструкции выделялся центральный плотно связанный кластер генов. Также можно увидеть более разреженную сеть второго порядка

и одиночные гены. Статистика по STRING-DB показала, что сеть имеет неслучайно большое число связей (со значимостью $<1,0E-16$), средняя степень связности узла сети составляет 9,43, коэффициент кластеризации – 0,487. Ри-

сунок из STRING-DB был перестроен с удалением несвязанных генов и с учетом анализа научных текстов, курируемых баз данных, экспериментально доказанных взаимодействий с максимальным уровнем достоверности (рис. 2).

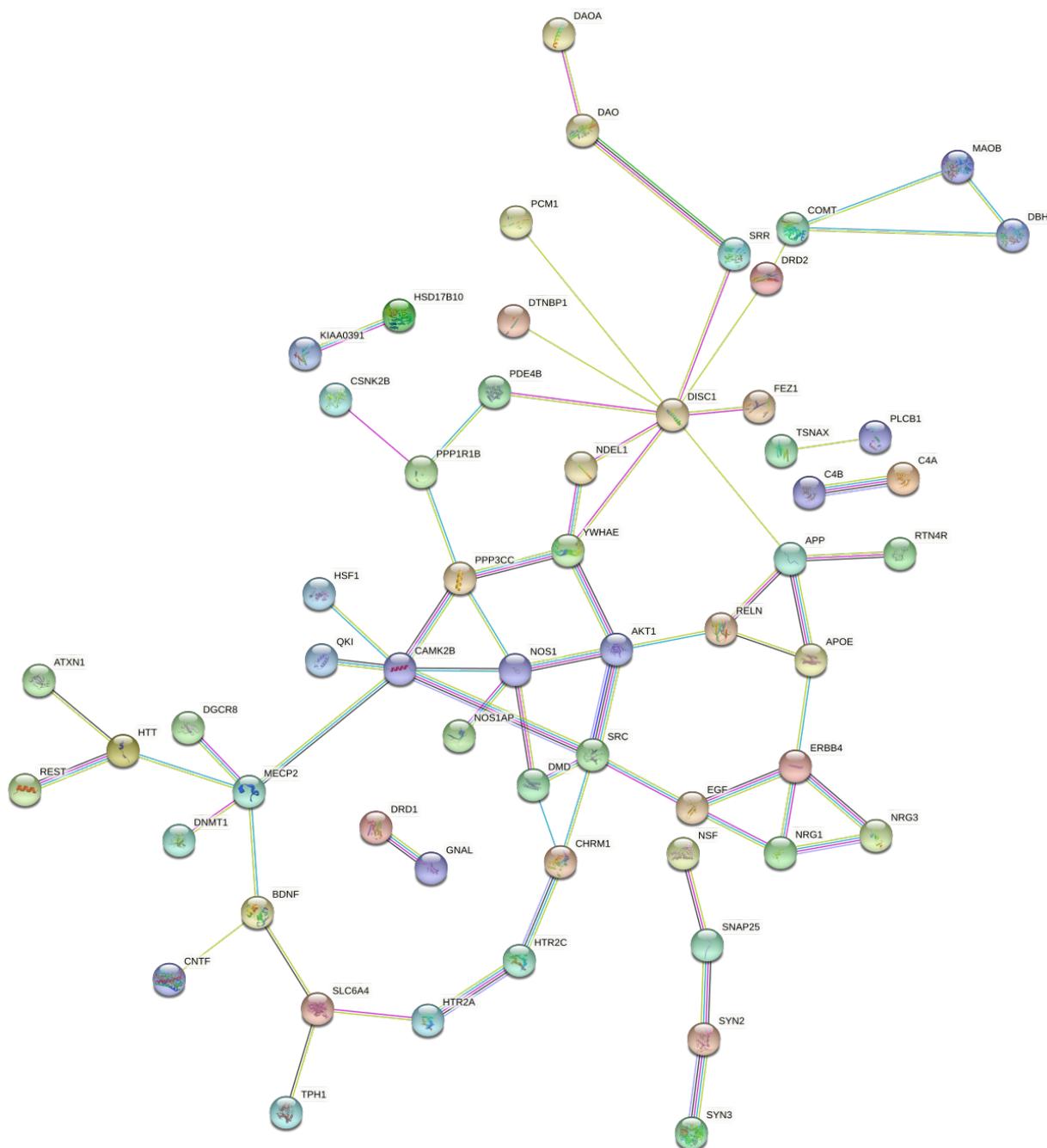


Рис. 2. Реконструкция сети взаимодействий генов шизофрении с помощью STRING-DB с учетом анализа научных текстов, курируемых баз данных, экспериментально доказанных взаимодействий. Связи соответствуют только надежно определенным взаимодействиям (оценка взаимодействия (interaction score) $>0,9$)

Fig. 2. Reconstruction of the schizophrenia gene interaction network using STRING-DB. Analysis of scientific texts, curated databases, and experimentally proven interactions was taken into account. Links correspond only to reliably defined interactions (interaction score >0.9)

Анализ полученной геной сети позволяет сделать вывод, что наибольшее количество связей имеет ген *DISC1*. Мутации, возникающие в данном гене, связаны как с шизофренией, так и с другими психическими расстройствами, например с биполярным расстройством. Также на рис. 2 можно выделить несколько кластеров, наибольший из которых включает гены *BDNF*, *SLC6A4*, *HTR2A*, *HTR2C*. Представленные гены участвуют в регуляции передачи синаптических сигналов и в передаче межклеточных сигналов при помощи нейромедиаторов.

Гены узлового, центрального расположения в сети (*NOS1*, *APOE*, *DISC1*, *SRC*) можно использовать как гены-мишени для терапии.

Многие гены в функциональном списке имеют молекулярные взаимодействия, обра-

зуют связанный кластер в сети, чего нельзя было ожидать по случайным причинам. Часть генов не имела связей в геной сети шизофрении, и они не показаны в сети (на рис. 2 число узлов в сети гораздо меньше, чем общее число в списке). Выявление молекулярных взаимодействий белковых продуктов, новых ассоциаций и является новым результатом. Таким образом, построение сети на основе максимально широкого исходного списка дает качественно новую информацию.

Для определения наиболее релевантных генов шизофрении рассмотрим структуру белков, кодируемых генами шизофрении. Поиск по ключевому слову “schizophrenia” (шизофрения) в базе данных GeneCards дал 10 118 генов. По оценке релевантности поиск вывел 10 наиболее значимых генов (табл. 5).

Таблица 5
Table 5

Наиболее значимые гены шизофрении по данным GeneCards
Most significant schizophrenia genes according to GeneCards

Ген Gene	Описание Description	Счет GIFtS* Score (GIFtS*)	Оценка релевантности** Relevance score**
<i>COMT</i>	Катехол-О-метилтрансфераза Catechol-O-Methyltransferase	50	47,12
<i>DISC1</i>	Нарушенный при шизофрении 1 белок Disrupted under Schizophrenia 1 Protein	44	40,58
<i>HTR2A</i>	5-гидрокситриптаминовый рецептор 2A 5-Hydroxytryptamine Receptor 2A	47	39,86
<i>NRXN1</i>	Нейрексин 1 Neurexin 1	47	38,01
<i>DISC2</i>	Нарушенный при шизофрении 2 белок Disrupted under Schizophrenia 2 Protein	19	37,70
<i>DRD3</i>	Дофаминовый рецептор D3 Dopamine Receptor D3	44	37,50
<i>DAOA</i>	Активатор оксидазы D-аминокислот D-Amino Acid Oxidase Activator	32	36,47
<i>SCZD1</i>	Расстройство шизофрении 1 Schizophrenia Disorder 1	3	36,26
<i>SCZD6</i>	Расстройство шизофрении 6 Schizophrenia Disorder 6	3	35,51
<i>SCZD3</i>	Расстройство шизофрении 3 Schizophrenia Disorder 3	3	35,50

Примечание. * – счет (оценка) функциональной аннотации гена GIFtS (GeneCards Inferred Functionality Scores) по представленности в базах данных, следуя [15]; ** – счет релевантности оценивает соответствие поисковому запросу в базе данных для шизофрении.

Note. * – GeneCards Inferred Functionality Scores (GIFtS) is taken from the databases according to [15]; ** – relevance score evaluates relevance to a search query in the database for schizophrenia.

Согласно табл. 5 наибольшей оценкой релевантности для шизофрении обладают гены *COMT*, *DISC1*, *HTR2A*, *NRXN1*, следовательно, они являются ключевыми.

COMT катализирует перенос метильной группы с S-аденозилметионина на катехоламины, включая нейротрансмиттеры допамин, эpineфрин и норэpineфрин. Это O-метилирование приводит к одному из основных путей деградации катехоламиновых трансмиттеров. *COMT* содержится в тканях в двух формах – растворимой (S-COMT) и мембраносвязанной (MB-COMT). Различия между S-COMT и MB-COMT заключаются в N-концевых участках. Несколько вариантов образуются благодаря использованию альтернативных сайтов инициации трансляции и промоторов (предоставлено RefSeq, сентябрь 2008 г.).

DISC1 участвует в регуляции многочисленных аспектов эмбрионального и взрослого нейрогенеза [20, 21]. Он необходим для пролиферации нейронных предшественников в вентрикулярной/субвентрикулярной зоне во время эмбрионального развития мозга и в зубчатой извилине гиппокампа у взрослых. Участвует в Wnt-опосредованной пролиферации нейронных предшественников в качестве положительного регулятора, модулируя активность GSK3B и количество CTNBN1 [20]. Играет роль модулятора сигнального пути АКТ-mTOR, контролирующего темп процесса интеграции новорожденных нейронов в ходе взрослого нейрогенеза, включая позиционирование нейронов, развитие дендритов и формирование синапсов. Ингибирует активацию АКТ-mTOR-сигнального пути при взаимодействии с CCDC88A. Регулирует миграцию рано родившихся предшественников гранулезных клеток в зубчатую извилину во время развития гиппокампа [21]. Ингибирует активность транскрипционного фактора ATF4 в нейронах, нарушая димеризацию ATF4 и связывание с ДНК.

HTR2A кодирует один из рецепторов серотонина. Мутации в этом гене связаны с предрасположенностью к шизофрении и обсессивно-компульсивному расстройству, а также с ответом на антидепрессант циталопрам у пациентов с большим депрессивным расстройством (БДР). У пациентов с БДР,

имеющих мутацию в интроне 2 этого гена, значительно снижен ответ на циталопрам, поскольку этот антидепрессант снижает экспрессию гена. Для этого гена было обнаружено несколько вариантов транскриптов, кодирующих различные изоформы (предоставлено RefSeq, сентябрь 2009 г.).

NRXN1 кодирует однопроходный мембранный белок типа I, принадлежащий к семейству нейрексинов. Нейрексины – это рецепторы клеточной поверхности, которые связывают нейролигины, образуя Ca(2+)-зависимые комплексы «нейрексин/нейролигин» в синапсах центральной нервной системы. Этот комплекс необходим для эффективной нейротрансмиссии и участвует в формировании синаптических контактов. Три члена этого семейства генов были подробно изучены и, по оценкам, генерируют более 3000 видов за счет использования двух альтернативных промоторов (альфа и бета) и обширного альтернативного сплайсинга в каждом члене семейства. Недавно для этого гена был идентифицирован третий промотор (гамма) в 3'-области. Мутации в гене связаны с синдромом Питта – Хопкинса-2 и могут способствовать предрасположенности к шизофрении (предоставлено RefSeq, август 2016 г.).

Обсуждение. Таким образом, шизофрения – это генетически сложная болезнь, этиология которой представляет огромный набор возможных взаимодействий генетических рисков и окружающих факторов. На данном этапе развития медицины это заболевание является неизлечимым, однако длительное и последовательное проведение комплексной терапии позволяет достичь стойкой продолжительной ремиссии. Существующие методы терапии носят скорее заместительный характер (позволяют продлить время жизни пациента и улучшить ее качество) и не направлены на устранение непосредственно причины заболевания, что свидетельствует о необходимости проводить дальнейшие исследования генетических основ болезни. В настоящее время происходит активное накопление генетических данных в области изучения шизофрении. Анализ литературы (PubMed) показал продолжающийся рост публикаций по данной теме, всего с 1921 г. по настоящее время (2022 г.)

опубликовано 154 159 исследований, что свидетельствует о сохраняющемся интересе к проблемам, связанным с заболеванием.

Составление списка ключевых генов, ассоциированных с развитием шизофрении, анализ категории генных онтологий для этого списка и реконструкция генных сетей позволяют лучше понять генез болезни, выбрать гены-мишени для лекарственных воздействий, модифицирующих степень выраженности, а также предложить новые варианты лечения. Применение полного спектра экспериментальных и компьютерных методов способно уже в ближайшем будущем приблизить создание лекарственных средств, облегчающих состояние больных шизофренией или даже, возможно, полностью предотвращающих появление этой болезни.

Заключение. Установлено, что шизофрения связана с множеством генных онтологий,

таких как биологические процессы (модуляция химической синаптической передачи, регуляция транссинаптической сигнализации, регуляция уровня нейротрансмиттеров), молекулярные функции (активность регулятора ионных каналов, связывание кальмодулина, активность рецепторов нейротрансмиттеров, активность трансмембранных сигнальных рецепторов), клеточные компартменты (синапс, клеточный стык, проекция нейронов, соматодендритный компартмент).

Построены и проанализированы генные сети, отобраны входящие в кластеры гены, которые можно использовать как гены-мишени: *NOS1*, *APOE*, *DISC1*, *SRC*.

Определены гены-мишени для шизофрении с наибольшей релевантностью: *COMT* (47,12), *DISC1* (40,58), *HTR2A* (39,86), *NRXN1* (38,01).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Schizophrenia: Concise Medical Dictionary. Oxford University Press. 2010. URL: <https://www.oxfordreference.com/view/10.1093/acref/9780199557141.001.0001/acref-9780199557141-e-9060> (дата обращения: 12.02.2022). DOI: 10.1093/acref/9780199557141.001.0001.
2. Institute of Health Metrics and Evaluation (IHME). Global Health Data Exchange (GHDx). URL: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/27a7644e8ad28e739382d31e77589dd7> (дата обращения: 12.02.2022).
3. Picchioni M.M., Murray R.M. Schizophrenia. *BMJ*. 2007; 335 (7610): 91–95. URL: <https://www.bmj.com/content/335/7610/91> (дата обращения: 12.02.2022). DOI: 10.1136/bmj.39227.616447.BE.
4. Castle D., Wesseley S., Der G., Murray R.M. The incidence of operationally defined schizophrenia in Camberwell 1965–84. *British Journal of Psychiatry: journal Royal College of Psychiatrists*. 1991; 159: 790–794. URL: <https://www.cambridge.org/core/journals/the-british-journal-of-psychiatry/article/abs/incidence-of-operationally-defined-schizophrenia-in-camberwell-196584/6FD5AA8394856650FE3004A71B49A564> (дата обращения: 12.02.2022). DOI: 10.1192/bjp.159.6.790.
5. Gonthier M., Lyon M.A. Childhood-onset schizophrenia: An overview. *Psychology in the Schools*. 2004; 41 (7): 803–811. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pits.20013> (дата обращения: 13.02.2022). DOI: 10.1002/pits.20013.
6. Mattai A.K., Hill J.L., Lenroot R.K. Treatment of early-onset schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*. 2010; 23 (4): 304–310. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20502331> (дата обращения: 13.02.2022). DOI: 10.1097/YCO.0b013e32833b027e.
7. Howard R., Rabins P.V., Seaman M.V., Jeste D.V. Late-onset schizophrenia and very-late-onset schizophrenia-like psychosis: an international consensus. The International Late-Onset Schizophrenia Group. *Am. J. Psychiatry*. 2000; 157 (2): 172–178. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10671383> (дата обращения: 13.02.2022). DOI: 10.1176/appi.ajp.157.2.172.
8. Owen M.J., Sawa A., Mortensen P.B. Schizophrenia. *Lancet*. 2016; 388 (10039): 86–97. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26777917/> (дата обращения: 14.02.2022). DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01121-6.
9. Mullin A.P., Gokhale A., Moreno-De-Luca A., Sanyal S., Waddington J.L., Faundez V. Neurodevelopmental disorders: mechanisms and boundary definitions from genomes, interactomes and proteomes. *Transl. Psychiatry*. 2013; 3 (12): e329. URL: <https://www.nature.com/articles/tp2013108> (дата обращения: 14.02.2022). DOI: 10.1038/tp.2013.108.

10. Davis J., Eyre H., Jacka F.N., Dodd S., Dean O., McEwen S., Debnath M., McGrath J., Maes M., Amminger P., McGorry P.D., Pantelis C., Berk M. A review of vulnerability and risks for schizophrenia: Beyond the two hit hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2016; 65: 185–194. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27073049> (дата обращения: 14.02.2022). DOI: 10.1016/j.neubiorev.2016.03.017.
11. Van de Leemput J., Hess J.L., Glatt S.J., Tsuang M.T. Genetics of Schizophrenia: Historical Insights and Prevailing Evidence. *Adv Genet.* 2016; 96: 99–141. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27968732> (дата обращения: 16.02.2022). DOI: 10.1016/bs.adgen.2016.08.001.
12. Torrey E.F., Yolken R.H. Schizophrenia as a pseudogenetic disease: A call for more gene-environmental studies. *Psychiatry Res.* 2019; 278: 146–150. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31200193> (дата обращения: 16.02.2022). DOI: 10.1016/j.psychres.2019.06.006.
13. Combs D.R., Mueser K.T., Gutierrez M.M. Chapter 8: Schizophrenia: Etiological considerations. In: Hersen M., Beidel D.C. *Adult psychopathology and diagnosis*. 6th ed. John Wiley & Sons; 2011.
14. Hassett A., Ames D., Chiu E. *Psychosis in the Elderly*. London: Taylor and Francis; 2005.
15. Sullivan P.F., Kendler K.S., Neale M.C. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Archives of General Psychiatry.* 2003; 60: 1187–1192. URL: <https://jamanetwork.com/journals/jamapsychiatry/fullarticle/208134> (дата обращения: 17.02.2022). DOI: 10.1001/archpsyc.60.12.1187.
16. Thibaut F. Schizophrenia: An example of complex genetic disease. *World Journal of Biological Psychiatry.* 2006; 7: 194–197. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15622970600994313> (дата обращения: 17.02.2022). DOI: 10.1080/15622970600994313.
17. Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet.* 2013; 381 (9875): 1371–1379. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23453885> (дата обращения: 17.02.2022). DOI: 10.1016/S0140-6736(12)62129-1.
18. Charlson F.J., Ferrari A.J., Santomauro D.F., Diminic S., Stockings E., Scott J.G., McGrath J.J., Whiteford H.A. Global Epidemiology and Burden of Schizophrenia: Findings From the Global Burden of Disease Study 2016. *Schizophr Bull.* 2018; 44 (6): 1195–1203. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6192504> (дата обращения: 10.03.2022). DOI: 10.1093/schbul/sby058.
19. Howes O.D., Kapur S. The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III – the final common pathway. *Schizophr Bull.* 2009; 35 (3): 549–562. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19325164> (дата обращения: 10.03.2022). DOI: 10.1093/schbul/sbp006.
20. Mao Y., Ge X., Frank C.L., Madison J.M., Koehler A.N., Doud M.K., Tassa C., Berry E.M., Soda T., Singh K.K., Biechele T., Petryshen T.L., Moon R.T., Haggarty S.J., Tsai L.H. Disrupted in schizophrenia 1 regulates neuronal progenitor proliferation via modulation of GSK3beta/beta-catenin signaling. *Cell.* 2009; 136 (6): 1017–1031. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19303846> (дата обращения: 11.03.2022). DOI: 10.1016/j.cell.2008.12.044.
21. Meyer K.D., Morris J.A. Disc1 regulates granule cell migration in the developing hippocampus. *Hum Mol Genet.* 2009; 18 (17): 3286–3297. URL: <https://academic.oup.com/hmg/article/18/17/3286/2527378> (дата обращения: 14.03.2022). DOI: 10.1093/hmg/ddp266.

Поступила в редакцию 22.03.2022; принята 25.06.2022.

Авторский коллектив

Дохоян Анастасия Юрьевна – студентка, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2; e-mail: adnastasyia@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6002-5339>.

Глущенко Максим Витальевич – студент, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2; e-mail: maksim_glushhenko@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1900-6149>.

Орлов Юрий Львович – доктор биологических наук, профессор РАН, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2; e-mail: orlov@d-health.institute, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0587-1609>.

Образец цитирования

Дохоян А.Ю., Глущенко М.В., Орлов Ю.Л. Реконструкция генной сети шизофрении для поиска генов-мишеней. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 6–22. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-6-22.

**RECONSTRUCTION OF SCHIZOPHRENIA GENE NETWORK
IN SEARCH FOR TARGET GENES**

A.Yu. Dokhoyan, M.V. Glushchenko, Yu.L. Orlov

Sechenov University, Moscow, Russia

Nowadays, schizophrenia is a poorly understood disease with a variety of symptoms attributed to other malconditions, and controversial diagnosis without well-defined treatment. Target therapy implies disease gene network reconstruction, gene clustering, identification of gene ontology categories and genes with the largest number of network contacts.

The aim of the study is to analyze schizophrenia-associated genes, determine their position in the gene network, establish their correlation, identify key genes related to the disease, and evaluate them as target genes for drug therapy.

Materials and Methods. The authors analyzed currently relevant data on schizophrenia using such online databases as OMIM, PANTHER, DAVID, GeneMANIA, STRING-DB, and GeneCards. They calculated categories of gene ontologies for 200 genes, such as biological processes, molecular functions and cellular compartments that reflect schizophrenia impact on the transmission of neuronal impulses. The authors also visualized and built gene networks containing the identified key objects and their interaction, identified the most relevant schizophrenia genes (COMT, DISC1, HTR2A, NRXN1) and a strongly connected cluster, including such genes as BDNF, SLC6A4, HTR2A, HTR2C, CHRM1, SRC, AKT, YWHAЕ, DISC1, DRD2, COMT, NDEL1, NOS1, CAMK28, etc.

Results. The biological interpretation of the results obtained is still a great challenge, since schizophrenia is a genetically complex disease with numerous causes and triggering events. Analysis of schizophrenia-associated genes, and identification of their position in the gene network (connectivity) makes it possible to find out their interaction, determine the key genes of the disease, and evaluate their prospects as target genes for drug therapy.

Key words: bioinformatics, schizophrenia, gene network reconstruction, gene ontologies.

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

References

1. *Schizophrenia: Concise Medical Dictionary*. Oxford University Press. 2010. Available at: <https://www.oxfordreference.com/view/10.1093/acref/9780199557141.001.0001/acref-9780199557141-e-9060> (accessed: February 12, 2022). DOI: 10.1093/acref/9780199557141.001.0001.
2. *Institute of Health Metrics and Evaluation (IHME). Global Health Data Exchange (GHDx)*. Available at: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/27a7644e8ad28e739382d31e77589dd7> (accessed: February 12, 2022).
3. Picchioni M.M., Murray R.M. Schizophrenia. *BMJ*. 2007; 335 (7610): 91–95. Available at: <https://www.bmj.com/content/335/7610/91> (accessed: February 12, 2022). DOI: 10.1136/bmj.39227.616447.BE.
4. Castle D., Wesseley S., Der G., Murray R.M. The incidence of operationally defined schizophrenia in Camberwell 1965–84. *British Journal of Psychiatry: journal Royal College of Psychiatrists*. 1991; 159: 790–794. Available at: <https://www.cambridge.org/core/journals/the-british-journal-of-psychiatry/article/abs/incidence-of-operationally-defined-schizophrenia-in-camberwell-196584/6FD5AA8394856650FE3004A71B49A564> (accessed: February 12, 2022). DOI: 10.1192/bjp.159.6.790.
5. Gonthier M., Lyon M.A. Childhood-onset schizophrenia: An overview. *Psychology in the Schools*. 2004; 41 (7): 803–811. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pits.20013> (accessed: February 13, 2022). DOI: 10.1002/pits.20013.
6. Mattai A.K., Hill J.L., Lenroot R.K. Treatment of early-onset schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*. 2010; 23 (4): 304–310. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20502331> (accessed: February 13, 2022). DOI: 10.1097/YCO.0b013e32833b027e.

7. Howard R., Rabins P.V., Seeman M.V., Jeste D.V. Late-onset schizophrenia and very-late-onset schizophrenia-like psychosis: an international consensus. The International Late-Onset Schizophrenia Group. *Am. J. Psychiatry*. 2000; 157 (2): 172–178. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10671383> (accessed: February 13, 2022). DOI: 10.1176/appi.ajp.157.2.172.
8. Owen M.J., Sawa A., Mortensen P.B. Schizophrenia. *Lancet*. 2016; 388 (10039): 86–97. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26777917/> (accessed: February 14, 2022). DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01121-6.
9. Mullin A.P., Gokhale A., Moreno-De-Luca A., Sanyal S., Waddington J.L., Faundez V. Neurodevelopmental disorders: mechanisms and boundary definitions from genomes, interactomes and proteomes. *Transl. Psychiatry*. 2013; 3 (12): e329. Available at: <https://www.nature.com/articles/tp2013108> (accessed: February 14, 2022). DOI: 10.1038/tp.2013.108.
10. Davis J., Eyre H., Jacka F.N., Dodd S., Dean O., McEwen S., Debnath M., McGrath J., Maes M., Amminger P., McGorry P.D., Pantelis C., Berk M. A review of vulnerability and risks for schizophrenia: Beyond the two hit hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016; 65: 185–194. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27073049> (accessed: February 14, 2022). DOI: 10.1016/j.neubiorev.2016.03.017.
11. Van de Leemput J., Hess J.L., Glatt S.J., Tsuang M.T. Genetics of Schizophrenia: Historical Insights and Prevailing Evidence. *Adv Genet*. 2016; 96: 99–141. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27968732> (accessed: February 16, 2022). DOI: 10.1016/bs.adgen.2016.08.001.
12. Torrey E.F., Yolken R.H. Schizophrenia as a pseudogenetic disease: A call for more gene-environmental studies. *Psychiatry Res*. 2019; 278: 146–150. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31200193> (accessed: February 16, 2022). DOI: 10.1016/j.psychres.2019.06.006.
13. Combs D.R., Mueser K.T., Gutierrez M.M. Chapter 8: Schizophrenia: Etiological considerations. In: Hersen M., Beidel D.C. *Adult psychopathology and diagnosis*. 6th ed. John Wiley & Sons; 2011.
14. Hassett A., Ames D., Chiu E. *Psychosis in the Elderly*. London: Taylor and Francis; 2005.
15. Sullivan P.F., Kendler K.S., Neale M.C. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Archives of General Psychiatry*. 2003; 60: 1187–1192. Available at: <https://jamanetwork.com/journals/jamapsychiatry/fullarticle/208134> (accessed: February 17, 2022). DOI: 10.1001/archpsyc.60.12.1187.
16. Thibaut F. Schizophrenia: An example of complex genetic disease. *World Journal of Biological Psychiatry*. 2006; 7: 194–197. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15622970600994313> (accessed: February 17, 2022). DOI:10.1080/15622970600994313.
17. Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet*. 2013; 381 (9875): 1371–1379. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23453885> (accessed: February 17, 2022). DOI: 10.1016/S0140-6736(12)62129-1.
18. Charlson F.J., Ferrari A.J., Santomauro D.F., Diminic S., Stockings E., Scott J.G., McGrath J.J., Whiteford H.A. Global Epidemiology and Burden of Schizophrenia: Findings From the Global Burden of Disease Study 2016. *Schizophr Bull*. 2018; 44 (6): 1195–1203. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6192504> (accessed: March 10, 2022). DOI: 10.1093/schbul/sby058.
19. Howes O.D., Kapur S. The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III – the final common pathway. *Schizophr Bull*. 2009; 35 (3): 549–562. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19325164> (accessed: March 10, 2022). DOI: 10.1093/schbul/sbp006.
20. Mao Y., Ge X., Frank C.L., Madison J.M., Koehler A.N., Doud M.K., Tassa C., Berry E.M., Soda T., Singh K.K., Biechele T., Petryshen T.L., Moon R.T., Haggarty S.J., Tsai L.H. Disrupted in schizophrenia 1 regulates neuronal progenitor proliferation via modulation of GSK3beta/beta-catenin signaling. *Cell*. 2009; 136 (6): 1017–1031. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19303846> (accessed: March 11, 2022). DOI: 10.1016/j.cell.2008.12.044.
21. Meyer K.D., Morris J.A. Disc1 regulates granule cell migration in the developing hippocampus. *Hum Mol Genet*. 2009; 18 (17): 3286–3297. Available at: <https://academic.oup.com/hmg/article/18/17/3286/2527378> (accessed: March 14, 2022). DOI:10.1093/hmg/ddp266.

Received 22 March 2022; accepted 25 June 2022.

Information about the authors

Dokhoyan Anastasiya Yur'evna, Student, Sechenov University. 119991, Russia, Moscow, Trubetskaya St., 8, bld. 2; e-mail: adnastasyia@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6002-5339>.

Glushchenko Maksim Vital'evich, Student, Sechenov University. 119991, Russia, Moscow, Trubetskaya St., 8, bld. 2; e-mail: maksim_glushhenko@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1900-6149>.

Orlov Yuriy L'vovich, Doctor of Sciences (Biology), Professor, Russian Academy of Sciences, Sechenov University. 119991, Russia, Moscow, Trubetskaya St., 8, bld. 2; e-mail: orlov@d-health.institute, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0587-1609>.

For citation

Dokhoyan A.Yu., Glushchenko M.V., Orlov Yu.L. Rekonstruktsiya gennoy seti shizofrenii dlya poiska genov-misheney [Reconstruction of schizophrenia gene network in search for target genes]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskiy zhurnal*. 2022; 3: 6–22. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-6-22 (in Russian).

УДК 615.814.1:616.248

DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-23-34

ПРЕДИКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЬЮТЕРНОЙ ЭЛЕКТРОАКУПНКТУРЫ В ЛЕЧЕНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Т.С. Голубцова, Е.Е. Юдина, С.А. Прибылова, И.Р. Керова,
А.Б. Песков, М.А. Волков, М.П. Хохлов, Б.М. Костишко

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

Цель – оценить значение исходных клинических параметров больных бронхиальной астмой в прогнозировании эффективности компьютерной электроакупунктуры (КЭАП).

Материалы и методы. В двухэтапное исследование было включено 120 больных бронхиальной астмой (БА). На первом этапе пациенты группы ОI получили 3 ежемесячных курса КЭАП, пациенты группы P получили стандартную фармакотерапию. На основании результатов I этапа исследования были отобраны пациенты в группу ОII, которая состояла из подгруппы с ожидаемой хорошей эффективностью применения КЭАП (группа ОII₁) и с ожидаемой недостаточной эффективностью (группа ОII₂). Пациенты группы ОII получили 3 ежемесячных курса КЭАП, состоящих из пяти ежедневных сеансов.

Результаты. После проведения трех курсов КЭАП в группе ОI значительно увеличились доли пациентов с хорошим и полным контролем БА. Пациенты были стратифицированы по признаку контролируемости БА на 4 подгруппы: ОI₁ – пациенты I основной группы с улучшившимся в ходе проведения исследования контролем заболевания (n=20); ОI₂ – пациенты I основной группы с не изменившимся в ходе проведения исследования контролем заболевания (n=20); P₁ – пациенты референтной группы с улучшившимся в ходе проведения исследования контролем заболевания (n=10); P₂ – пациенты референтной группы с не изменившимся в ходе проведения исследования контролем заболевания (n=30). Ретроспективный анализ показал отсутствие значимых различий между показателями ФВД в КТ № 1 и 2 в группах наблюдения ОI₁ и ОI₂. Проведен анализ динамики электрического сопротивления (ЭС) всех биологически активных точек (БАТ) в течение первого курса КЭАП пациентов группы ОI: разница между суммарными показателями исходного и конечного ЭС всех БАТ схемы возрастала от сеансу к сеансу. Учитывая выявленные особенности, мы посчитали возможным применить показатели ЭС БАТ для прогнозирования эффективности КЭАП. Установлена взаимосвязь между показателями контролируемости БА и ЭС БАТ, зарегистрированного в первых двух сеансах КЭАП у пациентов группы ОI. Предполагалось рассчитывать показатель ожидаемой эффективности лечения (ПОЭЛ). ПОЭЛ в 100 % случаев предсказал отрицательные результаты лечения (чувствительность – 100 %, специфичность – 100 %). Прогнозирование позитивного эффекта оказалось менее точным: чувствительность – 70 %, специфичность – 80 %. Чувствительность прогноза отсутствия динамики составила 80 %, специфичность – 70 %.

Выводы. Исходные показатели ФВД нецелесообразно использовать в качестве предикторов эффективности КЭАП в лечении БА. ПОЭЛ является объективным измеряемым показателем состояния БАТ и может использоваться в прогнозировании эффективности КЭАП при лечении БА.

Ключевые слова: бронхиальная астма, акупунктура, компьютерная электроакупунктура, рефлексотерапия.

Введение. Распространенность бронхиальной астмы (БА) среди взрослого населения Российской Федерации, достигающая 6,9 %, высокая частота инвалидизации обуславливают социальную значимость заболевания [1]. Современная ступенчатая фармакотерапия БА предполагает регулярный прием базисных противоастматических препаратов (ингаляционных глюкокортикостероидов, пролон-

гированных бронходилататоров и т.д.), что способствует контролю над проявлениями заболевания. Однако, несмотря на успехи медикаментозного лечения БА, остается ряд нерешенных проблем, а именно развитие нежелательных лекарственных реакций, высокая стоимость лечения и в ряде случаев его недостаточная эффективность (рефрактерная БА) [2–4].

Одним из возможных вариантов решения этих проблем может стать применение немедикаментозных лечебных вмешательств, способных уменьшить среднесуточные дозы лекарственных препаратов. Часто используемым немедикаментозным методом лечения БА является акупунктура (иглоукалывание) и ее разновидности [5–7]. Одной из современных модификаций акупунктуры является компьютерная электроакупунктура (КЭАП). Данный метод лечения применяется в лечении БА со второй половины 90-х гг. XX в. и предполагает использование компьютерных технологий для регуляции раздражения биологически активных точек (БАТ) электрическим током. Накопленный опыт применения КЭАП при БА подтверждает положительное влияние методики на показатели спирографии – форсированную жизненную емкость легких (ФЖЕЛ) и объем форсированного вдоха за первую секунду (ОФВ1), а также на снижение расхода противоастматических препаратов [8, 9]. Однако повышение уровня контролируемости БА на фоне применения КЭАП зарегистрировано лишь у части больных. Очевидно, что уточнение факторов, влияющих на эффективность КЭАП при БА, позволит наиболее избирательно рекомендовать ее применение, улучшая результаты лечения.

Цель исследования. Оценить значение исходных клинических параметров больных бронхиальной астмой в прогнозировании эффективности компьютерной электроакупунктуры.

Материалы и методы. В качестве предполагаемых предикторов эффективности КЭАП в лечении БА эмпирически были выбраны особенности течения заболевания, гендерные и возрастные характеристики пациентов, исходные значения спирометрии, а также динамика электрического сопротивления БАТ, используемых в ходе лечения.

В исследование было включено 120 чел., средний возраст – $34,2 \pm 2,7$ года. Мужчин – 39 %, женщин – 61 %.

Все пациенты перед проведением процедур подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения в исследование: наличие верифицированного диагноза БА; как минимум шестимесячный анамнез лечения

БА; наличие у пациента знаний о правильном применении противоастматических препаратов и владение им шаговой системой увеличения/снижения доз.

Дизайн исследования предполагал два этапа: первый этап – получение материала для первичного выделения предикторов эффективности КЭАП, второй – проверка применимости установленных предикторов.

Первый этап включал проведение набора и динамического клинико-инструментального наблюдения пациентов референтной (Р) и I основной групп (ОI); второй этап – наблюдение за II основной группой (ОII). Разделение пациентов на группы Р и ОI произведено с применением генератора псевдослучайных чисел. По возрастным и гендерным характеристикам, а также по среднесуточным дозам противоастматических препаратов сравниваемые группы были сопоставимы (табл. 1–3).

Первый этап исследования включал в себя двухмесячный период наблюдения, по результатам которого пациентов с хорошим контролем БА и пациентов с измененными дозами ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС) исключали из исследования. Оставшиеся пациенты группы ОI получали три ежемесячных курса КЭАП, состоявших из пяти ежедневных сеансов. Пациенты группы Р продолжали получать стандартную фармакотерапию. После третьего курса КЭАП из исследования исключались пациенты с изменившимися дозами ИГКС. Затем пациенты обеих групп наблюдались в течение 2 мес., по итогам этого наблюдения из исследования вновь исключались пациенты с изменившимися дозами ИГКС.

На основании результатов первого этапа исследования были отобраны пациенты в группу ОII, которая состояла из подгруппы с ожидаемой хорошей эффективностью применения КЭАП (группа ОII₁) и с ожидаемой недостаточной эффективностью (группа ОII₂). Данная стратификация была произведена на основании результатов первых двух сеансов КЭАП. Пациенты группы ОII получили 3 ежемесячных курса КЭАП, состоящих из пяти ежедневных сеансов. Дизайн второго этапа исследования также предполагал два двухмесячных периода наблюдения – перед первым курсом КЭАП и после третьего.

Таблица 1
Table 1**Возрастная характеристика пациентов, принимавших участие в исследовании**
Age characteristics of study participants

Возраст, лет Age, year	Группы Group			Всего Total
	I основная Group 1 main	II основная Group 2 main	Референтная Reference group	
18–19	4	6	3	13
20–29	5	8	11	24
30–39	16	12	13	41
40–49	7	6	7	20
50–60	8	8	6	22
Всего Total	40	40	40	120

Таблица 2
Table 2**Гендерная характеристика пациентов, принимавших участие в исследовании**
Gender characteristics of study participants

Пол Gender	Группы Group			Всего Total
	I основная Group 1 main	II основная Group 2 main	Референтная Reference group	
Мужчины Males	19	11	17	47
Женщины Females	21	29	23	73
Итого Total	40	40	40	120

Таблица 3
Table 3**Характеристика противоастматической терапии пациентов, принимавших участие в исследовании**
Anti-asthma therapy characteristics of study participants

Группы Group	Среднесуточные дозы ингаляционных глюкокортикостероидов, мкг/сут Average daily doses of inhaled glucocorticosteroids, mcg/day			
	250–500	500–1000	1000–1500	1500–2000
I основная Group 1 (main)	2	5	20	13
II основная Group 2 (main)	1	3	17	19
Референтная Reference group	2	5	16	17
Всего Total	5	13	53	49

Каждый этап исследования включал шесть контрольных точек (КТ). КТ № 1 и 2 соответствовали началу и окончанию первого двухмесячного наблюдения; КТ № 3–5 – окончанию каждого из трех курсов КЭАП (у пациентов группы Р – окончанию каждого месяца); КТ № 6 – окончанию второго двухмесячного периода наблюдения.

Протокол каждой КТ включал в себя оценку объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), расхода противоастматических препаратов, субъективного состояния пациентов (тесты САН и Спилберга – Ханина).

Для лечения методом КЭАП использовали «Комплекс аппаратно-програмный КЭС-01 МИДА». Применяли схему биологически активных точек, рекомендованную Д.М. Табеевой [10]. Стартовые параметры стимуляции БАТ определяли эмпирически в соответствии с рекомендациями Ф. Крамера [11].

Анализ данных осуществляли системой Statistika 6.0. Достоверность различий опре-

деляли комплексом тестов параметрической статистики (t-тест для связанных и несвязанных случаев, однофакторная корреляция по Pearson). Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В проспективной части исследования проведен анализ контролируемости БА у пациентов I основной и референтной групп в периодах пред- и постнаблюдения. Оценка степени контроля БА, проводимая согласно принципам исследования GOAL (2003) и на основании наличия клинических признаков, предполагала три варианта: полный, хороший и удовлетворительный контроль [12]. В результате проведения трех курсов КЭАП в I основной группе достоверно увеличилась доля пациентов с хорошим и полным контролем БА (табл. 4). В референтной группе также отмечен рост количества больных с хорошей контролируемостью заболевания. Однако доля больных с хорошим и полным контролем БА в I основной группе была достоверно выше, чем в референтной группе.

Таблица 4
Table 4

Распределение пациентов по степени контроля заболевания в периодах преднаблюдения и постнаблюдения, чел. (%)

Distribution of patients according to the degree of disease control in pre-observation and post-observation periods, n (%)

Группы Group	Периоды проспективной части исследования Periods of the prospective study					
	Преднаблюдение Pre-observation			Постнаблюдение Post-observation		
	Полный контроль Full control	Хороший контроль Good control	Удовлетворительный контроль Satisfactory control	Полный контроль Full control	Хороший контроль Good control	Удовлетворительный контроль Satisfactory control
Группа OI Group OI	0 (0)	0 (0)	40 (100)	7 (18)* [∞]	18 (45)* [∞]	15 (37)* [∞]
Группа Р Group Р	0 (0)	0 (0)	40 (100)	2 (5)	8 (20)*	30 (75)

Примечание. * – достоверное ($p < 0,05$) различие с периодом преднаблюдения по Cochran Q-тесту; [∞] – достоверное ($p < 0,05$) различие с референтной группой по Cochran Q-тесту.

Note. * – the differences are significant compared with the pre-observation period, Cochran's Q-test ($p < 0.05$); [∞] – the differences are significant compared with the reference group, Cochran's Q-test ($p < 0.05$).

По признакам улучшения контролируемости БА пациенты I основной и референтной групп были разделены на 4 подгруппы: OI₁ – пациенты I основной группы с улучшившимся в ходе проведения исследования контролем заболевания (n=20); OI₂ – пациенты I основной группы с не изменившимся в ходе проведения исследования контролем заболевания (n=20); P₁ – пациенты референтной группы с улучшившимся в ходе проведения исследования контролем заболевания (n=10); P₂ – пациенты референтной группы с не изменившимся в ходе проведения исследования контролем заболевания (n=30).

После разделения больных на подгруппы по признаку улучшения контролируемости заболевания в ходе первого этапа исследования

ретроспективно был проведен анализ значимости исходного уровня показателей функции внешнего дыхания (ФВД) – ОФВ₁, ФЖЕЛ и ЖЕЛ. Целесообразность применения выбранных клинических параметров в качестве предикторов эффективности КЭАП оценивали, ориентируясь на различия их значений между группами пациентов с зарегистрированной положительной динамикой (группа OI₁ и группа P₁) и группами пациентов без значимого положительного улучшения контроля БА в ходе первого этапа исследования (группы OI₂ и P₂).

Ретроспективный анализ показал отсутствие значимых различий между показателями ФВД в КТ № 1 и 2 в группах наблюдения (табл. 5–7).

Таблица 5
Table 5

**Изменения показателя ОФВ₁ у пациентов, находившихся под наблюдением,
% от индивидуальной нормы**

FEV1 dynamics in study patients, % of the individual norm

Контрольные точки Checkpoints	Подгруппы Subgroups			
	OI ₁ (n=20)	OI ₂ (n=20)	P ₁ (n=10)	P ₂ (n=30)
1	72±4	70±4	72±6	69±3
2	74±4	76±4	72±6	70±3
3	89±4*	83±3*	70±5	72±2
4	88±4*	84±4*	70±4	70±3
5	86±4*	80±4*	74±5	73±3
6	84±4* [∞]	71±4	77±6	78±2*

Примечание. * – различия с КТ № 1 достоверны по t-тесту для связанных случаев (p<0,05); [∞] – различия с соответствующей подгруппой (OI₁ vs OI₂; P₁ vs P₂) достоверны по t-тесту для несвязанных случаев (p<0,05).

Note. * – the differences for related cases are significant compared with CT No. 1, t-test (p<0.05); [∞] – the differences for unrelated cases are significant compared with the corresponding subgroup (OI₁ vs OI₂; P₁ vs P₂), t-test (p<0.05).

Таблица 6
Table 6Изменения показателя ФЖЕЛ у пациентов, находившихся под наблюдением,
% от индивидуальной нормы

FVC dynamics in study patients, % of the individual norm

Контрольные точки Checkpoints	Подгруппы Subgroups			
	OI ₁ (n=20)	OI ₂ (n=20)	P ₁ (n=10)	P ₂ (n=30)
1	80±4	77±3	79±6	78±4
2	83±4	78±4	80±7	79±3
3	84±3	75±5	81±5	78±3
4	85±3 [∞]	80±4	79±6	75±4
5	90±3 ^{* ∞}	78±3	82±5	72±3
6	87±4 ^{* ∞}	77±4	82±6	80±3

Примечание. * – различия с КТ № 1 достоверны по t-тесту для связанных случаев ($p < 0,05$); [∞] – различия с соответствующей подгруппой (OI₁ vs OI₂; P₁ vs P₂) достоверны по t-тесту для несвязанных случаев ($p < 0,05$).

Note. * – the differences for related cases are significant compared with CT No. 1, t-test ($p < 0.05$); [∞] – the differences for unrelated cases are significant compared with the corresponding subgroup (OI₁ vs OI₂; P₁ vs P₂), t-test ($p < 0.05$).

Таблица 7
Table 7Изменения показателя ЖЕЛ у пациентов, находившихся под наблюдением,
% от индивидуальной нормы

VC dynamics in study patients, % of the individual norm

Контрольные точки Checkpoints	Подгруппы Subgroups			
	OI ₁ (n=20)	OI ₂ (n=20)	P ₁ (n=10)	P ₂ (n=30)
1	78±4	76±3	76±4	73±4
2	76±4	75±5	81±4	75±4
3	80±4	74±5	80±5	79±4
4	80±4	79±4	80±4	74±5
5	83±3	76±4	82±4	77±4
6	80±4	76±3	83±4	73±5

Был проведен анализ динамики электрического сопротивления (ЭС) всех БАТ в течение первого курса КЭАП у пациентов группы ОI. Исходное (до проведения сеанса) ЭС (R_0) в течение 5 сеансов имело тенденцию к снижению во всех БАТ схемы, колеблясь в пределах 200–450 кОм. Конечное (после сеанса) ЭС (R_1) практически во всех БАТ схемы достоверно росло от сеанса к сеансу. Значимой разницы в значениях как исходного, так и конечного ЭС между симметричными БАТ

в ходе курса КЭАП зарегистрировано не было.

Разница суммарных показателей исходного и конечного ЭС всех БАТ схемы возрастала от сеанса к сеансу. В связи с этим был рассчитан показатель разности сопротивлений ($DR=R_1-R_0$) для каждой БАТ.

Анализ зависимости DR от R_0 (рис. 1) показал, что из 2340 пар измерений ЭС в 97,8 % случаев прирост ЭС тем больше, чем ниже исходное ЭС.

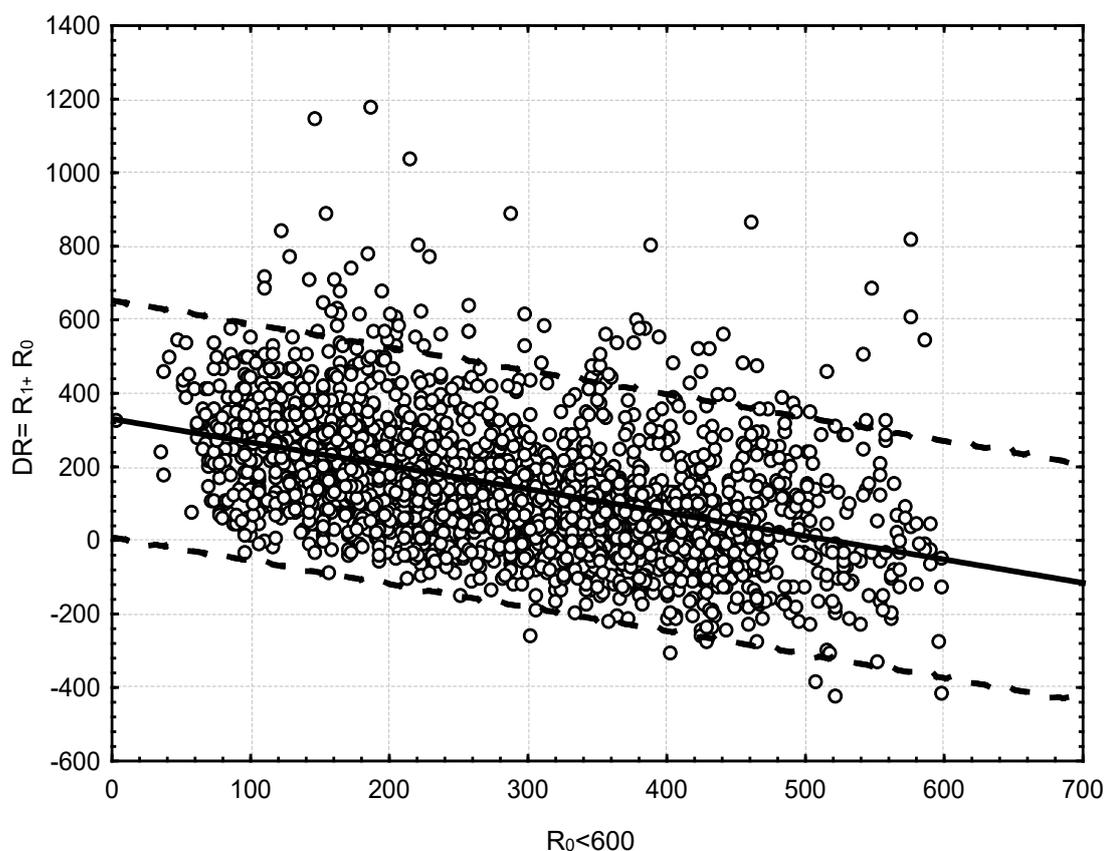


Рис. 1. Зависимость динамики ЭС акупунктурных точек схемы от начального ЭС, кОм ($n=2340$)

Fig. 1. Dependence of electric resistance dynamics of acupuncture points on the initial electric resistance, kOhm ($n=2340$)

Таким образом, при стимуляции БАТ импульсным током положительного смещения в рамках пятидневного курса КЭАП наблюдается тенденция к снижению исходного ЭС большинства БАТ на фоне роста конечного ЭС. Величина прироста ЭС линейно зависит от номера сеанса. Отмечено, что зависимость DR от исходного ЭС на отрезке 0–600 кОм является практически линейной и убывающей.

Выявленные особенности динамики ЭС БАТ были использованы для прогнозирования эффективности КЭАП.

С помощью методик математического моделирования установлена взаимосвязь между показателями контролируемости БА и ЭС БАТ, зарегистрированного в первых двух сеансах КЭАП у пациентов I основной группы. Предполагалось рассчитывать показатель ожи-

даемой эффективности лечения (ПОЭЛ) по формуле

$$\text{ПОЭЛ} = \frac{R1 - R2}{R3 - R4},$$

где R1 – среднее значение ЭС всех БАТ схемы перед 1-м сеансом лечения; R2 – среднее значение ЭС всех БАТ схемы после 1-го сеанса лечения; R3 – среднее значение ЭС всех БАТ схемы перед 2-м сеансом лечения; R4 – среднее значение ЭС всех БАТ схемы после 2-го сеанса лечения.

Расчеты показали, что ПОЭЛ у пациентов с полным или хорошим контролем БА находился в пределах 0–1, при удовлетворительном контроле он был более 1, при отсутствии контроля – меньше 0.

Проведение II этапа исследования было необходимым для проверки обозначенных выше предположений.

По итогам первых двух курсов КЭАП была проведена стратификация пациентов: основная группа II – с ожидаемой высокой эффективностью КЭАП (ОП₁), основная группа II – с ожидаемой низкой эффективностью КЭАП (ОП₂). Средняя величина ПОЭЛ у пациентов группы ОП₁ составила 0,43±0,15, в группе ОП₂ – 2,60±0,37.

После окончания исследования было проведено сопоставление фактического результата лечения КЭАП с ожидаемой эффективностью (табл. 8).

Таблица 8
Table 8

Соотношение прогнозируемых и фактических результатов вмешательства посредством КЭАП по признаку контролируемости заболевания, случаев

Ratio of predicted and actual results of computerized electroacupuncture according to disease manageability, n

Изменение контроля БА Change in BA control	Подгруппы Subgroups			
	ОП ₁		ОП ₂	
	Прогноз Prognosis	Факт Fact	Прогноз Prognosis	Факт Fact
Улучшение Relief	20	14	0	4
Без динамики No dynamics	0	6	20	16
Ухудшение Deterioration	0	0	3	3

Согласно результатам исследования ПОЭЛ предсказал отрицательные результаты лечения в 100 % случаев. Прогнозирование позитивного эффекта было менее точным: чувствительность – 70 %, специфичность – 80 %. Чувствительность прогноза отсутствия динамики составила 80 %, специфичность – 70 %.

Итоги работы позволили подтвердить часть гипотезы о наличии индивидуального предиктора эффективности КЭАП при БА, связанного с динамикой электрического сопротивления БАТ, что позволяет алгоритмизировать назначение КЭАП при БА.

Заключение. Учитывая отсутствие различий анализируемых клинических параметров в сравниваемых группах в период преднаблюдения, можно сделать вывод о нецелесообразности применения показателей ФВД в качестве предикторов эффективности использования КЭАП.

ПОЭЛ является объективным измеряемым показателем состояния БАТ и может использоваться в прогнозировании эффективности КЭАП, хотя из-за недостаточной выборки требуются дальнейшие исследования в этой области.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. *Chuchalin A.G., Khaltaev N., Antonov N.* Chronic respiratory diseases and risk factors in 12 regions of the Russian Federation. *International Journal of COPD*. 2014; 9: 963–974.
2. Global Initiative for Asthma. *Global Strategy for Asthma Management and Prevention*; 2020. URL: www.ginasthma.org (дата обращения: 20.01.2022).
3. *Reddel H.K., Bacharier L.B., Bateman E.D., Brightling C.E., Brusselle G.G., Buhl R., Cruz A.A., Duijts L., Drazen J.M., FitzGerald J.M., Fleming L.J., Inoue H., Ko F.W., Krishnan J.A., Levy M.L., Lin J., Mortimer K., Pitrez P.M., Sheikh A., Yorgancioglu A.A., Boulet L.P.* Global Initiative for Asthma Strategy 2021: Executive Summary and Rationale for Key Changes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2022; 205 (1): 17–35. DOI: 10.1164/rccm.202109-2205PP.
4. *Weber E.J., Silverman R.A., Callahan M.L.* A prospective multicenter study factors associated with hospital admission among adults with acute asthma. *Am. J. Med.* 2002; 113: 371–378.
5. *Yan-Ming Chen, Xiao-Lei Xie, Peng-Yun Xiao, Qiu-Hong Wang, Ji-Sheng Wang, Xu-Dong Yu, Sheng Deng.* Acupuncture on treating asthma: A protocol for systematic review and meta analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020; 99 (1): e18457. DOI: 10.1097/MD.00000000000018457.
6. *Brinkhaus B., Roll S., Jena S., Icke K., Adam D., Binting S., Lotz F., Willich S.N., Witt C.M.* Acupuncture in Patients with Allergic Asthma: A Randomized Pragmatic Trial. *J. Altern. Complement. Med.* 2017; 23 (4): 268–277. DOI: 10.1089/acm.2016.0357.
7. *Chen Y., Gao Y., Lu W., Gao W.* Influence of acupuncture on the expression of VIP, SP, NKA and NKB, cAMP/cGMP and HE content and treatment of bronchial asthma in rats. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2020; 66 (5): 29–35.
8. *Песков А.Б., Хохлов М.П., Керова И.Р.* Компьютерная электроакупунктура в лечении бронхиальной астмы: клинико-экономическая эффективность. *Традиционная медицина*. 2010; 20: 21–26.
9. *Песков А.Б., Сауко М.И., Мащук В.Н., Хохлов М.П., Николаева К.В.* Аурикулярная компьютерная электроакупунктура в терапии бронхообструктивного синдрома: показатели функции внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких. *Медлайн.Ру. Российский биомедицинский журнал*. 2011; 12: 1394–1399.
10. *Табеева Д.М.* Практическое руководство по иглорефлексотерапии: учебное пособие. Москва: МЕДпресс-информ; 2004. 440.
11. *Краммер Ф.* Учебник по электроакупунктуре. Москва: ИМЕДИС; 1995. 464.
12. *Цой А.Н., Архипов В.В.* Контроль над бронхиальной астмой: каким он будет завтра? Исследование GOAL: обзор. *Пульмонология*. 2004; 4: 92–104.

Поступила в редакцию 23.02.2022; принята 20.04.2022.

Авторский коллектив

Голубцова Татьяна Сергеевна – ассистент кафедры госпитальной терапии, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: ta.golubcova@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4012-7375>.

Юдина Елена Евгеньевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной терапии, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: yudlena@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4803-4931>.

Прибылова Светлана Алексеевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры последипломного образования и семейной медицины, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: s.pribylova@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4180-1499>.

Керова Ирина Ринатовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры последипломного образования и семейной медицины, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: i_kerova@bk.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0340-7370>.

Песков Андрей Борисович – доктор медицинских наук, профессор, декан факультета последипломного медицинского и фармацевтического образования, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: abp_sim@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7323-9934>.

Волков Максим Анатольевич – кандидат физико-математических наук, доцент, декан факультета математики, информационных и авиационных технологий, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: volkovmax1977@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8143-8917>.

Хохлов Михаил Павлович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры последипломного образования и семейной медицины, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: mikhokhlov@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9165-6395>.

Костишко Борис Михайлович – доктор физико-математических наук, профессор, ректор, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: contact@ulsu.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1112-0740>.

Образец цитирования

Голубцова Т.С., Юдина Е.Е., Прибылова С.А., Керова И.Р., Песков А.Б., Волков М.А., Хохлов М.П., Костишко Б.М. Предикторы эффективности компьютерной электроакупунктуры в лечении бронхиальной астмы. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 23–34. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-23-34.

PREDICTORS OF COMPUTERIZED ELECTROACUPUNCTURE EFFICACY IN BRONCHIAL ASTHMA TREATMENT

T.S. Golubtsova, E.E. Yudina, S.A. Pribylova, I.R. Kerova, A.B. Peskov,
M.A. Volkov, M.P. Khokhlov, B.M. Kostishko

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia

The aim of the study is to evaluate the significance of the initial clinical parameters of patients with bronchial asthma while predicting the efficacy of computerized electroacupuncture (CEAP).

Materials and Methods. The two-stage study included 120 patients with bronchial asthma (BA). During the first stage, group OI underwent 3 CEAP monthly courses, while group P was treated with standard pharmacotherapy. Based on the results of the first study stage, patients were included in group OII, which consisted of a subgroup with expected good CEAP efficacy (group OII1) and a subgroup with expected insufficient CEAP efficacy (group OII2). Group OII underwent 3 monthly CEAP courses, which consisted of five daily events.

Results. After three CEAP courses, group OI demonstrated a high proportion of patients with good and complete BA control.

According to asthma controllability, patients were stratified into 4 subgroups: OI₁ – patients of the main group 1 with improved disease control (n=20); OI₂ – patients of the main group 1 with unchanged disease control (n=20); P₁ – patients of the reference group with improved disease control (n=10); P₂ – patients of the reference group with unchanged disease control (n=30). The retrospective analysis showed no significant differences between respiratory function parameters in CT 1 and 2 in groups OI1 and OI2. The authors analyzed electrical resistance (ER) dynamics of all biologically active points (BAP) during the first CEAP course in group OI: the difference between the total indicators of the initial and final ER of all BAPs gradually increased. Thus, we considered it possible to apply ES indicators of BAPs to predict CEAP efficacy. There was a correlation between BA controllability and ES of BAT, as registered in the first two CEAP sessions in group OI. It was supposed to calculate the indicator of the expected treatment efficacy (IETE). IETE predicted negative treatment outcomes in 100 % of cases (sensitivity – 100 %, specificity – 100 %). Prediction of a positive effect was less accurate: sensitivity – 70 %, specificity – 80 %. The sensitivity of the prediction of dynamics absence was 80 %, specificity – 70 %.

Conclusion. It is inappropriate to use the initial parameters of respiratory function as predictors of CEAP efficacy in BA treatment. IETE is an objective measurable indicator of BAPs and can be used to predict CEAP efficacy in BA treatment.

Key words: bronchial asthma, acupuncture, computerized electroacupuncture, reflexology.

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

References

1. Chuchalin A.G., Khaltaev N., Antonov N. Chronic respiratory diseases and risk factors in 12 regions of the Russian Federation. *International Journal of COPD*. 2014; 9: 963–974.
2. *Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention*; 2020. URL: www.ginasthma.org (accessed: January 20, 2022).
3. Reddel H.K., Bacharier L.B., Bateman E.D., Brightling C.E., Brusselle G.G., Buhl R., Cruz A.A., Duijts L., Drazen J.M., FitzGerald J.M., Fleming L.J., Inoue H., Ko F.W., Krishnan J.A., Levy M.L., Lin J., Mortimer K., Pitrez P.M., Sheikh A., Yorgancioglu A.A., Boulet L.P. Global Initiative for Asthma Strategy 2021: Executive Summary and Rationale for Key Changes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2022; 205 (1): 17–35. DOI: 10.1164/rccm.202109-2205PP.
4. Weber E.J., Silverman R.A., Callahan M.L. A prospective multicenter study factors associated with hospital admission among adults with acute asthma. *Am. J. Med.* 2002; 113: 371–378.
5. Yan-Ming Chen, Xiao-Lei Xie, Peng-Yun Xiao, Qiu-Hong Wang, Ji-Sheng Wang, Xu-Dong Yu, Sheng Deng. Acupuncture on treating asthma: A protocol for systematic review and meta analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020; 99 (1): e18457. DOI: 10.1097/MD.00000000000018457.
6. Brinkhaus B., Roll S., Jena S., Icke K., Adam D., Binting S., Lotz F., Willich S.N., Witt C.M. Acupuncture in Patients with Allergic Asthma: A Randomized Pragmatic Trial. *J. Altern. Complement. Med.* 2017; 23 (4): 268–277. DOI: 10.1089/acm.2016.0357.
7. Chen Y., Gao Y., Lu W., Gao W. Influence of acupuncture on the expression of VIP, SP, NKA and NKB, cAMP/cGMP and HE content and treatment of bronchial asthma in rats. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2020; 66 (5): 29–35.
8. Peskov A.B., Khokhlov M.P., Kerova I.R. Komp'yuternaya elektroakupunktura v lechenii bronkhial'noy astmy: kliniko-ekonomicheskaya effektivnost' [Computerized electroacupuncture in bronchial asthma treatment: clinical and economic efficacy]. *Traditsionnaya meditsina*. 2010; 20: 21–26 (in Russian).
9. Peskov A.B., Sashko M.I., Mashchuk V.N., Khokhlov M.P., Nikolaeva K.V. Aurikulyarnaya komp'yuternaya elektroakupunktura v terapii bronkhoobstruktivnogo sindroma: pokazateli funktsii vneshnego dykhaniya u bol'nykh bronkhial'noy astmoy i khronicheskoy obstruktivnoy bolezn'yu legkikh [Auricular computerized electroacupuncture in the treatment of broncho-obstructive syndrome: Indicators of respiratory function in patients with bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease]. *Medlayn.Ru. Rossiyskiy biomeditsinskiy zhurnal*. 2011; 12: 1394–1399 (in Russian).
10. Tabeeva D.M. *Prakticheskoe rukovodstvo po iglorefleksoterapii: uchebnoe posobie* [Practical guide to acupuncture: Manual]. Moscow: MEDpress-inform; 2004. 440 (in Russian).
11. Kramer F. *Uchebnik po elektroakupunktore* [Textbook on electroacupuncture]. Moscow: IMEDIS; 1995. 464 (in Russian).
12. Tsoy A.N., Arkhipov V.V. Kontrol' nad bronkhial'noy astmoy: kakim on budet zavtra? Issledovanie GOAL: obzor [Asthma control: What will it be like tomorrow? GOAL study: Overview]. *Pul'monologiya*. 2004; 4: 92–104 (in Russian).

Received 23 February 2022; accepted 20 April 2022.

Information about the authors

Golubtsova Tat'yana Sergeevna, Teaching Assistant, Chair of Hospital Therapy, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: ta.golubcova@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4012-7375>.

Yudina Elena Evgen'evna, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Chair of Hospital Therapy, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: yudlena@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4803-4931>.

Pribylova Svetlana Alekseevna, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Chair of Postgraduate Education and Family Medicine, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: s.pribylova@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4180-1499>.

Kerova Irina Rinatovna, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Chair of Postgraduate Education and Family Medicine, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: i_kerova@bk.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0340-7370>.

Peskov Andrey Borisovich, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Dean, Department of Postgraduate Medical and Pharmaceutical Education, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: abp_sim@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7323-9934>.

Volkov Maksim Anatol'evich, Candidate of Sciences (Physics and Mathematics), Associate Professor, Dean of the Department of Mathematics, Information and Aviation Technologies, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42. e-mail: volkovmax1977@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8143-8917>.

Khokhlov Mikhail Pavlovich, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Chair of Postgraduate Education and Family Medicine, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: mikhokhlov@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9165-6395>.

Kostishko Boris Mikhaylovich, Doctor of Sciences (Physics and Mathematics), Professor, Rector, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42. e-mail: contact@ulsu.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1112-0740>.

For citation

Golubtsova T.S., Yudina E.E., Pribylova S.A., Kerova I.R., Peskov A.B., Volkov M.A., Khokhlov M.P., Kostishko B.M. Prediktory effektivnosti komp'yuternoy elektroakupunktury v lechenii bronkhial'noy astmy [Predictors of computerized electroacupuncture efficacy in bronchial asthma treatment]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskiy zhurnal*. 2022; 3: 23–34. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-23-34 (in Russian).

УДК 616.131-005.7

DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-35-42

СЛОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Н.В. Макарова¹, Е.И. Бусалаева^{1,2}, И.А. Туїзарова^{1,3}, М.А. Визе-Хрипунова⁴

¹ ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Россия;

² ГАУ ДПО «Институт усовершенствования врачей»

Министерства здравоохранения Чувашской Республики, г. Чебоксары, Россия;

³ БУ «Больница скорой медицинской помощи» Министерства здравоохранения Чувашской Республики, г. Чебоксары, Россия;

⁴ ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

Тромботическое поражение венозного русла нижних конечностей, прежде всего глубоких вен, представляет собой острое состояние, которое развивается в результате комплексного действия ряда факторов. При этом непосредственная угроза жизни больного связана с развитием острой тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА). Широкий спектр симптомов, наслаивающихся на проявления основного заболевания, обуславливает тяжесть состояния пациента, затрудняет своевременную диагностику и лечение, способствует неблагоприятному прогнозу и высокой смертности. В связи с этим относительный риск развития ТЭЛА необходимо оценивать у всех пациентов независимо от возраста. В статье приводятся данные об эпидемиологии, факторах риска, особенностях течения и методах диагностики тромбоэмболических осложнений в реальной клинической практике.

Описан клинический случай внебольничной пневмонии у молодого мужчины с малосимптомным тромбозом глубоких вен нижних конечностей и развитием множественной ТЭЛА. Это сочетание определило тяжесть его состояния, трудности прижизненной диагностики сопутствующей патологии и неблагоприятный прогноз. Диагноз был подтвержден при аутопсии выявлением тромбов разной степени зрелости в сосудистом русле легких.

Ключевые слова: тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), внебольничная пневмония, венозная тромбоэмболия, факторы риска.

Введение. Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) – одно из самых драматически протекающих острых сосудистых заболеваний человека, часто имеющее летальный исход. Это грозное осложнение может быть результатом целого ряда патологических состояний и заболеваний, затрагивающих профессиональную сферу деятельности врача любой специальности [1–4]. Широкий спектр симптомов, которые наслаиваются на проявления основного заболевания, обуславливает тяжесть состояния пациента, затрудняет своевременную диагностику и лечение, способствует неблагоприятному прогнозу и высокой смертности [5–7].

Данные по заболеваемости и смертности при ТЭЛА до настоящего времени нуждаются в уточнении, поскольку большое число случаев данной патологии остается клинически

нераспознанным и выявляется лишь при аутопсии. По данным литературы, распространенность ТЭЛА колеблется от 23 до 220 случаев на 100 тыс. населения в год. Смертность от ТЭЛА в общей популяции составляет 2,1–6,2 %. При обычных патологоанатомических вскрытиях ТЭЛА выявляют в 4–33 % случаев всех аутопсий, а в старших возрастных группах этот показатель увеличивается до 60 %. Проведение целенаправленного анализа результатов аутопсий свидетельствует о том, что в 50–80 % случаев ТЭЛА клинически не диагностировалась, а в ряде случаев данная патология включалась лишь как предположительный диагноз. Даже массивная легочная эмболия прижизненно диагностируется только в 40–70 % случаев [1–4].

В настоящее время ТЭЛА, тромбоз глубоких и подкожных вен относят к венозным

тромбоэмболическим осложнениям (ВТЭО), которые обуславливают высокую смертность и становятся важнейшей проблемой клинической медицины. По данным официальной статистики Минздрава России, в стране ежегодно выявляется около 80 000 новых случаев тромботических поражений венозного русла нижних конечностей, прежде всего глубоких вен. Легочная эмболия регистрируется ежегодно с частотой 35–40 случаев на 100 тыс. населения. При этом непосредственная угроза жизни больного связана не с собственно тромботическим поражением венозного русла, а с развитием ТЭЛА. В течение месяца после выявления тромбоза глубоких вен от легочной эмболии умирают до 6 % пациентов [1, 2, 8, 9].

До середины 90-х гг. XX в. большинство исследований по данной проблеме было сосредоточено на пациентах хирургического профиля в связи с высоким уровнем распространения среди них венозных тромбоемболий (ВТЭ). Как следствие, получило признание представление о необходимости профилактики ВТЭ именно у хирургических пациентов. Однако целенаправленные эпидемиологические исследования последующих лет показали, что риск развития ВТЭ и ТЭЛА у пациентов с другими заболеваниями аналогичен таковому у хирургических больных. Более чем у половины больных с симптоматическими ВТЭ была установлена терапевтическая, а не хирургическая патология [1, 2].

В рекомендациях ESC по диагностике и лечению острой легочной эмболии, разработанных в сотрудничестве с Европейским респираторным обществом в 2019 г., подчеркивается существование большого числа внешних и внутренних факторов риска (ФР), наличие которых повышает вероятность, или относительный шанс (ОШ), развития ВТЭ. Считается, что ВТЭ является следствием взаимодействия между постоянными ФР, связанными с пациентами, и временными ФР, обусловленными конкретной клинической ситуацией. Их выявление и категоризация имеют большое значение для оценки предрасположенности к заболеванию, определения его прогноза и риска рецидива, а следовательно, являются определяющими при принятии решения о

проведении и/или продлении антикоагулянтной терапии [1, 2, 8, 9].

Среди постоянных ФР отмечаются генетически обусловленные нарушения гемостаза, предрасполагающие к развитию ВТЭО. Своевременное выявление генетически обусловленных нарушений свертывающей и противосвертывающей систем крови, а также повышенной склонности к тромбозу сосудов позволяет выделить группу риска по развитию ТЭЛА и повысить эффективность профилактических мероприятий у предрасположенных лиц [1, 2, 8, 9].

В целом ВТЭ могут рассматриваться как часть кардиоваскулярного континуума, имеющая общие для сосудистых заболеваний ФР, такие как табакокурение, ожирение, гиперхолестеринемия, гипертония и сахарный диабет [1, 2, 8]. Особое место в прогнозе ВТЭО занимают варикозная болезнь и тяжелые наследственные тромбофилии. Распространенными триггерами развития ВТЭ являются инфекции, особенно пневмония и инфекции мочевыводящих путей [1, 2, 8].

Согласно рекомендациям ESC (2019) клиническая вероятность ВТЭО у конкретного пациента определяется по трёхуровневой системе: низкий риск (ОШ 0–3), промежуточный риск (ОШ 4–10), высокий риск (ОШ ≥ 11). Возможно применение двухуровневой шкалы определения риска ТЭЛА: 0–5 – маловероятна, ≥ 6 – вероятна.

В настоящее время для оценки клинической вероятности ТЭЛА используются канадская шкала (Wells et al., 2000) и пересмотренная женеvская шкала (Le Gal G. et al., 2006), включенные в международные стандарты обследования и лечения ТЭЛА. Шкала Wells включает 7 показателей (клинические признаки тромбоза глубоких вен, тромбоз глубоких вен или ТЭЛА в анамнезе, хирургия или иммобилизация в последние 4 нед., тахикардия 100 уд./мин и более, кровохарканье, злокачественная опухоль в активной стадии, альтернативный диагноз менее вероятен). Клиническую вероятность ТЭЛА можно оценить как низкую при значении суммарного показателя по шкале Wells 0–1 балл, промежуточную – от 2 до 6 баллов, высокую – 7 баллов и более [1, 2].

Шкала Geneva состоит из 8 показателей (тромбоз глубоких вен или ТЭЛА в анамнезе, частота сердечных сокращений более 75 уд./мин, хирургия или перелом в течение последнего месяца, кровохарканье, злокачественная опухоль в активной стадии, односторонняя боль в конечности, боль в ноге при пальпации или односторонний отек, возраст старше 65 лет). По шкале Geneva вероятность ТЭЛА при суммарном балле 3 и менее рассматривают как низкую, от 4 до 10 баллов – промежуточную, более 11 баллов – высокую [1, 2, 5].

Все вышеизложенное определяет важность целенаправленного поиска и прижизненной диагностики ВТЭО, оценки вероятности ТЭЛА и ее профилактики в группах риска, повышения качества диагностики и лечения данных состояний при их развитии.

В качестве иллюстрации приводим собственное наблюдение.

Пациент М., 27 лет. Госпитализирован с жалобами на покашливание со скудной мок-

ротой слизисто-гнойного характера, повышение температуры до 38 °С, одышку смешанного характера при ходьбе, общую слабость, снижение аппетита.

Работает программистом и много времени проводит сидя за компьютером. Курит в течение 10 лет около одной пачки сигарет в день.

Из анамнеза. Считает себя больным около недели, когда без видимой причины появились и постепенно стали нарастать кашель со скудной мокротой, одышка и слабость. Обратился к участковому терапевту, который при аускультации легких выслушал жесткое дыхание, несколько ослабленное в нижних отделах слева, число дыхательных движений (ЧДД) в покое – 17 в мин. Тоны сердца ясные, ритм правильный, число сердечных сокращений (ЧСС) – 78 уд./мин. Артериальное давление (АД) – 120/80 мм рт. ст. Со стороны других органов и систем – без особенностей.

Данные общего анализа крови представлены в табл. 1.

Таблица 1

Table 1

Динамика общего анализа крови пациента М.

Blood test dynamics of patient M.

Дата Date	Эр, $\times 10^{12}/л$ RBC, $\times 10^{12}/л$	Нб, г/л Hb, g/l	Тр, $\times 10^9/л$ Th, $\times 10^9/л$	СОЭ*, мм/ч ESR, mm/h	Л, $\times 10^9/л$ WBC, $\times 10^9/л$	С/я, % Sn/n, %	П/я, % S/n, %	Лф, % Lph, %	М, % M, %
1.07	4,77	146	189	38	11,9	69	4	21	6
2.07	5,1	142	192	24	11,2	59	3	17	13
3.07	4,77	145	190	33	10,4	67	3	22	7
4.07	4,2	125	134	25	6,6	71	1	23	3

Примечание. Эр – эритроциты, Нб – гемоглобин, Тр – тромбоциты, Л – лейкоциты, С/я – сегментоядерные нейтрофилы, П/я – палочкоядерные нейтрофилы, Лф – лимфоциты, М – моноциты. * – скорость оседания эритроцитов по Панченкову.

Note. RBC – red blood cells, Hb-hemoglobin, Th – thrombocytes, WBC – white blood cells, Sn/n – segmentonuclear neutrophils, S/n – stab neutrophils, Lph –lymphocytes, M – monocytes. * – erythrocyte sedimentation rate according to Panchenkov.

При рентгенологическом исследовании (рис. 1) в прямой и левой боковой проекциях в нижней доле левого легкого определяется диффузное усиление легочного рисунка, на уровне сегментов S₈₋₉ – участок инфильтрации

неоднородной структуры с неровными контурами. Корни структурны, тяжисты. Тень сердца, дуга аорты без особенностей. Синусы, купол диафрагмы с обеих сторон без видимых изменений.

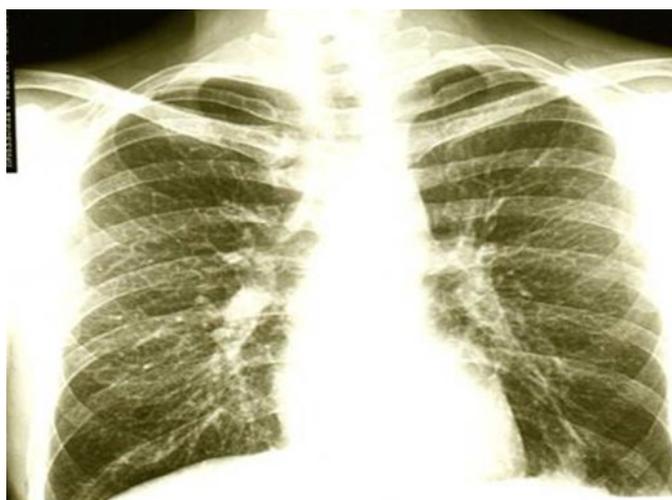


Рис. 1. Рентгенограмма органов грудной полости пациента М.

Fig. 1. Chest X-ray of patient M.

Осмотр при госпитализации (на 9-й день с момента появления жалоб): больной астенического телосложения; перкуторный легочный звук с умеренным притуплением в подлопаточной области слева. При аускультации дыхание везикулярное, над зоной притупления на фоне жесткого дыхания умеренное количество влажных мелкопузырчатых хрипов. ЧДД 19 в мин. Тоны сердца приглушены, ритм правильный, ЧСС 88 уд./мин, АД 120/70 мм рт. ст., температура тела 37,2 °С. Результаты общего анализа крови представлены в табл. 1 (от 2 июля).

Биохимическое исследование крови (стандартная панель): все показатели в пределах референсных значений. В коагулограмме при поступлении повышение фибриногена А до 4,44 г/л.

Начато эмпирическое этиотропное лечение пневмонии: цефтриаксон внутривенно 2,0 в сут в сочетании с кларитромицином 1,0 в сут парентерально, амброксол по 1 таблетке 3 раза в день.

На фоне лечения пациент отмечал усиление одышки, сердцебиение при ходьбе, выраженную общую слабость, сухой приступообразный кашель. При аускультации в легких сохранялись жесткое дыхание и влажные мелкопузырчатые хрипы в подлопаточной области слева, ЧДД 18 в мин. Тоны сердца приглушены, ритм правильный. АД 115/70 мм рт. ст., ЧСС 80 уд./мин, температура тела 37,2 °С.

4 июля (13-й день с момента появления жалоб и 3-й день госпитализации) пациент отметил усиление одышки при малейшей нагрузке, учащенное сердцебиение, при ходьбе стал резко бледнеть и задыхаться, появилась боль по внутренней поверхности правого бедра. Пальпация в проекции сосудистых пучков нижних конечностей: без патологических уплотнений и отека, по внутренней поверхности правого бедра определялась пальпаторная болезненность по ходу поверхностной бедренной вены. Со стороны легких аускультативная картина без существенной динамики, ЧДД 18 в мин. Тоны сердца приглушены, ритмичные, дующий систолический шум на верхушке без иррадиации. АД 110/70 мм рт. ст., ЧСС 98 уд./мин. Документировано повышение уровня D-димера в 4,5 раза.

При повторном активном опросе врачом больной вспомнил, что за несколько дней до появления температуры чувствовал боль по медиальной поверхности бедра, усиливающуюся при ходьбе, но она утихла и пациент о ней забыл. С учетом предполагаемого острого тромбоза сосудов нижних конечностей и ТЭЛА полностью пересмотрена тактика ведения, к лечению добавлен гепарин, запланировано проведение эхокардиоскопии, ультразвуковой доплерографии сосудов нижних конечностей, ангиопульмонографии.

Однако больной нарушил постельный режим, самовольно вышел курить на лестнич-

ную площадку, где начались судороги и наступила внезапная потеря сознания.

В агональном состоянии была проведена эхокардиография. Во всех полостях сердца обнаружены тени, подозрительные на формирующиеся тромботические массы. Несмотря на проводимые реанимационные мероприятия, пациент скончался.

При патологоанатомическом исследовании выявлена варикозная болезнь вен нижних конечностей. В просвете глубоких вен,

сосудов легких определялись тромботические массы темно-красного цвета (рис. 2). Гистологическое исследование легких показало утолщение стенок сосудов, местами расширение сосудов, истончение части стенок, в просвете определялись тромбы смешанного строения, часть – с признаками организации. Диагностирована тромбоэмболия ствола, бифуркации ветвей меньшего калибра, множественные инфаркты правого и левого легкого (рис. 3).

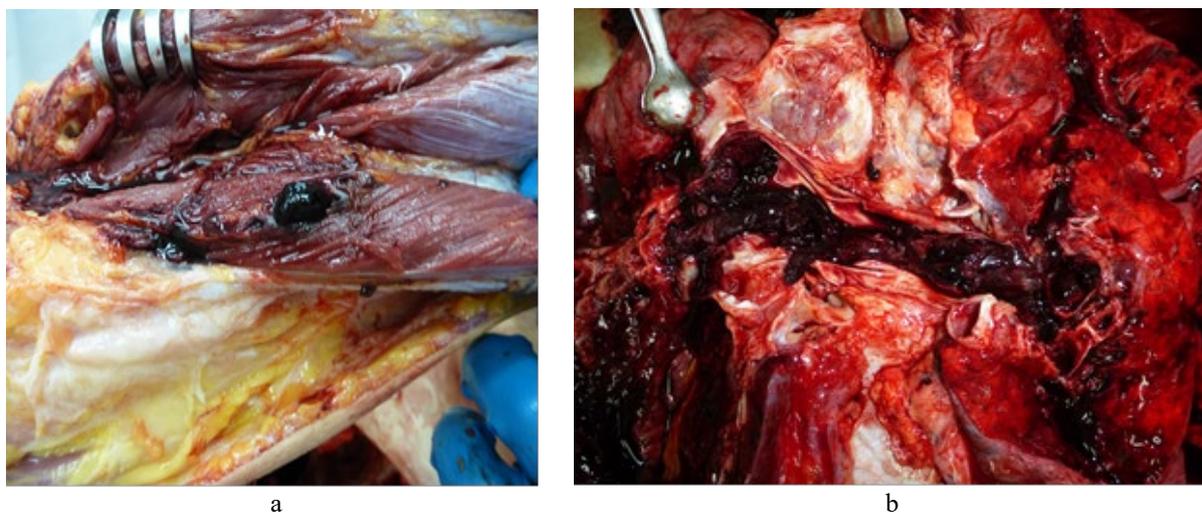


Рис. 2. Тромботические массы в просвете вен нижних конечностей (а) и сосудов легких (б)

Fig. 2. Thrombotic masses in the lumen of lower extremity veins (a) and lung vessels (b)



Рис. 3. Инфаркт легкого

Fig. 3. Pulmonary apoplexy

Возможно ли было заподозрить развитие ТЭЛА в описанном случае?

У молодого мужчины имелась совокупность ФР развития ВТЭО, как внешних (мало-

подвижный образ жизни, условия труда, курение), так и внутренних (патология венозного русла с бессимптомными тромбозами глубоких вен нижних конечностей). Заболевание

внебольничной пневмонией усугубило ситуацию по развитию ВТЭО и привело к развитию ТЭЛА у предрасположенного лица.

По шкале Geneva у пациента выявлены следующие критерии: односторонняя боль в нижней конечности – 3 балла; ЧСС > 95 уд./мин – 5 баллов; боль в ноге при пальпации и односторонний отек – 4 балла. Всего 12 баллов, т.е. вероятность развития ТЭЛА – высокая.

Осложнения множественной ТЭЛА с поражением легких и явлениями организации тромбов разной степени зрелости у пациента с латентным течением варикозной болезни глубоких вен нижних конечностей определили тяжесть его состояния, сложности прижизненной диагностики проявлений ТЭЛА на фоне внебольничной пневмонии и привели к летальному исходу.

Таким образом, у практикующих врачей должна быть настороженность в отношении ТЭЛА у пациентов не только хирургического профиля. Необходим тщательный и целенаправленный сбор жалоб, данных анамнеза и объективного осмотра, оценка параметров системы гемостаза независимо от возраста пациента. Поиск ФР развития ТЭЛА, включающий применение диагностического протокола лабораторных и инструментальных исследований, современных рекомендаций и мирового опыта с распределением пациентов по степени риска развития ТЭЛА, позволяет повысить эффективность лечебных мероприятий на ранних стадиях заболевания. Непременным условием успеха будет строгое выполнение врачами всех специальностей современных клинических рекомендаций, разработанных на основе совокупного мирового опыта.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Рекомендации ESC по диагностике и лечению острой легочной эмболии, разработанные в сотрудничестве с Европейским респираторным обществом (ERS), 2019. Российский кардиологический журнал. 2020; 25 (8): 3848. DOI: 10.15829/1560-4071-2020-3848.
2. *Konstantinides S., Meyer G., Becattini C.* 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *European Heart Journal*. 2020; 41; 543–603.
3. *Димитриева О.В., Бусалаева Е.И., Васильева Н.П.* Тромбоэмболия легочной артерии в реальной клинической практике. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; 4; 17–26.
4. *Крукович А.А., Примак Н.В., Захарчук Н.В., Мокшина М.В.* Тромбоэмболия легочной артерии: вопросы диагностики и прогноза. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2017; 4; 31–37. DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2017.4.31–37.
5. *Блинова В.В., Богданова Т.М., Семенова В.А., Вологина А.П.* Тромбоэмболия легочной артерии у пациентов с постоянной электрокардиостимуляцией: трудности диагностики. *Современные проблемы науки и образования*. 2020; 1. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=29580> (дата обращения: 08.06.2021).
6. *Тарасова Л.В., Димитриева О.В., Бусалаева Е.И., Васильева Н.П.* Тромбоэмболия легочной артерии как раннее проявление злокачественного новообразования поджелудочной железы. *Терапия*. 2020; 4; 160–167.
7. *Кансултанова Д.А., Ползик Г.Б., Файкова Г.А.* Клинический случай тромбоэмболии легочной артерии. *Вестник КазНМУ*. 2016; 2; 24–27.
8. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению, профилактике венозных тромбоэмболических осложнений. *Флебология*. 2015; 9 (4/2): 4–46.
9. *Mazzolai L., Aboyans V., Ageno W.* Diagnosis and management of acute deep vein thrombosis: a joint consensus document from the European Society of Cardiology working groups of aorta and peripheral vascular diseases and pulmonary circulation and right ventricular function. *Eur. Heart J*. 2018; 39: 4208–4218.

Поступила в редакцию 16.06.2021; принята 07.07.2022.

Авторский коллектив

Макарова Надежда Васильевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской и госпитальной терапии, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова». 428015, Россия, г. Чебоксары, Московский пр., 15; e-mail: mx-nadezhda@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3872-4293>.

Бусалаева Елена Исаковна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры факультетской и госпитальной терапии, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова». 428015, Россия, г. Чебоксары, Московский пр., 15; доцент кафедры терапии и семейной медицины, ГАУ ДПО «Институт усовершенствования врачей» Минздрава Чувашской Республики. 428000, Россия, г. Чебоксары, ул. М. Сеселя, 27; e-mail: busa-elena@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7313-0365>.

Туйзарова Ирина Алексеевна – ассистент кафедры факультетской и госпитальной терапии, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова». 428015, Россия, г. Чебоксары, Московский пр., 15; врач, БУ «Больница скорой медицинской помощи» Минздрава Чувашской Республики. 428017, Россия, Московский пр., 47; e-mail: irina_tuizarova@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7246-5868>.

Визе-Хрипунова Марина Анатольевна – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой госпитальной терапии, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: vize-marina@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7510-4950>.

Образец цитирования

Макарова Н.В., Бусалаева Е.И., Туйзарова И.А., Визе-Хрипунова М.А. Сложности диагностики тромбоемболии легочной артерии в клинической практике. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 35–42. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-35-42.

PULMONARY EMBOLISM: CHALLENGES IN CLINICAL DIAGNOSIS

N.V. Makarova¹, E.I. Busalaeva^{1,2}, I.A. Tuyzarova^{1,3}, M.A. Vize-Khripunova⁴

¹ Chuvash State University named after I.N. Ulyanov, Cheboksary, Russia;

² Institute for Advanced Medical Education, Ministry of Health of the Chuvash Republic, Cheboksary, Russia;

³ Emergency Care Hospital, Ministry of Health of the Chuvash Republic, Cheboksary, Russia;

⁴ Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia

Vein thrombosis of the lower extremities, especially deep, is an acute condition which develops under the influence of multiple factors. In this case, the immediate threat to the patient's life is associated with the development of acute pulmonary embolism (PE). A wide range of symptoms accompanied by the underlying disease manifestations determines patient's grave condition, complicates timely diagnosis and treatment, contributes to a poor prognosis and high mortality. Thus, the risk ratio of PE development should be assessed in all patients, regardless of age. The article provides data on the epidemiology, risk factors, clinical features and diagnosis of thromboembolic complications in real clinical practice.

The paper describes a clinical case of community-acquired pneumonia in a young man with asymptomatic deep vein thrombosis of the lower extremities and the development of multiple pulmonary embolism. A combination of diseases determined the severity of patient's state, the challenges of intravital diagnosis of the concomitant pathology and a poor prognosis due to such a combination. The diagnosis was confirmed at autopsy by the detection of various clots in the lung vascular bed.

Key words: pulmonary embolism (PE), community-acquired pneumonia, venous thromboembolism, risk factors.

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

References

1. Rekomendatsii ESC po diagnostike i lecheniyu ostroy legochnoy embolii, razrabotannye v sotrudnichestve s Evropeyskim respiratornym obshchestvom (ERS), 2019 [2019 ESC Guidelines for the diagnosis

- and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS)]. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal*. 2020; 25 (8): 3848. DOI: 10.15829/1560-4071-2020-3848 (in Russian).
2. Konstantinides S., Meyer G., Becattini C. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *European Heart Journal*. 2020; 41; 543–603.
 3. Dimitrieva O.V., Busalaeva E.I., Vasil'eva N.P. Tromboemboliya legochnoy arterii v real'noy klinicheskoy praktike [Pulmonary embolism in real clinical practice]. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik*. 2020; 4; 17–26 (in Russian).
 4. Krukovich A.A., Primak N.V., Zakharchuk N.V., Mokshina M.V. Tromboemboliya legochnoy arterii: voprosy diagnostiki i prognoza [Pulmonary embolism: Diagnostics and prognosis]. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; 4: 31–37. DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2017.4.31–37 (in Russian).
 5. Blinova V.V., Bogdanova T.M., Semenova V.A., Vologina A.P. Tromboemboliya legochnoy arterii u patsientov s postoyannoy elektrokardiostimulyatsiyey: trudnosti diagnostiki [Pulmonary embolism in patients with permanent electrocardiostimulation: diagnostic difficulties]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2020; 1. Available at: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=29580> (accessed: June 08, 2021) (in Russian).
 6. Tarasova L.V., Dimitrieva O.V., Busalaeva E.I., Vasil'eva N.P. Tromboemboliya legochnoy arterii kak rannee proyavlenie zlokachestvennogo novoobrazovaniya podzheludochnoy zhelezy [Pulmonary embolism as early manifestation of malignant neoplasm of the pancreas]. *Terapiya*. 2020; 4: 160–167 (in Russian).
 7. Kapsultanova D.A., Polzik G.B., Faykova G.A. Klinicheskiy sluchay tromboembolii legochnoy arterii [Pulmonary embolism: A case-study]. *Vestnik KazNMU*. 2016; 2: 24–27 (in Russian).
 8. Rossiyskie klinicheskie rekomendatsii po diagnostike, lecheniyu, profilaktike venoznykh tromboembolicheskikh oslozhneniy [Russian clinical guidelines for the diagnosis, treatment, and prevention of venous thromboembolic events]. *Flebologiya*. 2015; 9 (4/2): 4–46 (in Russian).
 9. Mazzolai L., Aboyans V., Ageno W. Diagnosis and management of acute deep vein thrombosis: a joint consensus document from the European Society of Cardiology working groups of aorta and peripheral vascular diseases and pulmonary circulation and right ventricular function. *Eur. Heart J*. 2018; 39: 4208–4218.

Received 16 June 2022; accepted 7 July 2022.

Information about the authors

Makarova Nadezhda Vasil'evna, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Chair of Faculty and Hospital Therapy, Chuvash State University named after I.N. Ulyanov. 428015, Russia, Cheboksary, Moskovskiy Dr., 15; e-mail: mx-nadezhda@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3872-4293>.

Busalaeva Elena Isaakovna, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Chair of Faculty and Hospital Therapy, Chuvash State University named after I.N. Ulyanov. 428015, Russia, Cheboksary, Moskovskiy Dr., 15; Associate Professor, Chair of Therapy and Family Medicine, Institute for Advanced Medical Education, Ministry of Health of the Chuvash Republic. 428000, Russia, Cheboksary, M. Sespel' St., 27; e-mail: busa-elena@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7313-0365>.

Tuyzarova Irina Alekseevna, Teaching Assistant, Chair of Faculty and Hospital Therapy, Chuvash State University named after I.N. Ulyanov. 428015, Russia, Cheboksary, Moskovskiy Dr., 15; Doctor, Emergency Care Hospital, Ministry of Health of the Chuvash Republic. 428017, Russia, Cheboksary, Moskovskiy Dr., 47; e-mail: irina_tuizarova@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7246-5868>.

Vize-Khripunova Marina Anatol'evna, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Head of the Chair of Hospital Therapy, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: vize-marina@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7510-4950>.

For citation

Makarova N.V., Busalaeva E.I., Tuyzarova I.A., Vize-Khripunova M.A. Slozhnosti diagnostiki tromboembolii legochnoy arterii v klinicheskoy praktike [Pulmonary embolism: Challenges in clinical diagnosis]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskiy zhurnal*. 2022; 3: 35–42. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-35-42 (in Russian).

УДК 616.411

DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-43-48

ХРОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ ПОЧЕК У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ И ИХ ВЫЖИВАЕМОСТЬ

М.В. Марковцева¹, Е.Н. Згуральская²

¹ ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия;

² ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный технический университет»,
г. Ульяновск, Россия

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – одно из наиболее распространенных лимфопролиферативных заболеваний европейской популяции с увеличением частоты встречаемости в пожилом и старческом возрасте. Однако именно среди пожилых снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и наличие хронической болезни почек (ХБП) ассоциировано с наибольшим ухудшением долгосрочного прогноза.

Цель исследования – проанализировать встречаемость и прогностическое значение ХБП у пациентов с ХЛЛ.

Материалы и методы. Был проведен ретроспективный анализ течения ХЛЛ у 132 пациентов (60 мужчин и 72 женщины). Хроническую болезнь почек диагностировали, основываясь на Рекомендациях НОНР, 2021.

Результаты. Среди исследованных пациентов у 64 (48,5 %) была обнаружена ХБП: стадия С2 – у 23 чел. (17,4 %), стадия С3а – у 41 чел. (31,1 %). Частота встречаемости ХБП у пациентов с ХЛЛ выше, чем в аналогичной популяции без ХЛЛ. Обнаружен факт отсутствия связи между стадией ХЛЛ и выраженностью ХБП. Анализ выживаемости показал, что только 43 пациента (32,5 %) преодолели расчетную медиану выживаемости по классификации Vinet. Наличие у пациентов с ХЛЛ на момент постановки диагноза ХБП С3а находится в сильной прямой связи с выживаемостью.

Выводы. Хроническая болезнь почек наблюдается у 48,5 % пациентов с ХЛЛ. Установлено, что ХБП С3а ухудшает выживаемость больных с ХЛЛ.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, хроническая болезнь почек, общая выживаемость.

Введение. Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – одно из наиболее распространенных лимфопролиферативных заболеваний европейской популяции с дебютом в среднем возрасте (44–60 лет) и увеличением частоты встречаемости в пожилом (60–75 лет) и старческом (более 75 лет) возрасте [1]. Одновременно с этим известно, что снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и наличие хронической болезни почек (ХБП) все чаще встречается в общей популяции именно среди пожилых. Последнее ассоциировано с наибольшим ухудшением долгосрочного прогноза [2, 4].

Цель исследования. Проанализировать встречаемость и прогностическое значение ХБП у пациентов с ХЛЛ.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ течения ХЛЛ у 132 паци-

ентов (60 мужчин и 72 женщины), наблюдавшихся в гематологическом отделении ГУЗ УОКБ в период с января 2010 г. по февраль 2020 г. На момент постановки диагноза ХЛЛ у пациентов рассчитывалась СКФ по формуле СКD-EPI и оценивалось наличие ХБП в соответствии с классификацией и стратификацией стадии по уровню СКФ [2]. При нормальном (Гауссовом) распределении данных применялись параметрические методы с вычислением выборочного среднего (M), ошибки среднего (m) и стандартного отклонения. Статистическая компьютерная обработка проводилась с использованием программы Microsoft Office Excel.

Результаты. Средний возраст пациентов составил $66,0 \pm 10,3$ года, что соответствует известным данным о росте частоты встречаемо-

сти заболевания именно в этот возрастной период [1]. У 64 пациентов (48,5 %) была обнаружена ХБП: стадия С2 – у 23 чел. (17,4 %), стадия С3а – у 41 чел. (31,1 %). Полученная частота встречаемости ХБП значительно превышает результаты российских эпидемиологиче-

ских исследований, в которых зафиксировано наличие признаков ХБП лишь у 36 % лиц в возрасте старше 60 лет [2].

Структура ХБП в зависимости от стадии ХЛЛ по классификации Binet представлена в табл. 1.

Таблица 1
Table 1

Структура ХБП в зависимости от стадии ХЛЛ по классификации Binet
CKD structure depending on CLL stage according to Binet classification

Стадия ХБП CLL stage	ХЛЛ А по Binet, n=40 CLL A according to Binet, n=40	ХЛЛ В по Binet, n=64 CLL B according to Binet, n=64	ХЛЛ С по Binet, n=21 CLL C according to Binet, n=21
С2	11 чел. (8,3 %)	10 чел. (7,6 %)	2 чел. (1,5 %)
С3а	13 чел. (9,8 %)	25 чел. (18,9 %)	3 чел. (2,3 %)
Всего Total	24 чел. (18,2 %)	35 чел. (26,5 %)	5 чел. (3,8 %)

Обращает на себя внимание отсутствие связи между стадией ХЛЛ и выраженностью ХБП. Анализ выживаемости исследованных пациентов показал, что только 43 пациента (32,5 %) преодолели расчетную медиану выживаемости согласно классификации Binet. Особый интерес представляет факт обнаруженной сильной связи между ХБП С3а и выживаемостью. Ранее нами было установлено, что наличие у пациента с ХЛЛ на момент постановки диагноза СКФ более 76,5 мл/мин/1,73 м² можно рассматривать в качестве предиктора преодоления расчетной медианы выживаемости по классификации Binet [5]. Пациенты с ХБП С3а не относятся к этой категории больных. В проведенном исследовании ни один пациент, имевший ХБП С3а на момент постановки диагноза ХЛЛ, не преодолел расчетную медиану выживаемости по классификации Binet.

Обсуждение. В настоящее время в литературе упоминание заболеваний почек, связанных с ХЛЛ, ограничивается описанием случаев иммуноопосредованных гломерулопатий и интерстициальной инфильтрации моноклональными лимфоцитами [6–12]. Почечная интерстициальная инфильтрация является частой находкой при аутопсии пациентов с

ХЛЛ: от 44 до 90 % пациентов имеют В-клеточный инфильтрат, который может быть как узловым, так и диффузным, и его классическая локализация – субкапсулярная кора, кортико-медулярное соединение и вдоль сосудов [12–14]. Обычно инфильтрация почек моноклональными В-клетками является двусторонней и бессимптомной, ее диагностируют или подозревают на поздних стадиях заболевания [15]. Даже массивная инфильтрация обеих почек может оставаться полностью бессимптомной длительное время [8]. Осадок мочи обычно нормальный, протеинурия не превышает 1 г/сут. Одновременно с этим почечная инфильтрация может проявляться как острая почечная недостаточность или умеренная ХБП [9, 10, 16, 17]. Механизмы, посредством которых инфильтрат может способствовать снижению СКФ, не ограничиваются механической компрессией [18]. Провоспалительные и профибротические цитокины, высвобождаемые инфильтрирующими клетками, могут играть важную роль в тубуло-интерстициальном повреждении [19, 20]. Исследования показали, что интерстициальный фиброз чаще встречается именно в областях интерстициальной инфильтрации [13, 21].

Рассматривая генез ХБП у исследованных пациентов, можно сказать, что наличие у них ХЛЛ является значимым, но не единственным фактором повреждения почечной ткани. Пациенты имели пожилой возраст, а также ряд коморбидных состояний, относящихся к факторам риска ХБП: артериальная гипертензия зарегистрирована у 65,6 % (42 чел.), ожирение – у 28,1 % (18 чел.), табакокурение – у 15,6 % (10 чел.), неалкогольная жировая болезнь печени – у 10,9 % (7 чел.), сахарный диабет – у 7,8 % (5 чел.). Указанные состояния, несомненно, имеют значение в развитии ХБП у обследованных больных.

У больных ХЛЛ возможно развитие острого интерстициального нефрита, однако у обследованных пациентов подобной патологии не отмечалось. Согласно литературным данным у пациентов с ХЛЛ наиболее частыми поражениями являются мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит (36 %) и мембранозная нефропатия (19 %). Последняя часто имеет атипичные характеристики [22]. Моноклональ-

ный белок, секретируемый В-клеточным клоном, может быть непосредственно вовлечен в патогенез указанных поражений. Напротив, преобладание Т-клеток и/или смешанной популяции лимфоцитов в интерстициальных скоплениях является веским аргументом против диагностики инфильтрации, связанной с ХЛЛ [21]. Необходимо учитывать возможность лекарственного поражения почек в связи с полипрагмазией у больных пожилого и старческого возраста [23].

Заключение. Таким образом, паранеопластические реакции и специфическая инфильтрация при ХЛЛ способны вносить существенный вклад в нарушение функции почек. Лимфопролиферативное заболевание в совокупности с иными факторами риска ХБП связано с более высокой частотой встречаемости повреждения почек, чем в иных группах. В проведенном исследовании установлено, что ХБП С3а оказывает значимое негативное влияние на выживаемость больных с ХЛЛ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Савченко В.Г., ред. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. В 2 т. Т. 2. Москва: Практика; 2018.
2. Клинические рекомендации. Хроническая болезнь почек (ХБП). Нефрология. 2021; 25 (5): 10–82.
3. Coresh J., Astor B.C., Greene T. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am. J. Kidney Dis.* 2003; 41 (1): 1–12.
4. Li S., Foley R.N., Collins A.J. Anemia and cardiovascular disease, hospitalization, end stage renal disease, and death in older patients with chronic kidney disease. *Int. Urol. Nephrol.* 2005; 37: 395–402.
5. Марковцева М.В., Згуральская Е.Н. Патент РФ № 2725877 C1; 2020.
6. Uprety D., Peterson A., Shah B.K., Dou X., Hu H. Renal failure secondary to leukemic infiltration of kidneys in CLL – a case report and review of literature Concurrent nephrotic syndrome and acute renal failure caused by chronic lymphocytic leukemia (CLL): a case report and literature review. *Ann Hematol.* 2013; 92: 271–273.
7. Kamat A.V., Goldsmith D., O'Donnell P., van der Walt J., Carr R. Renal failure with granulomatous interstitial nephritis and diffuse leukemic renal infiltration in chronic lymphocytic leukemia. *Ren Fail.* 2007; 29: 763–765.
8. Da'as N., Polliack A., Cohen Y., Amir G., Darmon D. Kidney involvement and renal manifestations in non-Hodgkin's lymphoma and lymphocytic leukemia: a retrospective study in 700 patients. *Eur. J. Haematol.* 2001; 67: 158–164.
9. Phillips J.K., Bass P.S., Majumdar G., Davies D.R., Jones N.F. Renal failure caused by leukaemic infiltration in chronic lymphocytic leukaemia. *J. Clin. Pathol.* 1993; 46: 1131–1133.
10. Haraldsdottir V., Haanen C., Jordans J.G. Chronic lymphocytic leukaemia presenting as renal failure with lymphocytic infiltration of the kidneys. *Neth J. Med.* 1992; 41: 64–67.
11. Moulin B., Ronco P.M., Mougnot B., Francois A., Fillastre J.P. Glomerulonephritis in chronic lymphocytic leukemia and related B-cell lymphomas. *Kidney Int.* 1992; 42: 127–135.

12. *Seney F.D.Jr., Federgreen W.R., Stein H., Kashgarian M.* A review of nephrotic syndrome associated with chronic lymphocytic leukemia. *Arch Intern Med.* 1986; 146: 137–141.
13. *Schwartz J.B., Shamsuddin A.M.* The effects of leukemic infiltrates in various organs in chronic lymphocytic leukemia. *Hum Pathol.* 1981; 12: 432–440.
14. *Norris H.J., Wiener J.* The renal lesions in leukemia. *Am. J. Med. Sci.* 1961; 241: 512–518.
15. *Ferreira A.C., Brum S., Carvalho D., Pataca I., Carvalho F.* Renal dysfunction due to leukemic infiltration of kidneys in a case of chronic lymphocytic leukemia. *Hemodial Int.* 2010; 14: 87–90.
16. *Comerma-Coma M.I., Sans-Boix A., Tuset-Andujar E., Andreu-Navarro J., Perez-Ruiz A.* Reversible renal failure due to specific infiltration of the kidney in chronic lymphocytic leukaemia. *Nephrol Dial Transplant.* 1998; 13: 1550–1552.
17. *Rockx M.A., Rizkalla K., Clark W.F.* Acute renal failure and chronic lymphocytic leukaemia. *Nephrol Dial Transplant.* 2008; 23: 770–771.
18. *Pagniez D.C., Fenaux P., Delvallez L., Dequiedt P., Gosselin B.* Reversible renal failure due to specific infiltration in chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Med.* 1988; 85: 579–580.
19. *Hsu S.M., Waldron J.W.Jr., Hsu P.L., Hough A.J.Jr.* Cytokines in malignant lymphomas: review and prospective evaluation. *Hum Pathol.* 1993; 24: 1040–1057.
20. *Lommatzsch S.E., Bellizzi A.M., Cathro H.P., Rosner M.H.* Acute renal failure caused by renal infiltration by hematolymphoid malignancy. *Ann Diagn Pathol.* 2006; 10: 230–234.
21. *Aymard B., Beghoura R., Molina T.J.* Renal infiltrate by a plasmacytoid chronic B lymphocytic leukaemia and renal failure: a rare occurrence in nephropathology. A case report and review of the literature. *Nephrol Ther.* 2011; 7: 479–487.
22. *Moulin B., Chantrel F., Petitjean P., Ronco P.M.* Chronic lymphoproliferative disorders and glomerular diseases: review of the literature and pathophysiological considerations. *J. Nephrol.* 1995; 8: 20–26.
23. *Панова Е.А., Серов В.А., Шутов А.М., Бакумцева Н.Н., Кузовенкова М.Ю.* Полипрагмазия у амбулаторных пациентов пожилого возраста. *Ульяновский медико-биологический журнал.* 2019; 2: 16–22.

Поступила в редакцию 16.06.2021; принята 07.07.2022.

Авторский коллектив

Марковцева Мария Владимировна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной терапии, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: mmark7@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-7299-5268>.

Згуральская Екатерина Николаевна – кандидат технических наук, доцент кафедры информационных технологий и общенаучных дисциплин, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный технический университет». 432027, Россия, г. Ульяновск, ул. Северный Венец, 32; e-mail: iatu@inbox.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1527-9692>.

Образец цитирования

Марковцева М.В., Згуральская Е.Н. Хроническая болезнь почек у пациентов с хроническим лимфолейкозом и их выживаемость. *Ульяновский медико-биологический журнал.* 2022; 3: 43–48. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-43-48.

CHRONIC KIDNEY DISEASE IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHATIC LEUKEMIA AND THEIR SURVIVABILITY

M.V. Markovtseva¹, E.N. Zgural'skaya²

¹ Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia;

² Ulyanovsk State Technical University, Ulyanovsk, Russia

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is one of the most common lymphoproliferative diseases in the European population with an increase in the incidence in the elderly and senile age. However, it is among the elderly that a decrease in glomerular filtration rate (GFR) and concomitant chronic kidney disease (CKD) are associated with the severity in long-term prognosis.

The aim of the study was to analyze CKD incidence and prognostic value in patients with CLL. Materials and Methods. CLL retrospective analysis was performed in 132 patients (60 men and 72 women). CKD was diagnosed according to the 2021-Guidelines of Russian Scientific Society of Nephrologists. Results. Among the examined patients, 64 (48.5 %) were diagnosed with CKD: stage C2 – in 23 patients. (17.4 %), stage C3a – in 41 patients. (31.1 %). CKD incidence in patients with CLL was higher than in the similar population without CLL. The authors revealed that there was no correlation between CLL stage and CKD severity. Survival analysis showed that only 43 patients (32.5 %) overcame the estimated Binet median survival. C3a in patients with CLL at the time of CKD diagnosis is strongly correlated with survival.

Conclusion. CKD occurs in 48.5 % of patients with CLL. It has been established that C3a CKD worsens CLL patient survivability.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, chronic kidney disease, overall survivability.

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

References

1. Savchenko V.G. *Algoritmy diagnostiki i protokoly lecheniya zabolevaniy sistemy krovi* [Diagnostic algorithms and protocols for the treatment of hematologic diseases]. V 2 t. T. 2. Moscow: Praktika; 2018 (in Russian).
2. Klinicheskie rekomendatsii. Khronicheskaya bolezn' pochek (KhBP) [Clinical guidelines. Chronic kidney disease (CKD)]. *Nefrologiya*. 2021; 25 (5): 10–82 (in Russian).
3. Coresh J., Astor B.C., Greene T. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am. J. Kidney Dis.* 2003; 41 (1): 1–12.
4. Li S., Foley R.N., Collins A.J. Anemia and cardiovascular disease, hospitalization, end stage renal disease, and death in older patients with chronic kidney disease. *Int. Urol. Nephrol.* 2005; 37: 395–402.
5. Markovtseva M.V., Zgural'skaya E.N. *Patent RF № 2725877 C1*; 2020 (in Russian).
6. Uprety D., Peterson A., Shah B.K., Dou X., Hu H. Renal failure secondary to leukemic infiltration of kidneys in CLL – a case report and review of literature Concurrent nephrotic syndrome and acute renal failure caused by chronic lymphocytic leukemia (CLL): a case report and literature review. *Ann Hematol.* 2013; 92: 271–273.
7. Kamat A.V., Goldsmith D., O'Donnell P., van der Walt J., Carr R. Renal failure with granulomatous interstitial nephritis and diffuse leukemic renal infiltration in chronic lymphocytic leukemia. *Ren Fail.* 2007; 29: 763–765.
8. Da'as N., Polliack A., Cohen Y., Amir G., Darmon D. Kidney involvement and renal manifestations in non-Hodgkin's lymphoma and lymphocytic leukemia: a retrospective study in 700 patients. *Eur. J. Haematol.* 2001; 67: 158–164.
9. Phillips J.K., Bass P.S., Majumdar G., Davies D.R., Jones N.F. Renal failure caused by leukaemic infiltration in chronic lymphocytic leukaemia. *J. Clin. Pathol.* 1993; 46: 1131–1133.
10. Haraldsdottir V., Haanen C., Jordans J.G. Chronic lymphocytic leukaemia presenting as renal failure with lymphocytic infiltration of the kidneys. *Neth. J. Med.* 1992; 41: 64–67.
11. Moulin B., Ronco P.M., Mougnot B., Francois A., Fillastre J.P. Glomerulonephritis in chronic lymphocytic leukemia and related B-cell lymphomas. *Kidney Int.* 1992; 42: 127–135.
12. Seney F.D.Jr., Federgreen W.R., Stein H., Kashgarian M. A review of nephrotic syndrome associated with chronic lymphocytic leukemia. *Arch Intern Med.* 1986; 146: 137–141.
13. Schwartz J.B., Shamsuddin A.M. The effects of leukemic infiltrates in various organs in chronic lymphocytic leukemia. *Hum Pathol.* 1981; 12: 432–440.
14. Norris H.J., Wiener J. The renal lesions in leukemia. *Am. J. Med. Sci.* 1961; 241: 512–518.
15. Ferreira A.C., Brum S., Carvalho D., Pataca I., Carvalho F. Renal dysfunction due to leukemic infiltration of kidneys in a case of chronic lymphocytic leukemia. *Hemodial Int.* 2010; 14: 87–90.
16. Comerma-Coma M.I., Sans-Boix A., Tuset-Andujar E., Andreu-Navarro J., Perez-Ruiz A. Reversible renal failure due to specific infiltration of the kidney in chronic lymphocytic leukaemia. *Nephrol Dial Transplant.* 1998; 13: 1550–1552.
17. Rockx M.A., Rizkalla K., Clark W.F. Acute renal failure and chronic lymphocytic leukaemia. *Nephrol Dial Transplant.* 2008; 23: 770–771.

18. Pagniez D.C., Fenaux P., Delvallez L., Dequiedt P., Gosselin B. Reversible renal failure due to specific infiltration in chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Med.* 1988; 85: 579–580.
19. Hsu S.M., Waldron J.W.Jr., Hsu P.L., Hough A.J.Jr. Cytokines in malignant lymphomas: review and prospective evaluation. *Hum Pathol.* 1993; 24: 1040–1057.
20. Lommatzsch S.E., Bellizzi A.M., Cathro H.P., Rosner M.H. Acute renal failure caused by renal infiltration by hematolymphoid malignancy. *Ann Diagn Pathol.* 2006; 10: 230–234.
21. Aymard B., Beghoura R., Molina T.J. Renal infiltrate by a plasmocytoid chronic B lymphocytic leukaemia and renal failure: a rare occurrence in nephropathology. A case report and review of the literature. *Nephrol Ther.* 2011; 7: 479–487.
22. Moulin B., Chantrel F., Petitjean P., Ronco P.M. Chronic lymphoproliferative disorders and glomerular diseases: review of the literature and pathophysiological considerations. *J. Nephrol.* 1995; 8: 20–26.
23. Panova E.A., Serov V.A., Shutov A.M., Bakumtseva N.N., Kuzovenkova M.Yu. Polipragmaziya u ambulatornykh patsientov pozhilogo vozrasta [Polypharmacy in elderly outpatients]. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskij zhurnal.* 2019; 2: 16–22 (in Russian).

Received 4 May 2022; accepted 13 August 2022.

Information about the authors

Markovtseva Mariya Vladimirovna, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Department of Hospital Therapy, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: mmark7@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-7299-5268>.

Zgural'skaya Ekaterina Nikolaevna, Candidate of Technical Sciences, Associate Professor of Chair of Information Technologies and General Scientific Disciplines, Ulyanovsk State Technical University. 432027, Russia, Ulyanovsk, Severnyy Venets St., 32; e-mail: iatu@inbox.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1527-9692>.

For citation

Markovtseva M.V., Zgural'skaya E.N. Khronicheskaya bolezn' pochek u patsientov s khronicheskim limfoleykozom i ikh vyzhivaemost' [Chronic kidney disease in patients with chronic lymphatic leukemia and their survivability]. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskij zhurnal.* 2022; 3: 43–48. DOI: [10.34014/2227-1848-2022-3-43-48](https://doi.org/10.34014/2227-1848-2022-3-43-48) (in Russian).

УДК 616-006.699

DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-49-60

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АНДРОГЕН-РЕЦЕПТОР-ПОЗИТИВНОГО РАКА В ГРУППЕ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

И.С. Панченко¹, В.В. Родионов², С.В. Панченко¹, М.Г. Шарафутдинов¹

¹ ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия;

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, г. Москва, Россия

Цель. Выявить фенотипические особенности андроген-рецептор-позитивного рака молочной железы в структуре трижды негативного рака молочной железы.

Материалы и методы. Проведен анализ клинических и морфологических данных опухоли у 253 пациенток с морфологически верифицированным инвазивным трижды негативным раком молочной железы (ТНРМЖ), получавших лечение в ГУЗ Областной клинической онкологической диспансер г. Ульяновска и отделении патологии молочной железы ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» в период с 2014 по 2021 г. *Результаты.* Посредством статистического анализа на примере 45 чел. (18 % от общего количества выборки) было выявлено, что экспрессия андрогенных рецепторов (АР) при ТНРМЖ встречается у пациенток старше 61 года ($p=0,054$), ассоциируется с более распространенной стадией заболевания (начиная с ПВ) ($p=0,004$), мультифокальным характером роста ($p=0,025$), инвазивным дольковым вариантом рака ($p=0,04$), более высокой дифференцировкой опухоли ($p<0,0001$), низким уровнем Ki67 ($p=0,000001$), более частым поражением регионарных лимфоузлов ($p=0,005$). Вместе с тем не было отмечено статистически значимых корреляций между экспрессией АР и менструальной функцией, квадрантом поражения молочной железы, достижением патоморфологического ответа после проведения неoadъювантной полихимиотерапии.

Выводы. Экспрессия АР при ТНРМЖ встречается у пациенток старше 61 года при местно-распространенной стадии заболевания, мультифокальном характере роста опухоли, инвазивном дольковом варианте рака, опухолях с высокой дифференцировкой и низкой пролиферативной активностью.

Ключевые слова: рак молочной железы, трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ), андрогенные рецепторы (АР).

Введение. Трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ) является наиболее неблагоприятной группой злокачественных опухолей молочной железы по сравнению с другими подтипами рака молочной железы (РМЖ) [1]. На долю ТНРМЖ приходится около 10–20 % всех случаев РМЖ [2]. Единственным методом лекарственного лечения данного подтипа опухолей является использование системной полихимиотерапии [3]. Чаще всего в схемы химиотерапии включают препараты антрациклинового и таксанового рядов, а также препараты платины [4]. На основании многочисленных исследований по изучению природы данной опухоли удалось установить, что ее молекулярно-генетический портрет

очень разнообразен. Согласно различным классификациям выделяют от четырех до семи молекулярно-генетических подтипов ТНРМЖ [5–9]. На сегодняшний день активно обсуждается вопрос о том, какое влияние оказывает экспрессия андрогенных рецепторов (АР) на клинические и морфологические особенности пациентов с ТНРМЖ [10, 11].

Андрогенный рецептор является ядерным рецептором 1-го типа, представителем семейства стероидных рецепторов. В неактивном состоянии он находится в связи с белками теплового шока в цитоплазме. Лигандзависимый путь активации рецептора заключается в его связывании с андрогенами (которые являются лигандами для данного рецептора) и переме-

щении комплекса «лиганд – рецептор» в ядро, где он распознается лигандзависимыми участками генома и обеспечивает реализацию действия гормона. Лиганднезависимый путь активации AR осуществляется через сигнальные пути PI3K/Akt, ERK, mTOR, Wnt/ β -catenin, а также через связь со специфичными белками, например с FOXA1 [12].

Роль экспрессии AR при РМЖ продемонстрирована в метаанализе, включавшем данные 19 исследований с большим числом респондентов – около 7500 чел. и посвященном изучению состояния здоровья медсестер. Авторы исследования заключили, что AR экспрессируется в 70 % образцов РМЖ различных ИГХ-подтипов, причем чаще при эстроген-позитивных опухолях (ЭР+), чем при эстроген-негативных (ЭР-). Было показано, что экспрессия AR независима от коэкспрессии с ЭР и связана с лучшей общей и безрецидивной выживаемостью при РМЖ [13]. Согласно данным большого числа публикаций, посвященных исследованию роли экспрессии AR при РМЖ, ее наличие в опухоли рассматривается как благоприятный прогностический фактор [14–16].

Наиболее изучена роль экспрессии AR при люминальных подтипах РМЖ [17, 18]. Показано, что экспрессия AR является независимым благоприятным прогностическим признаком для данных опухолей [19].

Однако однозначного ответа о влиянии экспрессии AR на развитие ТНРМЖ до сих пор не получено [20, 21].

Цель исследования. Выявить фенотипические особенности андроген-рецептор-позитивного рака молочной железы в структуре трижды негативного рака молочной железы.

Задачи исследования:

- 1) определить частоту встречаемости AR-позитивного РМЖ в популяции пациенток с ТНРМЖ;
- 2) сравнить группы пациенток с наличием и отсутствием экспрессии AR по клиническим параметрам;
- 3) сравнить группы пациенток с наличием и отсутствием экспрессии AR по морфологическим параметрам опухоли.

Материалы и методы. Исследование выполнено на базе 2-го хирургического отделения ГУЗ Областной клинической онкологиче-

ский диспансер г. Ульяновска и отделения патологии молочной железы ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Исследования выполнялись с соблюдением законодательства РФ, этических норм и принципов Хельсинкской декларации (1964) со всеми последующими дополнениями и изменениями, регламентирующими научные исследования на биоматериалах, полученных от людей, а также в соответствии с Международным руководством для биомедицинских исследований с вовлечением человека (International ethical guidelines for biomedical research involving human subjects) Совета международных организаций медицинских наук (CIOMS). Согласно требованиям п. 3 ст. 6 действующего Федерального закона № 152-ФЗ «О персональных данных» данные всех пациенток были обезличены.

В исследование было включено 253 пациентки с ТНРМЖ, получавшие лечение в период с 2014 по 2021 г. Все больные были поделены на две группы: с экспрессией AR (AR+, исследуемая группа) – 45 чел. (18 %), без экспрессии AR (AR-, контрольная группа) – 208 чел. (82 %).

Клиническое состояние пациенток определялось с учетом следующих параметров: возраст, менопаузальный статус, стадия опухолевого процесса по системе TNM, квадрант поражения, наличие/отсутствие мультифокального характера роста. При анализе морфологических параметров опухоли учитывались гистологический вариант, степень злокачественности (G), количество пораженных метастазами лимфатических узлов, уровень Ki67, степень лечебного патоморфоза по Лавниковой.

Полученные данные обрабатывались на персональном компьютере с помощью программ Microsoft Excel 2010, математических пакетов STATISTICA и SPSS. Все изучаемые признаки анализировались на нормальность распределения графическим методом при сравнении с нормальной кривой Гаусса, а также с помощью расчета критерия Колмогорова – Смирнова. Достоверность различий между количественными признаками рассчитывалась с помощью t-теста Стьюдента (при нормальном распределении) и U-критерия Манна – Уитни (при ненормальном распреде-

лении). Взаимосвязь между количественными признаками определялась с помощью расчета критериев Пирсона, хи-квадрат (при нормальном распределении) и Спирмена (при ненормальном распределении). Достоверность различий между качественными признаками оценивалась путем расчета точного критерия Фишера. Все различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. При анализе клинических параметров было установлено, что средний возраст пациенток составлял 57,60 (11,95) года: в контрольной группе – 56,85 (11,97) года, в исследуемой группе – 61,08 (11,33) года. Выявлено, что наличие экспрессии AP при ТНРМЖ статистически значимо связано с возрастом пациенток. Так, больных старшего возраста (61 год и более) в контрольной группе было 39,90 %, в исследуемой – 55,56 % ($p=0,05$), в то время как пациенток молодого возраста (до 40 лет) – 10,58 и 4,44 % (без статистически значимых различий).

Пациентки в постменопаузе в исследуемой группе составляли 86,67 %, в контрольной группе – 73,08 % ($p=0,15$), что свидетель-

ствует об отсутствии статистически значимой связи менопаузального статуса с экспрессией AP и не согласуется с данными литературы. Так, в работе Wang et al. на примере 2826 женщин с ТНРМЖ было продемонстрировано, что случаи с AP+ статусом опухоли значимо чаще регистрировались в группе постменопаузальных пациенток по сравнению с пременопаузальными (26,9 % против 13,4 % соответственно) [22].

По данным P.Y. Teoh et al., фактор наличия экспрессии AP при ТНРМЖ статистически не связан со стадией опухолевого процесса [23]. Однако в нашем исследовании было показано, что пациентки из группы AP+ значимо чаще ($p=0,004$) имели стадию IIВ по сравнению с пациентками контрольной группы. Более высокая стадия РМЖ в исследуемой группе косвенно указывает на то, что наличие экспрессии AP при ТНРМЖ ассоциируется с большей частотой вовлечения регионарных лимфатических узлов. При AP+ поражение регионарных лимфатических узлов регистрировалось достоверно чаще ($p=0,005$), чем в группе с AP- (табл. 1).

Таблица 1
Table 1

Взаимосвязь между экспрессией AP и числом пораженных лимфатических узлов при ТНРМЖ

Correlation between AR expression and the number of metastatic lymph nodes in TNBC

Количество пораженных лимфатических узлов The number of metastatic lymph nodes	Всего случаев Total number of cases	AP+ AR+	AP- AR-
Метаастазы в лимфатических узлах отсутствуют Absence of metastatic lymph nodes	164	19 (42,22 %)*	145 (69,71 %)
Метаастазы в 1–3 лимфоузлах 1–3 metastatic lymph nodes	57	15 (33,33 %)*	42 (20,19 %)
Метаастазы в 4–9 лимфоузлах 4-9 metastatic lymph nodes	15	5 (11,11 %)*	10 (4,81 %)
Метаастазы в 10 и более лимфоузлах 10+ metastatic lymph nodes	6	3 (6,67 %)*	3 (1,44 %)

Примечание. * – различия достоверны по сравнению с контрольной группой при $p=0,005$.

Note. * – the differences are significant compared with the control group ($p=0.005$).

Однако, согласно литературным данным, экспрессия AP ассоциируется и с более ранними стадиями ТНРМЖ [20, 24, 25].

Мультифокальный характер роста опухоли значимо чаще регистрировался в группе AP+ ($p=0,025$) по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

Таблица 2
Table 2

**Взаимосвязь между экспрессией AR
и мультифокальным характером роста опухоли при ТНРМЖ**
Correlation between AR expression and multifocal pattern of tumor growth in TNBC

Наличие мультифокальности Multifocality	Всего случаев Total number of cases	AR+ AR+	AR- AR-
Да Yes	27	9 (20,00 %)*	18 (8,65 %)
Нет No	226	36 (80,00 %)*	190 (91,35 %)

Примечание. Различия достоверны по сравнению с контрольной группой при $p=0,025$.

Note. The differences are significant compared with the control group ($p=0.025$).

При анализе локализации и размера новообразования различий между сравниваемыми группами выявить не удалось. В обеих группах опухоль чаще локализовалась в верхне-

наружном квадранте: в исследуемой группе – в 25 (55,6 %) случаях, в контрольной группе – в 107 (51,4 %) (табл. 3).

Таблица 3
Table 3

Распределение пациенток по локализации опухолевого очага, абс. (%)
Distribution of patients according to the tumour lesion localization, abs (%)

Квадрант поражения Quadrant	AR+ AR+	AR- AR-	Всего, абс. Total, abs
C50.1	5 (11,1 %)	11 (5,3 %)	16
C50.2	3 (6,7 %)	37 (17,8 %)	40
C50.3	2 (4,4 %)	15 (7,2 %)	17
C50.4	25 (55,6 %)	107 (51,4 %)	132
C50.5	2 (4,4 %)	14 (6,7 %)	16
C50.8	4 (8,9 %)	14 (6,8 %)	18
C50.9	4 (8,9 %)	10 (4,8 %)	14

Оценка морфологических параметров позволила получить следующие результаты. Было установлено, что наличие экспрессии AR при ТНРМЖ связано с гистологическим вариантом ТНРМЖ, в частности продемонстрирована более частая встречаемость инвазивного долькового варианта РМЖ в исследуемой группе по сравнению с контрольной:

13,33 % и 3,37 % случаев соответственно ($p=0,04$).

Кроме того, в исследуемой группе достоверно реже регистрировались опухоли с низкой дифференцировкой (G3) ($p<0,0001$) (табл. 4). Таким образом, можно предположить, что при ТНРМЖ AR+ опухоли являются менее агрессивными по сравнению с AR-.

Таблица 4
Table 4

Взаимосвязь между экспрессией AP и степенью злокачественности опухолевого процесса при ТНМЖ

Correlation between AR expression and tomour grade in TNBC

Степень злокачественности Tumour grade	Всего случаев Total number of cases	AP+ AR+	AP- AR-
G1	5	5 (11,11 %)*	0 (0 %)
G2	95	20 (44,44 %)*	75 (36,06 %)
G3	153	20 (44,44 %)*	133 (63,94 %)

Примечание. Различия достоверны по сравнению с контрольной группой при $p < 0,0001$.

Note. The differences are significant compared with the control group ($p < 0.0001$).

В пользу более благоприятной биологии опухоли при экспрессии AP говорят также более низкие значения Ki67. Опухоли с низкой пролиферативной активностью ($Ki67 \leq 20\%$) значимо чаще ($p = 0,0000001$) регистрировались

в группе AP+ (57,78%), в то время как высокая пролиферативная активность ($Ki67 > 20\%$) чаще встречалась в группе AP- (88,46%) (табл. 5, рис. 1), что согласуется с результатами других исследований [26, 27].

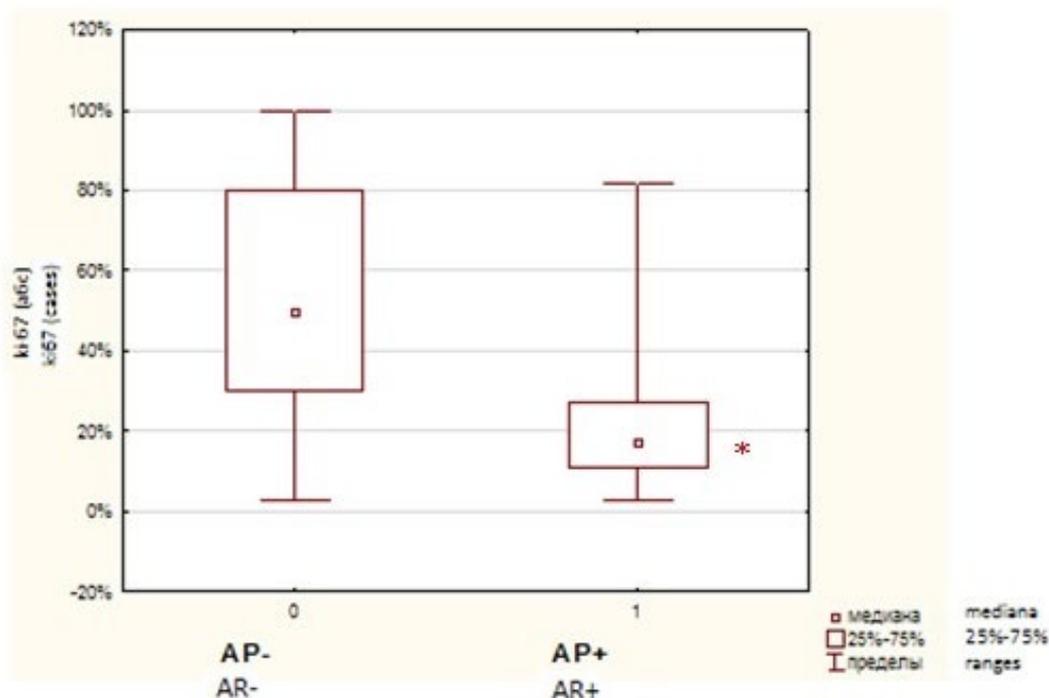


Рис. 1. Распределение пациенток по порогу Ki67 25–30 %

(* – различия достоверны по сравнению с контрольной группой при $p = 0,0000001$)

Fig. 1. Distribution of patients by Ki67 25–30 %

* – the differences are significant compared with the control group ($p = 0.0000001$)

Таблица 5
Table 5

Взаимосвязь между экспрессией AP и уровнем Ki67 при ТНРМЖ
Correlation between AR expression and Ki67 in TNBC

Ki67, %	Всего случаев Total number of cases	AP+ AR+	AP- AR-
14 и менее ≤14	33	18 (40,00 %)*	15 (7,21 %)
15–20	17	8 (17,78 %)*	9 (4,33 %)
21–30	41	10 (22,22 %)*	31 (14,90 %)
31–40	27	4 (8,89 %)*	23 (11,06 %)
41 и более 41+	135	5 (11,11 %)*	130 (62,50 %)

Примечание. Различия достоверны по сравнению с контрольной группой при $p=0,0000001$.

Note. The differences are significant compared with the control group ($p=0.0000001$).

Части больных (29 чел.) проводилась неоадьювантная полихимиотерапия. Ее результат оценивался на основании степени лечебного патоморфоза по Лавниковой [28, 29]. Статистически значимой связи между наличием или отсутствием экспрессии AP и степенью лечебного патоморфоза обнаружено не было ($p=0,74$).

Заключение. Экспрессия AP при ТНРМЖ встречается у пациенток старше 61 года при местно-распространенной стадии заболевания, мультифокальном характере роста опухоли, инвазивном дольковом варианте рака, опухолях с высокой дифференцировкой и низкой пролиферативной активностью.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. *Katrina R. Bauer, Monica Brown, Rosemary D. Cress, Carol A. Parise, Vincent Caggiano.* Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California Cancer Registry. *Cancer.* 2007; 109 (9): 1721–1728. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17387718> (дата обращения: 07.04.2021). DOI: 10.1002/ncr.22618.
2. *Rebecca Dent, Maureen Trudeau, Kathleen I. Pritchard, Wedad M. Hanna, Harriet K. Kahn, Carol A. Sawka, Lavina A. Lickley, Ellen Rawlinson, Ping Sun, Steven A. Narod.* Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13 (15, Pt. 1): 4429–4434. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17671126> (дата обращения: 07.04.2021). DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-3045.
3. *Maryam Nakhjavani, Jennifer E Hardingham, Helen M. Palethorpe, Tim J. Price, Amanda R. Townsend.* Druggable Molecular Targets for the Treatment of Triple Negative Breast Cancer. *J. Breast Cancer.* 2019; 22 (3): 341–361. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31598336> (дата обращения: 07.04.2021). DOI: 10.4048/jbc.2019.22.e39.
4. *Alis R.T. Bergin, Sherene Loi.* Triple-negative breast cancer: recent treatment advances. *F1000Res.* 2019; 8: F1000 Faculty Rev-1342. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31448088> (дата обращения: 16.04.2021). DOI: 10.12688/f1000research.18888.1.
5. *Brain D. Lehmann, Bojana Jovanovic, Xi Chen, Monica V. Estrada, Kimberly N. Johnson, Yu Shyr, Harold L. Moses, Melinda E. Sanders, Jennifer A. Pietenpol.* Refinement of Triple-Negative Breast Cancer Molecular Subtypes: Implications for Neoadjuvant Chemotherapy Selection. *PLoS One.* 2016; 11 (6):

- e0157368. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27310713> (дата обращения: 07.04.2021). DOI: 10.1371/journal.pone.0157368.
6. *Jesse Lopes da Silva, Natalia Cristina Cardoso Nunes, Patricia Izetti, Guilherme Gomes de Mesquita, Andrea Cristina de Melo.* Triple negative breast cancer: A thorough review of biomarkers. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2020; 145: 102855. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31927455> (дата обращения: 07.04.2021). DOI: 10.1016/j.critrevonc.2019.102855.
 7. *Sewha Kim, Byung-In Moon, Woosung Lim, Sanghui Park, Min Sun Cho, Sun Hee Sung.* Feasibility of classification of triple negative breast cancer by immunohistochemical surrogate markers. *Clin Breast Cancer.* 2018; 18 (5): e1123–e1132. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29754847> (дата обращения: 07.04.2021). DOI: 10.1016/j.clbc.2018.03.012.
 8. *Ugo Testa, Germana Castelli, Elvira Pelosi.* Breast Cancer: A molecularly heterogenous disease needing subtype-specific treatments. *Med Sci (Basel).* 2020; 8 (1): 18. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32210163> (дата обращения: 07.04.2021). DOI: 10.3390/medsci8010018.
 9. *Matthew D. Burstein, Anna Tsimelzon, Graham M. Poage, Kyle R. Covington, Alejandro Contreras, Suzanne A.W. Fuqua, Michelle I. Savage, C. Kent Osborne, Susan G. Hilsenbeck, Jenry C. Chang, Gordon B. Mills, Ching C. Lau, Powel H. Brown.* Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2015; 21 (7): 1688–1698. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25208879> (дата обращения: 01.07.2020). DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0432.
 10. *Ya-Xuan Lui, Ke-Jing Zhang, Li-Li Tang.* Clinical significance of androgen receptor expression in triple negative breast cancer—an immunohistochemistry study. *Oncol Lett.* 2018; 15 (6): 10008–10016. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29844843> (дата обращения: 07.04.2021). DOI: 10.3892/ol.2018.8548.
 11. *Murtuza Rampurwala, Kari B. Wisinski, Ruth O'Regan R.* Role of the androgen receptor in triple-negative breast cancer. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2016; 14 (3): 186–193. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27058032> (дата обращения: 16.03.2021). PMID: PMC5221599.
 12. *Francisco E. Vera-Badillo, Amoud J. Templeton, Paulo de Gouveia, Ivan Diaz-Padilla, Philippe L. Beaudard, Mustafa Al-Mubarak, Bosijan Seruga, Ian F. Tannock, Alberto Ocana, Eitan Amir.* Androgen receptor expression and outcomes in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *J. Natl Cancer Inst.* 2014; 106 (1): 319. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24273215> (дата обращения: 20.04.2022). DOI: 10.1093/jnci/djt319.
 13. *Kevin H. Kensler, Elizabeth M. Poole, Yujing J. Heng, Laura C. Collins, Benjamin Glass, Andrew H. Beck, Aditi Hazra, Bernard A. Rosner, A. Heather Eliassen, Susan E. Hankinson, Eric P. Winer, Myles Brown, Rulla M. Tamimi.* Androgen Receptor Expression and Breast Cancer Survival: Results From the Nurses' Health Studies. *J. Natl Cancer Inst.* 2019; 111 (7): 700–708. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30445651> (дата обращения: 20.04.2022). DOI: 10.1093/jnci/djy173.
 14. *Park S., Koo J.S., Kim M.S., Park H.S., Lee J.S., Lee J.S., Kim S.I., Park B.W., Lee K.S.* Androgen receptor expression is significantly associated with better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancers. *Ann Oncol.* 2011; 22 (8): 1755–1762. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21310761> (дата обращения: 20.04.2022). DOI: 10.1093/annonc/mdq678.
 15. *Karin Elebro, Signe Borgquist, Maria Simonsson, Andrea Markkula, Karin Jirström, Christian Ingvar, Carsten Rose, Helena Jernström.* Combined Androgen and Estrogen Receptor Status in Breast Cancer: Treatment Prediction and Prognosis in a Population-Based Prospective Cohort. *Clin Cancer Res.* 2015; 21 (16): 3640–3650. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25904752> (дата обращения: 20.04.2022). DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2564.
 16. *Yoonseok Kim, Eunae Jae, Myunghee Yoon.* Influence of Androgen Receptor Expression on the Survival Outcomes in Breast Cancer: A Meta-Analysis. *J. Breast Cancer.* 2015; 18 (2): 134–142. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26155289> (дата обращения: 20.04.2022). DOI: 10.4048/jbc.2015.18.2.134.
 17. *Maria Ryssdal Kraby, Marit Valla, Signe Opdahl, Olav Anton Haugen, Joanna Ewa Sawicka, Monica Jernberg Engstrom, Anna Mary Bofin.* The prognostic value of androgen receptors in breast cancer subtypes. *Breast Cancer Res Treat.* 2018; 172 (2): 283–296. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30109519> (дата обращения: 10.04.2021). DOI: 10.1007/s10549-018-4904-x.
 18. *Ximena Garcia, Andres Elia, Lucrecia Galizzi, Maria May, Eunice Spengler, Paula Martinez Vazquez, Javier Burruchaga, Hugo Gass, Claudia Lanari, Caroline A. Lamb.* Increased androgen receptor expression in estrogen receptor-positive/progesterone receptor-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2020; 180 (1): 257–263. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31950383> (дата обращения: 10.04.2021). DOI: 10.1007/s10549-020-05527-3.

19. *Yaewon Yang, Ahrum Min, Kyung-Hun Lee, Han Suk Ryu, Tae-Yong Kim, Go-Un Woo, Koung Jin Suh, Dae-Won Lee, Han-Byoel Lee, Hyeong-Gon Moon, Woonshik Han, In Ae Park, Dong-Young Noh, Seock-Ah Im.* Prognostic role of androgen receptor expression in surgically resected early breast cancer patients. *J. Breast Cancer.* 2020; 23 (2): 182–193. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32395377> (дата обращения: 10.04.2021). DOI: 10.4048/jbc.2020.23.e28.
20. *Ivana Mrklic, Zenon Pogorelic, Vesna Capkun, Snjezana Tomic.* Expression of androgen receptors in triple negative breast carcinomas. *Acta Histochem.* 2013; 115 (4): 344–348. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/23031358> (дата обращения: 07.04.2021). DOI: 10.1016/j.acthis.2012.09.006.
21. *Yoshinari Ogawa, Eishu Hai, Kanako Matsumoto, Katsumi Ikeda, Shinya Tokunaga, Hisashi Nagahara, Katsunobi Sakurai, Takeshi Inoue, Yukio Nishiguchi.* Androgen receptor expression in breast cancer: relationship with clinicopathological factors and biomarkers. *Int. J. Clin. Oncol.* 2008; 13 (5): 431–435. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ogawa+Y%2C+Hai+E%2C+Matsumoto+K+et+al.+Androgen+receptor> (дата обращения: 11.02.2020). DOI: 10.1007/s10147-008-0770-6.
22. *Changjun Wang, Bo Pan, Hanjiang Zhu, Yidong Zhou, Feng Mao, Yan Lin, Qianqian Xu, Qiang Sun.* Prognostic value of androgen receptor in triple negative breast cancer: a metaanalysis. *Oncotarget.* 2016; 7 (29): 46482–46491. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27374089> (дата обращения: 03.02.2020). DOI: 10.18632/oncotarget.10208.
23. *Teoh P.Y., Tan G.C., Mahsin H., Wong Y.P.* Androgen receptor expression in triple negative breast carcinoma and its association with the clinicopathological parameters. *Malays J. Pathol.* 2019; 41 (2): 125–132. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31427547> (дата обращения: 20.04.2022).
24. *Tetsuyo Maeda, Yoko Nakanishi, Yukari Hirotani, Fumi Fuchinoue, Katsuhisa Enomoto, Kenichi Sakurai, Sadao Amano, Norimichi Nemoto.* Immunohistochemical co-expression status of cytokeratin 5/6, androgen receptor, and p53 as prognostic factors of adjuvant chemotherapy for triple negative breast cancer. *Med. Mol. Morphol.* 2016; 49 (1): 11–21. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26009308> (дата обращения: 05.04.2021). DOI: 10.1007/s00795-015-0109-0.
25. *Jung Eun Choi, Su Hwan Kang, Soo Jung Lee, Young Kyung Bae.* Androgen receptor expression predicts decreased survival in early stage triple-negative breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2015; 22 (1): 82–89. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25145503> (дата обращения: 07.04.2021). DOI: 10.1245/s10434-014-3984-z.
26. *Keely M. McNamara, Tomomi Yoda, Yasuhiro Miki, Niramol Chanplakorn, Sansanee Wongwaisayawan, Pimpin Incharoen, Youwanush Kongdan, Lin Wang, Kiyoshi Takagi, Takagi Mayu, Yasuhiro Nakamura, Takashi Suzuki, Noriko Nemoto, Minoru Miyashita, Kentaro Tamaki, Takanori Ishida, Noriaki Ohuchi, Hironobu Sasano.* Androgenic pathway in triple negative invasive ductal tumors: its correlation with tumor cell proliferation. *Cancer Sci.* 2013; 104 (5): 639–646. URL: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23373898> (дата обращения: 07.04.2021). DOI: 10.1111/cas.12121.
27. *Lisa M. Sutton, Dengfeng Cao, Venetia Sarode, Kyle H. Molberg, Kwame Torgbe, Barbara Haley, Yan Peng.* Decreased androgen receptor expression is associated with distant metastases in patients with androgen receptor-expressing triple-negative breast carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 2012; 138 (4): 511–516. URL: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23010705> (дата обращения: 07.04.2021). DOI: 10.1309/AJCP8AVF8FDPTZLH.
28. *Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Пожарисский К.М.* Рак молочной железы: практическое руководство для врачей. М.; 2017. 176.
29. *Amrallah A. Mohammed, Fifi Mostafa Elsayed, Mohammed Algazar, Hayam E. Rashed, Abeer Hussien Anter.* Neoadjuvant chemotherapy in triple negative breast cancer: correlation between androgen receptor expression and pathological response. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2020; 21 (2): 563–568. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32102539> (дата обращения: 03.04.2021). DOI: 10.31557/APJCP.2020.21.2.563.

Поступила в редакцию 17.03.2022; принята 25.06.2022.

Авторский коллектив

Панченко Иван Сергеевич – аспирант кафедры онкологии и лучевой диагностики медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: pan91ch@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7923-4317>.

Родионов Валерий Витальевич – доктор медицинских наук, заведующий отделением патологии молочной железы, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ. 117997, Россия, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4; e-mail: dr.valery.rodionov@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0096-7126>.

Панченко Сергей Викторович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры онкологии и лучевой диагностики медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: pan63ch@yandex.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9006-2023>.

Шарафутдинов Марат Гакифович – кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой онкологии и лучевой диагностики медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: mgshar@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8782-4111>.

Образец цитирования

Панченко И.С., Родионов В.В., Панченко С.В., Шарафутдинов М.Г. Фенотипические особенности андроген-рецептор-позитивного рака в группе трижды негативного рака молочной железы. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 49–60. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-49-60.

PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF ANDROGEN RECEPTOR-POSITIVE CANCER IN THE TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER GROUP

I.S. Panchenko¹, V.V. Rodionov², S.V. Panchenko¹, M.G. Sharafutdinov¹

¹ Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia;

² National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after academician V.I. Kulakov, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

The aim of the paper is to reveal the phenotypic characteristics of androgen-receptor-positive breast cancer in triple-negative breast cancer.

Materials and Methods. The authors analyzed clinical and morphological tumour data in 253 patients with morphologically verified invasive triple-negative breast cancer (TNBC). The patients were treated at the Regional Clinical Oncologic Dispensary (Ulyanovsk) and the Breast Pathology Department of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after V.I. Kulakov (Moscow) from 2014 to 2021.

Results. Statistical analysis of 45 patients (18 % of the total sample) showed that androgen receptor (AR) expression in TNBC was observed in patients older than 61 years ($p=0.054$). It was associated with a more common stage of the disease (starting with IIb) ($p=0.004$), multifocal growth pattern ($p=0.025$), invasive lobular cancer ($p=0.04$), higher tumor differentiation ($p<0.0001$), low Ki67 level ($p=0.000001$), and more frequent involvement of regional lymph nodes ($p=0.005$). At the same time, there were no statistically significant correlations between the AR expression and menstrual function, breast lesion quadrant, and pathomorphological response after neoadjuvant polychemotherapy.

Conclusion. AR expression in TNBC occurs in patients over 61 years of age, with a locally advanced disease stage, a multifocal tumor growth pattern, an invasive lobular cancer, and well-differentiated tumors with low proliferative activity.

Key words: breast cancer, triple-negative breast cancer (TNBC), androgen receptors (AR).

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

References

1. Katrina R. Bauer, Monica Brown, Rosemary D. Cress, Carol A. Parise, Vincent Caggiano. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California Cancer Registry. *Cancer*. 2007; 109 (9): 1721–1728. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17387718> (accessed: April 07, 2021). DOI: 10.1002/cncr.22618.

2. Rebecca Dent, Maureen Trudeau, Kathleen I. Pritchard, Wedad M. Hanna, Harriet K. Kahn, Carol A. Sawka, Lavina A. Lickley, Ellen Rawlinson, Ping Sun, Steven A. Narod. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13 (15, Pt. 1): 4429–4434. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17671126> (accessed: April 07, 2021). DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-3045.
3. Maryam Nakhjavani, Jennifer E Hardingham, Helen M. Palethorpe, Tim J. Price, Amanda R. Townsend. Druggable Molecular Targets for the Treatment of Triple Negative Breast Cancer. *J. Breast Cancer.* 2019; 22 (3): 341–361. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31598336> (accessed: April 07, 2021). DOI: 10.4048/jbc.2019.22.e39.
4. Alis R. T. Bergin, Sherene Loi. Triple-negative breast cancer: recent treatment advances. *F1000Res.* 2019; 8: F1000 Faculty Rev-1342. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31448088> (accessed: April 16, 2021). DOI: 10.12688/f1000research.18888.1.
5. Brain D. Lehmann, Bojana Jovanovic, Xi Chen, Monica V. Estrada, Kimberly N. Johnson, Yu Shyr, Harold L. Moses, Melinda E. Sanders, Jennifer A. Pietsenpol. Refinement of Triple-Negative Breast Cancer Molecular Subtypes: Implications for Neoadjuvant Chemotherapy Selection. *PLoS One.* 2016; 11 (6): e0157368. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27310713> (accessed: April 07, 2021). DOI: 10.1371/journal.pone.0157368.
6. Jesse Lopes da Silva, Natalia Cristina Cardoso Nunes, Patricia Izetti, Guilherme Gomes de Mesquita, Andrea Cristina de Melo. Triple negative breast cancer: A thorough review of biomarkers. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2020; 145: 102855. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31927455> (accessed: April 07, 2021). DOI: 10.1016/j.critrevonc.2019.102855.
7. Sewha Kim, Byung-In Moon, Woosung Lim, Sanghui Park, Min Sun Cho, Sun Hee Sung. Feasibility of classification of triple negative breast cancer by immunohistochemical surrogate markers. *Clin Breast Cancer.* 2018; 18 (5): e1123–e1132. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29754847> (accessed: April 07, 2021). DOI: 10.1016/j.clbc.2018.03.012.
8. Ugo Testa, Germana Castelli, Elvira Pelosi. Breast Cancer: A molecularly heterogenous disease needing subtype-specific treatments. *Med Sci (Basel).* 2020; 8 (1): 18. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32210163> (accessed: April 07, 2021). DOI: 10.3390/medsci8010018.
9. Matthew D. Burstein, Anna Tsimelzon, Graham M. Poage, Kyle R. Covington, Alejandro Contreras, Suzanne A.W. Fuqua, Michelle I. Savage, C. Kent Osborne, Susan G. Hilsenbeck, Jenry C. Chang, Gordon B. Mills, Ching C. Lau, Powel H. Brown. Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2015; 21 (7): 1688–1698. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25208879> (accessed: July 01, 2020). DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0432.
10. Ya-Xuan Lui, Ke-Jing Zhang, Li-Li Tang. Clinical significance of androgen receptor expression in triple negative breast cancer-an immunohistochemistry study. *Oncol Lett.* 2018; 15 (6): 10008–10016. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29844843> (accessed: April 07, 2021). DOI: 10.3892/ol.2018.8548.
11. Murtuza Rampurwala, Kari B. Wisinski, Ruth O'Regan R. Role of the androgen receptor in triple-negative breast cancer. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2016; 14 (3): 186–193. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27058032> (accessed: March 16, 2021). PMID: PMC5221599.
12. Francisco E. Vera-Badillo, Amoud J. Templeton, Paulo de Gouveia, Ivan Diaz-Padilla, Philippe L. Be-dard, Mustafa Al-Mubarak, Bostjan Seruga, Ian F. Tannock, Alberto Ocana, Eitan Amir. Androgen receptor expression and outcomes in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *J. Natl Cancer Inst.* 2014; 106 (1): 319. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24273215> (accessed: April 20, 2022). DOI: 10.1093/jnci/djt319.
13. Kevin H. Kensler, Elizabeth M. Poole, Yujing J. Heng, Laura C. Collins, Benjamin Glass, Andrew H. Beck, Aditi Hazra, Bernard A. Rosner, A. Heather Eliassen, Susan E. Hankinson, Eric P. Winer, Myles Brown, Rulla M. Tamimi. Androgen Receptor Expression and Breast Cancer Survival: Results From the Nurses' Health Studies. *J. Natl Cancer Inst.* 2019; 111 (7): 700–708. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30445651> (accessed: April 20, 2022). DOI: 10.1093/jnci/djy173.
14. Park S., Koo J.S., Kim M.S., Park H.S., Lee J.S., Lee J.S., Kim S.I., Park B.W., Lee K.S. Androgen receptor expression is significantly associated with better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancers. *Ann Oncol.* 2011; 22 (8): 1755–1762. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21310761> (accessed: April 20, 2022). DOI: 10.1093/annonc/mdq678.

15. Karin Elebro, Signe Borgquist, Maria Simonsson, Andrea Markkula, Karin Jirström, Christian Ingvar, Carsten Rose, Helena Jernström. Combined Androgen and Estrogen Receptor Status in Breast Cancer: Treatment Prediction and Prognosis in a Population-Based Prospective Cohort. *Clin Cancer Res.* 2015; 21 (16): 3640–3650. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25904752> (accessed: April 20, 2022). DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2564.
16. Yoonseok Kim, Eunae Jae, Myunghee Yoon. Influence of Androgen Receptor Expression on the Survival Outcomes in Breast Cancer: A Meta-Analysis. *J. Breast Cancer.* 2015; 18 (2): 134–142. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26155289> (accessed: April 20, 2022). DOI: 10.4048/jbc.2015.18.2.134.
17. Maria Ryssdal Kraby, Marit Valla, Signe Opdahl, Olav Anton Haugen, Joanna Ewa Sawicka, Monica Jernberg Engstrom, Anna Mary Bofin. The prognostic value of androgen receptors in breast cancer subtypes. *Breast Cancer Res Treat.* 2018; 172 (2): 283–296. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30109519> (accessed: April 10, 2021). DOI: 10.1007/s10549-018-4904-x.
18. Ximena Garcia, Andres Elia, Lucrecia Galizzi, Maria May, Eunice Spengler, Paula Martinez Vazquez, Javier Burruchaga, Hugo Gass, Claudia Lanari, Caroline A. Lamb. Increased androgen receptor expression in estrogen receptor-positive/progesterone receptor-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2020; 180 (1): 257–263. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31950383> (accessed: April 10, 2021). DOI: 10.1007/s10549-020-05527-3.
19. Yaewon Yang, Ahrum Min, Kyung-Hun Lee, Han Suk Ryu, Tae-Yong Kim, Go-Un Woo, Kounng Jin Suh, Dae-Won Lee, Han-Byoel Lee, Hyeong-Gon Moon, Woonshik Han, In Ae Park, Dong-Young Noh, Seock-Ah Im. Prognostic role of androgen receptor expression in surgically resected early breast cancer patients. *J. Breast Cancer.* 2020; 23 (2): 182–193. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32395377> (accessed: April 10, 2021). DOI: 10.4048/jbc.2020.23.e28.
20. Ivana Mrklic, Zenon Pogorelic, Vesna Capkun, Snjezana Tomic. Expression of androgen receptors in triple negative breast carcinomas. *Acta Histochem.* 2013; 115 (4): 344–348. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/23031358> (accessed: April 07, 2021). DOI: 10.1016/j.acthis.2012.09.006.
21. Yoshinari Ogawa, Eishu Hai, Kanako Matsumoto, Katsumi Ikeda, Shinya Tokunaga, Hisashi Nagahara, Katsunobi Sakurai, Takeshi Inoue, Yukio Nishiguchi. Androgen receptor expression in breast cancer: relationship with clinicopathological factors and biomarkers. *Int. J. Clin. Oncol.* 2008; 13 (5): 431–435. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ogawa+Y%2C+Hai+E%2C+Matsumoto+K+et+al.+Androgen+receptor> (accessed: February 11, 2020). DOI: 10.1007/s10147-008-0770-6.
22. Changjun Wang, Bo Pan, Hanjiang Zhu, Yidong Zhou, Feng Mao, Yan Lin, Qianqian Xu, Qiang Sun. Prognostic value of androgen receptor in triple negative breast cancer: a metaanalysis. *Oncotarget.* 2016; 7 (29): 46482–46491. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27374089> (accessed: February 03, 2020). DOI: 10.18632/oncotarget.10208.
23. Teoh P.Y., Tan G.C., Mahsin H., Wong Y.P. Androgen receptor expression in triple negative breast carcinoma and its association with the clinicopathological parameters. *Malays J. Pathol.* 2019; 41 (2): 125–132. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31427547> (accessed: April 20, 2022). PMID: 31427547.
24. Tetsuyo Maeda, Yoko Nakanishi, Yukari Hirotsu, Fumi Fuchinoue, Katsuhisa Enomoto, Kenichi Sakurai, Sadao Amano, Norimichi Nemoto. Immunohistochemical co-expression status of cytokeratin 5/6, androgen receptor, and p53 as prognostic factors of adjuvant chemotherapy for triple negative breast cancer. *Med. Mol. Morphol.* 2016; 49 (1): 11–21. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26009308> (accessed: April 05, 2021). DOI: 10.1007/s00795-015-0109-0.
25. Jung Eun Choi, Su Hwan Kang, Soo Jung Lee, Young Kyung Bae. Androgen receptor expression predicts decreased survival in early stage triple-negative breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2015; 22 (1): 82–89. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25145503> (accessed: April 07, 2021). DOI: 10.1245/s10434-014-3984-z.
26. Keely M. McNamara, Tomomi Yoda, Yasuhiro Miki, Niramol Chanplakorn, Sansanee Wongwaisayawan, Pimpin Incharoen, Youwanush Kongdan, Lin Wang, Kiyoshi Takagi, Takagi Mayu, Yasuhiro Nakamura, Takashi Suzuki, Noriko Nemoto, Minoru Miyashita, Kentaro Tamaki, Takanori Ishida, Noriaki Ohuchi, Hironobu Sasano. Androgenic pathway in triple negative invasive ductal tumors: its correlation with tumor cell proliferation. *Cancer Sci.* 2013; 104 (5): 639–646. Available at: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23373898> (accessed: April 07, 2021). DOI: 10.1111/cas.12121.
27. Lisa M. Sutton, Dengfeng Cao, Venetia Sarode, Kyle H. Molberg, Kwame Torgbe, Barbara Haley, Yan Peng. Decreased androgen receptor expression is associated with distant metastases in patients with an-

- drogen receptor-expressing triple-negative breast carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 2012; 138 (4): 511–516. Available at: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23010705> (accessed: April 07, 2021). DOI: 10.1309/AJCP8AVF8FDPTZLH.
28. Frank G.A., Zavalishina L.E., Pozharisskiy K.M. *Rak molochnoy zhelezy: prakticheskoe rukovodstvo dlya vrachey* [Breast Cancer: Practice Guidelines for Physicians]. Moscow; 2017. 176 (in Russian).
29. Amrallah A. Mohammed, Fifi Mostafa Elsayed, Mohammed Algazar, Hayam E. Rashed, Abeer Hussien Anter. Neoadjuvant chemotherapy in triple negative breast cancer: correlation between androgen receptor expression and pathological response. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2020; 21 (2): 563–568. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32102539> (accessed: 03.04.2021). DOI: 10.31557/APJCP.2020.21.2.563.

Received 17 March 2022; accepted 25 June 2022.

Information about the authors

Panchenko Ivan Sergeevich, Post-graduate Student, Chair of Oncology and Radiation Diagnostics, Medical Department named after T.Z. Biktimirov, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: pan91ch@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7923-4317>.

Rodionov Valery Vitalievich, Doctor of Sciences (Medicine), Head of the Department of Breast Pathology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after academician V.I. Kulakov, Ministry of Health of the Russian Federation. 117997, Russia, Moscow, Akademik Oparin St., 4; e-mail: dr.valery.rodionov@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0096-7126>.

Panchenko Sergey Viktorovich, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Chair of Oncology and Radiation Diagnostics, Medical department named after T.Z. Biktimirov, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: pan63ch@yandex.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9006-2023>.

Sharafutdinov Marat Gakifovich, Candidate of Sciences (Medicine), Head of the Chair of Oncology and Radiation Diagnostics, Medical Department named after T.Z. Biktimirov, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, st. L. Tolstoy, 42; e-mail: mgshar@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8782-4111>.

For citation

Panchenko I.S., Rodionov V.V., Panchenko S.V., Sharafutdinov M.G. Fenotipicheskie osobennosti androgen-retseptor-pozitivnogo raka v gruppe trizhdy negativnogo raka molochnoy zhelezy [Phenotypic characteristics of androgen receptor-positive cancer in the triple-negative breast cancer group]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskiy zhurnal.* 2022; 3: 49–60. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-49-60 (in Russian).

УДК 618.14-006.36-08(075.8)
DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-61-72

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ГОМОЦИСТЕИНА У ЖЕНЩИН С СИМПТОМНОЙ МИОМОЙ МАТКИ

Ю.Д. Сидорова, Л.Ю. Давидян, А.Ю. Богдасаров

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

Миома матки считается одной из наиболее распространенных доброкачественных опухолей репродуктивной системы. Это заболевание занимает второе место (20–50 %) в структуре причин госпитализации в гинекологические стационары.

Цель исследования. Оценить влияние уровня гомоцистеина на клиническое течение миомы матки. Материалы и методы. В исследовании приняли участие 112 женщин: 60 чел. с миомой матки и 52 чел. без миомы матки. Используются общеклинические, биохимические, ультразвуковые и медико-статистические методы исследования. Математическая обработка материала произведена в соответствии с рекомендациями Т. Ланг, Д. Альтман (2014). Анализ количественных данных на нормальность распределения проведен с помощью критерия Шапиро – Уилка.

Результаты. Нормальный уровень гомоцистеина (ГЦ) выявлен у 80,7 (5,5) % пациенток без миомы матки, что статистически значимо больше, чем в группе женщин с миомой матки – 38,3 (6,3) % ($p < 0,001$). Уровень ГЦ находился на верхней границе нормы у 33,3 (6,1) % женщин основной группы и 15,3 (5,0) % женщин группы сравнения. Превышение нормальных значений установлено у 25,0 (5,6) % женщин основной группы и только у одной из группы сравнения ($p < 0,001$). На фоне предлагаемого дополнения к терапии миомы матки у 61,6 (6,3) % пациенток состояние миома-тозных узлов стабилизировалось и в течение года не было выявлено прогрессирования клинической картины миомы матки. До проведения комплексной терапии показания к проведению оперативного лечения были у 25,0 (5,6) % пациенток с миомой матки. Через год комплексной терапии показания к хирургическому лечению миомы матки сохранились только у 6,6 (3,3) % женщин, что статистически значимо меньше, чем до назначаемого лечения ($p = 0,005$).

Выводы. У женщин с миомой матки имеют место множественные генитальные и соматические патологии, способствующие повышению уровня ГЦ и развитию миомы матки.

Применение дополнительно к клиническому протоколу лечения миомы матки препаратов фолиевой кислоты и витаминов группы В позволило стабилизировать состояние миома-тозных узлов и снизить необходимость хирургического лечения в 4 раза.

Ключевые слова: гомоцистеин, гипергомоцистеинемия, миома матки, метаболические нарушения, эндокринная гинекология.

Введение. Исследования, подтверждающие взаимосвязь повышенного содержания гомоцистеина (ГЦ) с патологическими состояниями человека (сердечно-сосудистые заболевания, осложнения беременности, нервно-психические расстройства, метаболические нарушения, ожирение, эндокринопатии), появились только в последние десятилетия. Проблема гипергомоцистеинемии (ГГЦ) остается не полностью решенной и заслуживает внимания клиницистов и исследователей.

В большинстве публикаций ГГЦ исследуется в рамках патогенеза и клиники сердечно-сосудистых заболеваний, заболеваний, ведущих к нарушению функции печени, генетических дефектов ферментов, участвующих

в каскаде превращения фолиевой кислоты. И только совсем недавно повышенное содержание ГЦ стало рассматриваться в качестве маркера преэклампсии беременных, аномалий развития плода на стадии предгравидарной подготовки и послеоперационных тромбозов, в т.ч. после операций на репродуктивных органах [1, 2].

Появились исследования, доказывающие прямую связь уровня ГЦ с состоянием женской репродуктивной системы, в частности с овуляторной способностью женщины, а также участие ГЦ в патогенезе доброкачественных заболеваний, развитии патологических состояний во время беременности и родоразрешения [2, 3, 5].

Детальное изучение проблемы повышенного содержания ГЦ у женщин может помочь в решении ряда вопросов, среди которых – участие ГЦ в патогенезе гинекологических заболеваний и формировании нарушений репродуктивной функции.

У здоровых людей существует значимая корреляция между концентрациями гомоцистеина и креатинина в плазме крови. Влияние половых гормонов на уровень ГЦ остается неопределенным [6]. Концентрация ГЦ в плазме крови во время беременности снижается на 30–50 % и возвращается к норме в течение 2–4 дней после родов, при этом изначально высокий уровень ГЦ будет повышен и во время беременности [3, 5, 7]. Показано влияние на метаболизм ГЦ экзогенных эстрогенов. Так, искусственное лечение эстрогенами женщин в постменопаузе значительно снижает общий уровень ГЦ [8]. Доказательства модуляции уровня ГЦ половыми стероидами получены в исследованиях, показывающих, что уровень кислоты значительно ниже в лютеиновой фазе, чем в фолликулярной фазе нормоовуляторного цикла [9].

Установлено, что стимуляция яичников приводит к снижению уровня ГЦ и кобаламина в крови. Доказано, что стимуляция яичников нарушает биомаркеры крови и фолликулярной жидкости гомоцистеинового пути [8]. Добавление фолиевой кислоты, скорее всего, защищает фолликулярный рост от вредного воздействия высоких уровней гомоцистеина путем реметилирования кислоты в метионин.

Высокие уровни фолатов в фолликулярной жидкости могут оказывать влияние на синтез половых гормонов в яичниках [9], что может служить причиной гормонального дисбаланса и, как следствие, развития гиперпластических состояний в органах-мишенях репродуктивной системы.

Основной механизм действия ГЦ – повреждение эндотелия сосудов [10]. Исследования, проведенные на группе добровольцев, подтвердили, что ГЦ может привести к эндотелиальной дисфункции через накопление асимметричного диметиларгинина [3, 5, 11]. Что касается акушерства и патологии эндотелия, то имеются единичные работы, указы-

вающие на возможный вариант патогенеза нефропатии, ассоциированного с ГЦ [12].

Ряд соматических патологий также меняют фолатный обмен, что значительно влияет на концентрацию ГЦ в крови [13]. В частности, при сахарном диабете как 1-го, так и 2-го типов повышение уровня ГЦ в крови является фактором риска поражения сердечно-сосудистой системы, особенно если при данном заболевании активно развивается диабетическая нефропатия, что и ведет к формированию ГЦ [13].

При этом у большинства пациентов, страдающих диабетом, независимо от формы, на ранних стадиях без формирования нефропатии развивается гиперфльтрация, повышение почечного клиренса, что ведет, наоборот, к снижению концентрации ГЦ [14]. У многих женщин с метаболическим синдромом, у которых индекс массы тела превышал 32 кг/м² (ожирение 2-й степени и более), имеется неалкогольная жировая болезнь печени, которая замедляет процессы обмена веществ, в т.ч. усиливает накопление ГЦ [15].

Отмечено, что у женщин с ГЦ снижается частота овуляции, а вероятность потери беременности во втором или третьем триместре увеличивается по сравнению с контролем и группой, получающей лечение. Тем самым показано, что женщины с метаболическим синдромом, синдромом поликистозных яичников, ГЦ чаще страдают привычным невынашиванием беременности и снижением овуляции, а сам метаболический синдром является следствием дефекта овуляции, зачатия, беременности, потери беременности и живорождения. Таким образом, перечисленные состояния взаимозаменяемо приводят к дефектам в работе репродуктивной и эндокринной систем [16].

На данный момент имеются исследования, в которых показана отрицательная линейная связь между уровнем ГЦ в плазме и показателями креатинина и СКФ [17]. ГЦ возникает при СКФ около 60 мл/мин, а вероятность развития ГЦ при терминальной стадии почечной недостаточности составляет 85–100 % [18]. Доказана связь ГЦ с развитием гипотиреоза. Низкий уровень гормонов щитовидной железы, возможно, снижает СКФ, что обу-

словливает увеличение уровней креатинина и гомоцистеина даже у эутиреоидных субъектов с нормальными гормональными показателями, что также приводит к ГГЦ [13]. Принято считать, что в основе патофизиологических механизмов миомы матки лежит локальное нарушение тканевого гомеостаза в результате действия различных внешних факторов [19].

Таким образом, несмотря на широкую распространенность миомы матки, на сегодняшний день многие вопросы патогенеза и клинического течения данного заболевания продолжают оставаться нерешенными. В связи с чем остаются актуальными исследования, направленные на объяснение путей развития опухоли и вариантов его профилактики.

Цель исследования. Оценить влияние уровня гомоцистеина на клиническое течение миомы матки.

Задачи исследования:

1. Выделить группы сравнения женщин с миомой матки, оценив их репродуктивный анамнез, соматический и гинекологический статус.
2. Провести сравнительную оценку клинических и ультразвуковых показателей миомы матки после проведения комплексного консервативного лечения опухоли, включающего индивидуальную коррекцию уровня гомоцистеина.

Материалы и методы. Проведено клиническое обследование 112 женщин репродуктивного возраста, наблюдавшихся амбулаторно в женской консультации ГУЗ «Городская больница № 2» г. Ульяновска в период 2020–2021 гг.

Основную группу составили 60 женщин с верифицированным диагнозом миомы матки. У 22 (36,6 %) из них миома матки была диагностирована ранее, у 38 (63,4 %) чел. – выявлена впервые, при обращении за медицинской помощью.

В группу сравнения вошли 52 женщины репродуктивного возраста без миомы матки. Средний возраст женщин основной группы составил 42,1 (0,5) года, группы сравнения – 41,8 (0,6) года ($p=0,701$). Группы формировались по принципу «случай-контроль».

В исследование не были включены женщины с пороками развития матки, онкологическими заболеваниями, генетически обусловленными коагулопатиями и инфекционными заболеваниями, в т.ч. передающимися половым путем.

Для определения уровня ГЦ амбулаторно при первом обращении женщины за медицинской помощью и дважды с интервалом в 1 мес. в динамике получаемой терапии проводился забор венозной крови. Кровь забиралась натощак из локтевой вены в утренние часы (8–10 ч). Уровень ГЦ определялся методом жидкостной хроматографии по А.А. Дутову (2016). Результат пересчитывался в мкмоль/л. Нормой ГЦ считались показатели в пределах 4,6–12,4 мкмоль/л. Лабораторные исследования проводились на базе частных медицинских центров «Академия» (Ульяновск) и «Инвитро» (Ульяновск), а также лаборатории Hellix (Ульяновск).

Исследование органов малого таза осуществлялось с применением ультразвуковой системы экспертного класса Toshiba Aplio XG (SSA-790A) (Toshiba, Япония) на базе МЦ «Академия», Sonoscape ssi 6000 (SonoScape Company Limited, Китай) в условиях женской консультации городской больницы № 2. Использование указанной системы позволило осуществлять методики визуализации с контрастным усилением VRI (Vascular Recognition Imaging), MFI (Micro Flow Imaging), RSI (Rate Subtraction Imaging) для проведения ангиографии и исследования перфузии в реальном времени, проводить контрастную эхографию (Contrast Harmonic Imaging), трехмерную реконструкцию (Fusion 3D-слияние) – комбинацию трехмерных данных в серой шкале и цветовом доплеровском картировании с визуализацией взаимоотношения сосудистых структур и окружающих миоматозных узлов – для оценки состояния миометрия и характера миоматозных узлов.

Полученные при проведении исследований результаты статистически обрабатывались с использованием стандартного программного пакета Statistica версии 6.0 (рус.) как наиболее адаптированного для обработки результатов, полученных при проведении ме-

дицинских исследований. Описание результатов проводилось с использованием расчета среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (SD). Сравнение качественных показателей осуществлялось в относительных величинах (%). Статистическая значимость различий оценивалась с примене-

нием t-критерия Стьюдента для независимых выборок ($p < 0,05$ – критический уровень значимости различий).

Результаты и обсуждение. Для определения роли ГЦ в характере и клиническом течении миомы матки у всех женщин было проведено определение уровня ГЦ (табл. 1).

Таблица 1
Table 1

Распределение женщин сравниваемых групп по уровню гомоцистеина (абс., M (SD))

Distribution of women in the compared groups by homocysteine level (abs., M (SD))

Градация уровня гомоцистеина, мкмоль/л Homocysteine level, mmol/L	Основная группа (n=60) Main group (n=60)	Группа сравнения (n=52) Comparison group (n=52)	P
Пониженный (<4,44) Reduced (<4.44)	2 3,3 (2,3)	1 1,9 (1,9)	0,639
Нормальный (4,44–13,56) Normal (4.44–13.56)	23 38,3 (6,3)	42 80,7 (5,5)	<0,001
Повышенный (13,57–14,0) Increased (13.56–14.0)	20 33,3 (6,1)	8 15,3 (5,0)	0,024
Высокий (>14,1) High (>14.1)	15 25,0 (5,6)	1 1,9 (1,9)	<0,001

Примечание. P – показатель статистической значимости различий данных сравниваемых групп.

Note. P indicates the statistical significance of differences between the compared groups.

У 58,3 % пациенток с миомой матки регистрировался повышенный и высокий уровень ГЦ, тогда как у женщин без миомы матки в 80,7 % случаев уровень ГЦ находился в пределах нормы, в 15,3 % – на верхней границе

нормы и только у одной женщины превышал нормальные значения.

Распределение женщин сравниваемых групп по структуре соматической патологии представлено в табл. 2.

Таблица 2
Table 2

Структура сопутствующей соматической патологии в исследуемых группах женщин (абс., M (SD))

Structure of concomitant somatic pathology in the study groups (abs., M(SD))

Патология Pathology	Основная группа (n=60) Main group (n=60)	Группа сравнения (n=52) Comparison group (n=52)	P
Заболевания сердечно-сосудистой системы Cardiovascular diseases	12 20 (5,2)	3 5,8 (3,2)	0,021
Вирусные гепатиты Viral hepatitis	4 6,7 (3,2)	1 1,9 (1,9)	0,199

Патология Pathology	Основная группа (n=60) Main group (n=60)	Группа сравнения (n=52) Comparison group (n=52)	p
Эндокринопатии, в т.ч. заболевания щитовидной железы различной этиологии Endocrinopathies, incl. thyroid disorders of various origin	10 16,7 (4,9)	4 7,7 (3,7)	0,145
Гиперпролактинемия Hyperprolactinemia	4 6,7 (3,2)	-	-
Ожирение 1–2-й степени Obesity (1–2 degree)	4 6,7 (3,2)	5 9,6 (4,1)	0,578
Варикозное расширение вен нижних конечностей без язвы или воспаления Varicose veins of the lower extremities without ulcers or inflammation	4 6,7 (3,2)	6 11,5 (4,5)	0,386
Железодефицитная анемия неуточненная Iron deficiency anemia, unspecified	2 3,3 (2,3)	1 1,9 (1,9)	0,639
Отсутствие соматических заболеваний There were no somatic diseases	36 60,0 (6,4)	41 78,8 (5,7)	0,03

Различия между группами были выявлены только по одной соматической патологии: женщины с миомой матки статистически значимо чаще страдали заболеваниями сердечно-сосудистой системы, в частности артериальной гипертензией, по поводу которой получали системное лечение у терапевта, что

в целом укладывается в представления о действии на организм повышенных уровней гомоцистеина. Таких пациенток в основной группе было 20 %, в группе сравнения – 3,2 %.

Сравнительная характеристика групп женщин по данным репродуктивного анамнеза приведена в табл. 3.

Таблица 3
Table 3

Репродуктивный анамнез женщин сравниваемых групп (абс., M (SD))

Reproductive anamnesis of women in the study groups (abs., M (SD))

Исходы предыдущих беременностей Previous pregnancy outcomes	Основная группа (n=60) Main group (n=60)	Группа сравнения (n=52) Comparison group (n=52)	p
Физиологические роды доношенным плодом Physiological delivery (mature fetus)	30 50,0 (6,5)	38 73,1 (6,2)	0,019
Оперативные роды (кесарево сечение) по показаниям Operative delivery (cesarean section) as medically indicated	10 16,7 (4,9)	5 9,6 (4,1)	0,268
Преждевременные роды (22–36 нед.) Premature birth (22–36 weeks)	4 6,7 (3,2)	-	-
Поздние выкидыши (12–21 нед.) Late miscarriage (12–21 weeks of pregnancy)	4 6,7 (3,2)	-	-

Исходы предыдущих беременностей Previous pregnancy outcomes	Основная группа (n=60) Main group (n=60)	Группа сравнения (n=52) Comparison group (n=52)	p
Артифициальный аборт Artificial abortion	32 51,7 (6,5)	31 59,6 (6,8)	0,402
Замершая в I триместре беременность 1 st trimester silent miscarriage	16 26,7 (5,7)	4 7,6 (3,7)	0,005
Аntenатальная гибель плода Intrauterine fetal death	2 3,3 (2,3)	-	-
Привычное невынашивание (более 2 выкидышей в ранние сроки) Habitual miscarriage (>2 early miscarriages)	4 6,7 (3,2)	-	-

Анализ исходов беременностей позволил установить, что физиологические роды доношенным плодом у пациенток основной группы регистрировались статистически значимо реже, чем в группе сравнения (50,0 % и 73,1 % соответственно, $p=0,019$). Такие исходы беременности, как преждевременные роды и поздние самопроизвольные выкидыши, имели место только у женщин с миомой матки. На антенатальную гибель плода в анамнезе, привычное невынашивание беременности также указывали только женщины основной группы. Следует отметить, что все перечисленные состояния сопровождались внутриматочными вмешательствами, что могло способствовать или предшествовать развитию миомы матки.

При сравнении групп женщин по перенесенной гинекологической патологии, выявленной в процессе их обследования (табл. 4), было установлено, что 90 % женщин основной группы в анамнезе имели ряд гинекологических заболеваний, наиболее распространенными из которых явились тазовые перитонеальные спайки. Каждая третья женщина с миомой матки указывала на обильные и частые менструации. У 16,7 % пациенток с миомой матки регистрировалось вторичное бесплодие, в группе сравнения этот диагноз был выставлен только одной пациентке. Только 10,0 % пациенток основной группы не имели анамнестических указаний на перенесенные гинекологические заболевания, в то время как в группе сравнения таких женщин было 69,2 % ($p<0,001$).

Таблица 4
Table 4

Структура перенесенной гинекологической патологии у женщин сравниваемых групп (абс., M (SD))

Structure of the transferred gynecological pathology of women in the study groups (abs., M (SD))

Гинекологическая патология Gynecological pathology	Основная группа (n=60) Main group (n=60)	Группа сравнения (n=52) Comparison group (n=52)	p
Миома матки Uterine fibroids	22 36,7 (6,3)	-	-
Сальпингит и оофорит Salpingitis and oophoritis	2 3,3 (2,3)	1 1,9 (1,9)	0,639
Воспалительные болезни шейки матки, эктопия, эктропион Inflammatory cervical lesions, ectopia, ectropion	18 30,0 (6,0)	14 26,9 (6,2)	0,680

Гинекологическая патология Gynecological pathology	Основная группа (n=60) Main group (n=60)	Группа сравнения (n=52) Comparison group (n=52)	p
Тазовые перитонеальные спайки у женщин Pelvic peritoneal adhesions in women	30 50,0 (6,5)	6 11,5 (4,5)	<0,001
Эндометриоз Endometriosis	2 3,3 (2,3)	2 3,8 (2,7)	0,908
Железистая гиперплазия эндометрия Glandular endometrial hyperplasia	4 6,7 (3,2)	-	-
Обильные и частые менструации при регулярном цикле Menorrhagia and polymenorrhea at regular cycle	20 33,3 (6,1)	2 3,8 (2,7)	<0,001
Болевые и другие состояния, связанные с женскими половыми органами и менструальным циклом Pain and other problems associated with female genitals and menstrual cycle	8 13,3 (4,4)	4 7,7 (3,7)	0,332
Женское бесплодие вторичное Secondary female infertility	10 16,7 (4,8)	1 1,9 (1,9)	0,004
Отсутствие гинекологических заболеваний Absence of gynecological disorders	6 10,0 (3,9)	36 69,2 (6,4)	<0,001

Отметим, что все женщины группы сравнения с повышенным уровнем гомоцистеина имели в анамнезе экстрагенитальные патологии, связанные с метаболическими нарушениями (ожирение, гипертиреоз). У этих женщин имели место факторы высокого риска развития миомы матки, такие как несостоявшаяся беременность, закончившаяся выскабливанием полости матки. Для профилактики возможных осложнений, связанных с ГЦ, этим женщинам был предложен лечебный прием фолиевой кислоты курсами по 1 мес. в дозировках, пропорциональных уровням повышения ГЦ. Женщинам без генитальных и экстрагенитальных патологий, которые имели повышенный уровень ГЦ (13,57 мкмоль/л и более) и отягощенный семейный анамнез (наличие у родственниц по женской линии 1–2-го поколения миомы матки, доброкачественных опухолей женской репродуктивной системы, а также сосудистых катастроф), была рекомендована консультация кардиолога, лечение, как в основной группе, с дальнейшим контролем ГЦ в первый год 1 раз в 6 мес., затем 1 раз в год вместе с профилактическим УЗИ органов малого таза, наблюдением у кардиолога и те-

рапевта и повторением профилактического курса.

Учитывая изменения уровней ГЦ и клиническое течение миомы матки, женщинам основной группы был назначен профилактический прием курса фолиевой кислоты, дозирование которой осуществлялось пропорционально уровню ГЦ, в монотонном режиме, в сочетании с витаминами группы В (В6 и В12), с наблюдением динамики содержания ГЦ 1 раз в год.

Показаний к экстренному оперативному вмешательству у женщин основной группы не было, а плановые операции было решено отсрочить и провести консервативное лечение согласно актуальным клиническим рекомендациям «Миома матки – 2020» (02.11.2020), утвержденным Минздравом России. Отметим, что до начала консервативного лечения у женщин с миомой матки оценивалась динамика заболевания в течение 1 года по результатам предыдущих УЗИ и ретроспективному анамнезу состояния опухоли. Результаты проведенного лечения, основанные на анализе клинической картины заболевания и параметров УЗИ, приведены в табл. 5.

Таблица 5
Table 5

Динамика изменения размеров миоматозных узлов у женщин с миомой матки после проведения консервативной терапии (длительность наблюдения – 1 год) (абс., М (SD))

Dynamics of changes in myomatous node size in women with uterine fibroid before and after conservative therapy (1-year follow-up) (abs., M (SD))

Симптомы заболевания Symptoms	До лечения Before treatment	Через 1 год терапии After 1-year therapy	Р
Стабильное состояние миоматозных узлов (размеры и число узлов не меняются) Stable myomatous nodes (size and number do not change)	23 38,3 (6,3)	37 61,6 (6,3)	0,011
Рост миомных узлов более чем на 30 % Growth of myomatous nodes by more than 30 %	8 13,3 (4,4)	1 1,6 (1,6)	0,013
Появление новых миоматозных узлов New myomatous nodes	12 20 (5,2)	2 3,3 (2,3)	0,004
Показания к оперативному лечению из-за активного роста опухоли (более чем на 5 нед. беременности) или нарушения функции соседних органов Indications for surgical treatment due to active tumour growth (>5 weeks of pregnancy) / Dysfunction of neighboring organs	15 25,0 (5,6)	4 6,6 (3,3)	0,005

На фоне предлагаемого дополнения к терапии миомы матки у 61,6 % пациенток состояние миоматозных узлов стабилизировалось и в течение года не было выявлено прогресса клинической картины миомы матки. Отметим, что до начала проведения комплексной консервативной терапии показания к хирургическому лечению имели 25,0 % пациенток, а через год комплексной терапии – только 6,6 % ($p=0,005$). По состоянию здоровья и характеру миоматозных узлов этим пациенткам была рекомендована эмболизация маточных артерий и продолжена коррекция уровня ГЦ.

Заключение. Положительные результаты терапии миомы матки на фоне коррекции гомоцистеина были получены у 61,6 % женщин. Проведенное исследование с управляемым фактором (гомоцистеином) позволило подтвердить участие последнего в формировании одного из путей патогенеза миоматозного узла.

Результаты проведенного исследования позволили сделать следующие выводы:

- женщины с миомой матки статистически значимо чаще страдают заболеваниями сердечно-сосудистой системы (артериальной гипертензией), что в целом укладывается в

представление о действии на организм повышенных уровней ГЦ;

- у женщин с миомой матки имеют место преждевременные роды и поздние самопроизвольные выкидыши, антенатальная гибель плода и привычное невынашивание беременности, что также может быть следствием повышенного уровня ГЦ. Все перечисленные состояния сопровождаются внутриматочными вмешательствами, что может способствовать или предшествовать развитию миомы матки;

- применение в составе актуального клинического протокола лечения миомы матки препаратов фолиевой кислоты и витаминов группы В дает возможность стабилизировать состояние миоматозных узлов и снизить необходимость проведения радикального оперативного лечения (в нашем исследовании – в 4 раза).

Вместе с тем для уточнения механизмов влияния ГЦ на формирование миоматозных узлов и клиническое течение миомы матки необходимо продолжение исследования, расширение групп, детализация дозировок и средств применяемой консервативной терапии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Мустафина Г.Т. Некоторые показатели стационарной медицинской помощи женщинам при гинекологических заболеваниях. Медицинский вестник Башкортостана. 2013; 4: 5–8.
2. Кудинова Н.Н. Заболеваемость женщин миомой матки в сочетании с аденомиозом и пути их профилактики с учетом медико-социальных факторов риска: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Воронеж; 2014. 23.
3. Хамидуллина Э.Ф., Давидян Л.Ю. Особенности течения беременности у женщин с миомой матки и гипергомоцистеинемией. Медицинский совет. 2020; 3: 160.
4. Хамидуллина Э.Ф., Давидян Л.Ю. Исходы беременности у женщин с гипергомоцистеинемией и доброкачественными опухолями матки. Аспирантский вестник Поволжья. 2019; 19 (5-6): 30–38.
5. Murphy M.M., Scott J.M., McPartlin J.M., Fernandez-Ballart J.D. The pregnancy-related decrease in fasting plasma homocysteine is not explained by folic acid supplementation, hemodilution, or a decrease in albumin in a longitudinal study. Am. J. Clin. Nutr. 2002; 76: 614–619.
6. Madsen J.S., Kristensen S.R., Klitgaard N.A., Bladbjerg E.M., Abrahamsen B., Stilgren L., Jespersen J. Effect of long-term hormone replacement therapy on plasma homocysteine in postmenopausal women: a randomized controlled study. Am. J. Obstet Gynecol. 2002; 187: 33–39.
7. Tallova J., Tomandl J., Bicikova M., Hill M. Changes of plasma total homocysteine levels during the menstrual cycle. Eur. J. Clin. Invest. 1999; 29: 1041–1044.
8. Macklon N.S., Stouffer R.L., Giudice L.C., Fauser B.C. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. Endocr rev. 2006; 27: 170–207.
9. Nygard O., Vollset S.E., Refsum H., Stensvold I., Tverdal A., Nordrehaug J.E. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study. JAMA. 1995; 274: 1526–1533.
10. Stuhlinger M.C., Oka R.K., Graf E.E., Schmolzer I., Upson B.M., Kapoor O., Szuba A., Malinow M.R., Wascher T.C., Pachinger O., Cooke J.P. Endothelial dysfunction induced by hyperhomocysteinemia: Role of asymmetric dimethylarginine. Circulation. 2003; 108: 933–938.
11. Пчелин И.Ю., Ганешин П.А., Худякова Н.В., Байрашьева В.К. Гипергомоцистеинемия и диабетическая нефропатия: влияние генетических факторов, клинико-патогенетические взаимосвязи с воспалением и анемией. Juvenis scientia. 2016; 6: 12–16.
12. Rasmussen K., Møller J. Total homocysteine determination in clinical practice. Ann Clin. Biochem. 2000; 37: 627–648.
13. Audelin M.C., Genest J.Jr. Homocysteine and cardiovascular disease in diabetes mellitus. Atherosclerosis. 2001; 159 (2): 497–511.
14. Власенко А.В. Влияние гипергомоцистеинемии на развитие неалкогольной жировой болезни печени при сахарном диабете. Международный эндокринологический журнал. 2013; 1 (49): 10–14.
15. Chang H., Xie L., Ge H., Wu Q., Wen Y., Zhang D., Zhang Y., Ma H., Gao J., Wang C.C., Stener-Victorin E., Ng E.H., Wu X. Effects of hyperhomocysteinemia and metabolic syndrome on reproduction in women with polycystic ovary syndrome: a secondary analysis. Reprod Biomed Online. 2019; 38 (6): 990–998.
16. Bostom A.G., Culleton B.F. Hyperhomocysteinemia in chronic renal disease. J. Am. Soc. Nephrol. 1999; 10: 891–900.
17. Xu R., Huang F., Wang Y., Liu Q., Lv Y., Zhang Q. Gender- and age-related differences in homocysteine concentration: a cross-sectional study of the general population of China. Sci Rep. 2020; 10 (1): 17401.
18. Vollset S.E., Refsum H., Irgens L.M., Emblem B.M., Tverdal A., Gjessing H.K. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse outcomes: the Hordaland Homocysteine Study. Am. J. Clin. Nutr. 2000; 71: 962–968.
19. Nilsson K., Gustafson L., Faldt R., Andersson A., Brattstrom L., Lindgren A. Hyperhomocysteinemia – a common finding in a psychogeriatric population. Eur. J. Clin. Invest. 1996; 26: 853–859.

Поступила в редакцию 14.10.2021; принята 18.04.2022.

Авторский коллектив

Сидорова Юлия Дмитриевна – аспирант, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: Yulisik2008@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8002-9211>.

Давидян Лиана Юрьевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры последипломного образования и семейной медицины, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: dliana2009@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-1049-1830>.

Богдасаров Азат Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: a.bogdasarov@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7026-0620>.

Образец цитирования

Сидорова Ю.Д., Давидян Л.Ю., Богдасаров А.Ю. Оценка содержания гомоцистеина у женщин с симптомной миомой матки. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 61–72. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-61-72.

HOMOCYSTEINE LEVELS IN WOMEN WITH SYMPTOMATIC UTERINE FIBROIDS

Yu.D. Sidorova, L.Yu. Davidyan, A.Yu. Bogdasarov

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia

Uterine fibroids are considered one of the most common benign tumors of the reproductive system. This disease ranks second (20–50 %) among the causes of hospitalization in gynecological hospitals.

The aim of the study is to evaluate the effect of homocysteine levels on the state of uterine fibroids.

Materials and Methods. The study involved 112 women: 60 with uterine fibroids and 52 without uterine fibroids. General clinical, biochemical, ultrasound, and statistical research methods were used. Mathematical data processing was carried out according to Lang T. and Altman D. (2014). Quantitative data analysis on the normality of distribution was carried out using the Shapiro-Wilk test.

Results. The normal homocysteine (Hc) level was found in 80.7 (5.5) % of patients without uterine fibroids, which is statistically more significant than in the group of women with uterine myoma (38.3 (6.3) %, $p < 0.001$). Hc level was at the upper normal level in 33.3 (6.1) % of women in the main group and 15.3 (5.0) % of women in the comparison group. An excess of normal values was found in 25.0 (5.6) % of women in the main group and only in one in the comparison group ($p < 0.001$). Due to additional therapy of uterine fibroids, the state of myomatous nodes stabilized in 61.6 (6.3) % of patients. There was no progression of uterine fibroids during a year. Before complex therapy, surgical indications were in 25.0 (5.6) % of patients with uterine fibroids. After a year of complex therapy, surgical indications remained only in 6.6 (3.3) % of women with uterine fibroids, which is statistically less significant than before the prescribed treatment ($p = 0.005$).

Conclusion. In women with uterine fibroids, there are multiple genital and somatic pathologies that contribute to the increase of Hc level and the development of uterine fibroids.

The use of folic acid and B-group vitamins in addition to the clinical protocol for the treatment of uterine fibroids made it possible to stabilize the myomatous nodes and reduce surgical treatment by 4 times.

Key words: homocysteine, hyperhomocysteinemia, uterine fibroids, metabolic disorders, endocrine gynecology.

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

References

1. Mustafina G.T. Nekotorye pokazateli statsionarnoy meditsinskoy pomoshchi zhenshchinam pri ginekologicheskikh zabolovaniyakh [Some indicators of inpatient care for women with gynecological diseases]. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*. 2013; 4: 5–8 (in Russian).

2. Kudinova N.N. *Zabolevaemost' zhenshchin miomoy matki v sochetanii s adenomiozom i puti ikh profilaktiki s uchetom mediko-sotsial'nykh faktorov riska* [Incidence of uterine fibroids associated with adenomyosis in women and their prevention with reference to medical and social risk factors]: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Voronezh; 2014. 23 (in Russian).
3. Khamidullina E.F., Davidyan L.Yu. Osobennosti techeniya beremennosti u zhenshchin s miomoy matki i gipergomotsisteinemiyei [Features of the content of homocysteine and thyroid hormones in pregnant women with uterine myoma]. *Meditsinskiy sovet*. 2020; 3: 160 (in Russian).
4. Khamidullina E.F., Davidyan L.Yu. Iskhody beremennosti u zhenshchin s gipergomotsisteinemiyei i dobrokachestvennymi opukholyami matki [Pregnancy outcomes in women with hyperhomocysteinemia and benign uterine tumors]. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2019; 19 (5-6): 30–38 (in Russian).
5. Murphy M.M., Scott J.M., McPartlin J.M., Fernandez-Ballart J.D. The pregnancy-related decrease in fasting plasma homocysteine is not explained by folic acid supplementation, hemodilution, or a decrease in albumin in a longitudinal study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2002; 76: 614–619.
6. Madsen J.S., Kristensen S.R., Klitgaard N.A., Bladbjerg E.M., Abrahamsen B., Stilgren L., Jespersen J. Effect of long-term hormone replacement therapy on plasma homocysteine in postmenopausal women: a randomized controlled study. *Am. J. Obstet Gynecol.* 2002; 187: 33–39.
7. Tallova J., Tomandl J., Bicikova M., Hill M. Changes of plasma total homocysteine levels during the menstrual cycle. *Eur. J. Clin. Invest.* 1999; 29: 1041–1044.
8. Macklon N.S., Stouffer R.L., Giudice L.C., Fauser B.C. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Endocr rev.* 2006; 27: 170–207.
9. Nygard O., Vollset S.E., Refsum H., Stensvold I., Tverdal A., Nordrehaug J.E. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study. *JAMA*. 1995; 274: 1526–1533.
10. Stuhlinger M.C., Oka R.K., Graf E.E., Schmolzer I., Upson B.M., Kapoor O., Szuba A., Malinow M.R., Wascher T.C., Pachinger O., Cooke J.P. Endothelial dysfunction induced by hyperhomocysteinemia: Role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation*. 2003; 108: 933–938.
11. Pchelina I.Yu., Gapeshin R.A., Khudyakova N.V., Bayrasheva V.K. Gipergomotsisteinemiya i diabeticheskaya nefropatiya: vliyaniye geneticheskikh faktorov, kliniko-patogeneticheskie vzaimosvyazi s vospaleniem i anemiyei [Hyperhomocysteinemia and diabetic nephropathy: The influence of genetic factors, clinical and pathogenetic interrelations with inflammation and anemia]. *Juvenis scientia*. 2016; 6: 12–16 (in Russian).
12. Rasmussen K., Møller J. Total homocysteine determination in clinical practice. *Ann Clin. Biochem.* 2000; 37: 627–648.
13. Audelin M.C., Genest J.Jr. Homocysteine and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 2001; 159 (2): 497–511.
14. Vlasenko A.V. Vliyaniye gipergomotsisteinemiyei na razvitiye nealkogol'noy zhirovoy bolezni pecheni pri sakharnom diabete [Influence of hyperhomocysteinemia on development of non-alcoholic fatty liver disease in diabetes mellitus]. *Mezhdunarodnyy endokrinologicheskiy zhurnal*. 2013; 1 (49): 10–14 (in Russian).
15. Chang H., Xie L., Ge H., Wu Q., Wen Y., Zhang D., Zhang Y., Ma H., Gao J., Wang C.C., Stener-Victorin E., Ng E.H., Wu X. Effects of hyperhomocysteinemia and metabolic syndrome on reproduction in women with polycystic ovary syndrome: a secondary analysis. *Reprod Biomed Online*. 2019; 38 (6): 990–998.
16. Bostom A.G., Culleton B.F. Hyperhomocysteinemia in chronic renal disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999; 10: 891–900.
17. Xu R., Huang F., Wang Y., Liu Q., Lv Y., Zhang Q. Gender- and age-related differences in homocysteine concentration: a cross-sectional study of the general population of China. *Sci Rep*. 2020; 10 (1): 17401.
18. Vollset S.E., Refsum H., Irgens L.M., Emblem B.M., Tverdal A., Gjessing H.K. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse outcomes: the Hordaland Homocysteine Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 71: 962–968.
19. Nilsson K., Gustafson L., Faldt R., Andersson A., Brattstrom L., Lindgren A. Hyperhomocysteinemia – a common finding in a psychogeriatric population. *Eur. J. Clin. Invest.* 1996; 26: 853–859.

Information about the authors

Sidorova Yuliya Dmitrievna, Post-graduate Student, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: Yulisik2008@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8002-9211>.

Davidyan Liana Yur'evna, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Chair of Postgraduate Education and Family Medicine, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: dliana2009@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-1049-1830>.

Bogdasarov Azat Yur'evich, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Chair of Obstetrics and Gynecology, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: a.bogdasarov@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7026-0620>.

For citation

Sidorova Yu.D., Davidyan L.Yu., Bogdasarov A.Yu. Otsenka sodержaniya gomotsisteina u zhenshchin s simptomnoy miomoy matki [Homocysteine levels in women with symptomatic uterine fibroids]. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskiy zhurnal*. 2022; 3: 61–72. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-61-72 (in Russian).

УДК 616.65-006.6

DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-73-85

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ APC, GSTP1 И RASSF1A КАК МАРКЕРА РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

И.А. Абоян¹, Е.Н. Федотова¹, А.Ю. Максимов², Е.Ф. Комарова²

¹ МБУЗ «Клинико-диагностический центр «Здоровье» г. Ростова-на-Дону»,
г. Ростов-на-Дону, Россия;

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Рак предстательной железы (РПЖ) представляет собой одно из наиболее распространенных онкозаболеваний, занимающее четвертое место в мировой структуре смертности. В связи с отсутствием клинических проявлений на ранних стадиях, а также низкой специфичностью существующих методов дифференциальной лабораторной диагностики актуальным остается поиск чувствительных малоинвазивных маркеров рака предстательной железы.

Целью настоящего исследования стал анализ уровней метилирования генов APC, GSTP1 и RASSF1A в биологическом материале при патологиях предстательной железы и эффективности их применения для выявления РПЖ.

Материалы и методы. Для молекулярно-генетического исследования уровня метилирования APC, GSTP1 и RASSF1A методом МС-ПЦР использовали геномную ДНК, выделенную из образцов постмассажной мочи, плазмы крови и биопсийного материала пациентов с РПЖ (n=34) и доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ) (n=27). Контрольную группу составили 20 мужчин без выявленной патологии. Анализ продуктов МС-ПЦР осуществляли путем проведения электрофореза в 2 % агарозном геле.

Результаты. Наиболее часто во всех изученных типах биологического материала отмечается средняя степень метилирования APC, GSTP1 и RASSF1A. Имеются статистически значимые различия между группами с патологиями ПЖ с учетом биологического материала. Оценка отношения шансов выявления РПЖ показала, что наличие гиперметилированного APC в постмассажной моче, гена GSTP1 в плазме крови и гена RASSF1A в биопсийном материале увеличивает вероятность обнаружения РПЖ в 2,5, 12,1 и 4,1 раза соответственно. Показана низкая чувствительность (55,3 %) и высокая специфичность (87 %) диагностики РПЖ по уровню метилирования гена APC в образцах постмассажной мочи, гена GSTP1 в плазме крови, а также гена RASSF1A в биопсийном материале. При сочетанном использовании статуса метилирования изученных генов чувствительность составила 65,2 %, а специфичность – 82,4 %, а при добавлении в панель значения общего простатспецифического антигена (ПСА) – 79,1 и 82,9 % соответственно.

Выводы. Уровни метилирования APC в образцах постмассажной мочи, GSTP1 в плазме крови и RASSF1A в биопсийном материале могут быть рассмотрены в качестве высокоспецифичных диагностических маркеров РПЖ. Совместное применение данных показателей увеличивает специфичность диагностики в сравнении с определением уровня инициального ПСА, а при включении в панель последнего увеличивает также чувствительность панели для выявления РПЖ.

Ключевые слова: рак предстательной железы, APC, GSTP1, RASSF1A, метилирование, постмассажная моча.

Введение. Рак предстательной железы (РПЖ) является одним из наиболее часто диагностируемых злокачественных образований, занимающим четвертое место в мировой структуре смертности мужского населения [1]. Использование простатспецифического антигена (ПСА) в качестве диагностического маркера позволило увеличить частоту обнару-

жения РПЖ на ранних стадиях, что привело к увеличению прижизненной постановки диагноза до 16 % [2]. Однако данный метод обладает низкими специфичностью и чувствительностью, что нередко приводит к гипертерапии ложноположительных пациентов и проведению необязательной биопсии [3]. До 30 % случаев РПЖ могут быть диагностированы в диа-

пазоне значений ПСА менее 4 нг/мл, причем до 10 % случаев представляют собой агрессивные формы [4, 5]. В связи с этим по-прежнему актуальным остается поиск дополнительных методов диагностики РПЖ, в частности молекулярно-генетических маркеров, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью в отношении ранних форм РПЖ.

Особого внимания заслуживает статус метилирования ДНК промоторных областей генов-супрессоров как наиболее изученной и распространенной эпигенетической модификации в клетках РПЖ [6]. При развитии онкопатологии предстательной железы (ПЖ) аберрантные профили метилирования обычно наблюдаются уже на ранних стадиях, во время перехода от доброкачественного процесса к пролиферативной воспалительной атрофии и предраковым состояниям [7]. В исследованиях показано, что метилирование промотора гена *GSTP1* ингибирует цитопротекторные свойства гена и становится одной из причин неопластической трансформации клеток, в т.ч. и ткани предстательной железы [8]. Метилирование промотора гена *APC* связывают с высокой степенью злокачественности и агрес-

сивностью клеток РПЖ [9, 10]. *RASSF1* также представляет собой клинически значимый ген-супрессор опухолей, кодирующий белки *RASSF1A* и *RASSF1C*, и метилирование промотора *RASSF1* приводит к потере его супрессорных свойств [11]. Целесообразным представляется проведение дифференциальной диагностики между доброкачественными и злокачественными образованиями ПЖ на основании оценки метилирования промоторов данных генов как отдельно, так и в сочетании друг с другом, особенно для пациентов с уровнем инициального ПСА от 2,5 до 10 нг/мл.

Цель исследования. Анализ уровней метилирования генов *APC*, *GSTP1* и *RASSF1A* в биологическом материале при патологиях ПЖ и эффективности их сочетанного применения для выявления РПЖ.

Материалы и методы. Молекулярно-генетическое исследование было проведено 61 пациенту в возрасте от 51 до 75 лет (медиана – 66 лет), поступившему в МБУЗ КДЦ «Здоровье» г. Ростова-на-Дону с жалобами на нарушение функции нижних мочевых путей. Критерии включения и исключения пациентов приведены в табл. 1.

Таблица 1
Table 1

Критерии включения и исключения пациентов Inclusion and exclusion criteria

Критерии включения Inclusion criteria	возраст <75 лет age <75
	первично обратившиеся пациенты, отсутствие лечения newly-admitted patients, no treatment
	ПСА 2,5–10 нг/мл PSA 2,5–10 ng/ml
Критерии исключения Exclusion criteria	ПСА >10 нг/мл; PSA >10 ng/ml
	декомпенсированная сопутствующая соматическая патология decompensated concomitant somatic pathology
	признаки острого или обостренного хронического простатита на момент обследования signs of acute or exacerbate chronic prostatitis at the moment of examination
	лабораторные или клинические признаки острого воспаления мочевых путей laboratory and clinical signs of acute inflammation of the urinary tract
	наличие хронической болезни почек chronic kidney disease

По результатам проведенного комплексного обследования, а также с учетом полученных данных морфологической диагностики пациенты были разделены на две исследуемые группы: больные с верифицированной аденокарциномой ПЖ (n=34); больные с верифицированной доброкачественной гиперплазией (ДГПЖ) с простатической интраэпителиальной неоплазией (ПИН) разной степени (n=27). Контрольную группу составили 20 мужчин в возрасте от 30 до 71 года (медиана – 56,5 года) без выявленной при проведенном обследовании патологии ПЖ. Каждым из пациентов было подписано добровольное согласие на участие в проведении настоящего исследования.

Молекулярно-генетическое исследование было проведено методом метил-специфичной ПЦР (МС-ПЦР). МС-ПЦР подвергали образцы бисульфит-конвертированной ДНК, выделенной из плазмы, постмассажной мочи и биопсийного материала. В качестве контроля использовали ДНК, выделенную из мононуклеарной фракции крови условно здоровых мужчин. После завершения программы амплификации образцы визуализировали при помощи гель-электрофореза в 2 % агарозном геле при 160 В в течение 1 ч с использованием интеркалирующего красителя – бромистого этидия. Визуализацию продуктов МС-ПЦР производили в ультрафиолетовом спектре излучения с использованием системы GelDoc XR PLUS (BioRad, США). Степень метилирования оценивали по интенсивности уровня свечения продуктов амплификации, условно подразделяя на высокую, среднюю и низкую.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Statistica 12.0 (StatSoft Inc, США). Анализ достоверности различий уровней метилирования между пациентами с РПЖ, доброкачественной гиперплазией и условно здоровой ПЖ, а также между тремя видами биоматериала оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона с непараметрической поправкой Йетса. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. При анализе степени и частоты метилирования гена *APC* для каждого типа биологического материала обнаружено, что в 100 % образцов биопсийного материала и плазмы крови больных с верифицированным РПЖ промоторная область была метилирована в низкой степени (табл. 2). При этом в образцах постмассажной мочи пациентов с РПЖ отмечалась высокая степень метилирования данного гена. В группе пациентов с ДГПЖ низкая степень метилирования *APC* выявлялась в 100 % образцов биопсийного материала и плазмы крови, в то время как в некоторых образцах постмассажной мочи была обнаружена средняя степень метилирования. В образцах плазмы крови и постмассажной мочи условно здоровых мужчин также отмечалось преобладание низкой степени метилирования гена *APC* – 100 % и 96 % соответственно (табл. 2). Сравнительный межгрупповой анализ степени метилирования гена *APC* в постмассажной моче выявил статистически значимые различия как по сравнению с контрольной группой, так и в группах с патологией ПЖ ($\chi^2=16,532$ ($p=0,001$)) (табл. 2).

Таблица 2
Table 2

Степень и частота метилирования гена *APC* в исследуемых группах

APC methylation level and frequency in the studied groups

Степень метилирования <i>APC</i> APC methylation level	Вид биологического материала Type of biological material			χ^2 (p)
	Биоптат Biopsy	Моча Urine	Плазма Plasma	
Больные РПЖ (n=34) Patients with prostate cancer (PC) (n=34)				
Высокая High	0	4 (11,8 %)	0	9,818 (0,049)

Степень метилирования APC APC methylation level	Вид биологического материала Type of biological material			χ^2 (p)
	Биоптат Biopsy	Моча Urine	Плазма Plasma	
Средняя Medium	0	1 (2,9 %)	0	
Низкая Low	34 (100 %)	29 (85,3 %)	34 (100 %)	
Отсутствие No methylation	0	0	0	
		χ^2 (p) РПЖ/контроль – 6,154 (0,047) χ^2 (p) PC/control – 6,154 (0,047)		
Пациенты с ДГПЖ (n=27) Patients with benign prostatic hyperplasia (BPH)				
Высокая High	0	0	0	4,308 (0,366)
Средняя Medium	0	3 (11,1 %)	0	
Низкая Low	27 (100 %)	24 (88,9 %)	27 (100 %)	
Отсутствие No methylation	0	0	0	
		χ^2 (p) ДГПЖ/контроль – 5,231 (0,039) χ^2 (p) BPH/control – 5,231 (0,039)		
		χ^2 РПЖ/ДГПЖ – 16,532 (p=0,001) χ^2 PC/BPH – 16,532 (p=0,001)		
Контрольная группа (n=20) Control group (n=20)				
Высокая High	-	0	0	5,154 (0,421)
Средняя Medium	-	0	1 (4 %)	
Низкая Low	-	20 (100 %)	19 (96 %)	
Отсутствие No methylation	-	0	0	

Примечание. Здесь и далее приведены только статистически значимые межгрупповые различия, определенные с помощью критерия χ^2 Пирсона.

Note. Here and below, only statistically significant intergroup differences are given. Pearson's χ^2 test is used.

При изучении метилирования гена *GSTP1* в группе пациентов с РПЖ с наибольшей частотой средняя степень метилирования наблюдалась в образцах постмассажной мочи, а

наибольшая частота низкой степени метилирования была зарегистрирована в образцах плазмы крови (табл. 3).

Таблица 3
Table 3

Степень и частота метилирования гена *GSTP1* в исследуемых группах
***GSTP1* methylation level and frequency in the studied groups**

Степень метилирования <i>GSTP1</i> <i>GSTP1</i> methylation level	Вид биологического материала Type of biological material			χ^2 (p)
	Биоптат Biopsy	Моча Urine	Плазма Plasma	
Больные РПЖ (n=34) Patients with PC (n=34)				
Высокая High	5 (14,7 %)	0	3 (8,8 %)	15,872 (<0,01)
Средняя Medium	21 (61,7 %)	28 (82,4 %)	18 (52,9 %)	
Низкая Low	8 (23,6 %)	6 (17,6 %)	13 (38,2 %)	
Отсутствие No methylation	0	0	0	
		χ^2 (p) РПЖ/контроль – 23,442 (p<0,01) χ^2 (p) PC/control – 23,442 (p<0,01)	χ^2 (p) РПЖ/контроль – 15,524 (p=0,002) χ^2 (p) PC/control – 15,524 (p=0,002)	
Пациенты с ДГПЖ (n=27) Patients with BPH (n=27)				
Высокая High	0	0	3 (11,1 %)	5,461 (0,244)
Средняя Medium	16 (59,2 %)	15 (55,6 %)	16 (59,3 %)	
Низкая Low	11 (40,7 %)	12 (44,4 %)	8 (29,6 %)	
Отсутствие No methylation	0	0	0	
		χ^2 (p) ДГПЖ/контроль – 13,863 (p<0,001) χ^2 (p) BPH/control – 13,863 (p<0,001)	χ^2 (p) ДГПЖ/контроль – 17,910 (p<0,001) χ^2 (p) BPH/control – 17,910 (p<0,001)	
		χ^2 (p) РПЖ/ДГПЖ – 3,987 (p=0,046) χ^2 (p) PC/BPH – 3,987 (p=0,046)		
Контрольная группа (n=20) Control group (n=20)				
Высокая High	-	0	0	4,257 (0,538)
Средняя Medium	-	0	0	
Низкая Low	-	16 (80 %)	14 (70 %)	
Отсутствие No methylation		4 (20 %)	6 (30 %)	

В группе пациентов с ДГПЖ высокая степень метилирования промотора гена *GSTP1* наблюдалась только в образцах плазмы крови (табл. 3). В образцах плазмы крови и постмассажной мочи условно здоровых мужчин наблюдалась низкая степень метилирования гена *GSTP1* в 70 % и 80 % случаев соответственно, а в остальных случаях зафиксировано отсутствие метилирования (табл. 3).

При сравнении степени метилирования гена *GSTP1* при различных состояниях ПЖ в образцах постмассажной мочи были выявлены статистически значимые различия как между пациентами с патологией предстательной железы и условно здоровыми, так и между больными РПЖ и пациентами с ДГПЖ (табл. 3). В образцах плазмы крови также обнаружены

различия между группой обследуемых с патологией ПЖ и группой контроля, однако в группах пациентов с РПЖ и ДГПЖ статистически значимые различия по степени метилирования данного гена отсутствовали (табл. 3).

При оценке метилирования гена *RASFF1A* обнаружено, что в группе больных РПЖ высокая степень метилирования наблюдалась только в одном образце постмассажной мочи, в биопсийном материале преобладала средняя степень метилирования (82,3 %), а в моче и плазме – низкая (55,9 % и 61,8 % соответственно) (табл. 4). В группе пациентов с ДГПЖ в образцах биоптатов и постмассажной мочи преобладала низкая степень метилирования, в то время как в образцах плазмы крови – средняя (табл. 4).

Таблица 4
Table 4

Степень и частота метилирования гена *RASFF1A* в исследуемых группах
RASFF1A methylation level and frequency in the studied groups

Степень метилирования <i>RASFF1A</i> <i>RASFF1A</i> methylation level	Вид биологического материала Type of biological material			χ^2 (p)
	Биоптат Biopsy	Моча Urine	Плазма Plasma	
Больные РПЖ (n=34) Patients with PC (n=34)				
Высокая High	0	1 (2,9 %)	0	13,326 (0,012)
Средняя Medium	27 (82,3 %)	14 (41,2 %)	13 (38,2 %)	
Низкая Low	7 (18,6 %)	19 (55,9 %)	21 (61,8 %)	
Отсутствие No methylation	0	0	0	
Пациенты с ДГПЖ (n=27) Patients with BPH (n=27)				
Высокая High	0	0	0	3,762 (0,315)
Средняя Medium	6 (21 %)	11 (41 %)	16 (59 %)	
Низкая Low	21 (79 %)	16 (59 %)	11 (41 %)	
Отсутствие No methylation	0	0	0	
	χ^2 (p) РПЖ/ДГПЖ – 4,259 (p=0,004) χ^2 (p) РС/ВРН – 4,259 (p=0,004)			

Степень метилирования <i>RASFF1A</i> <i>RASFF1A</i> methylation level	Вид биологического материала Type of biological material			χ^2 (p)
	Биоптат Biopsy	Моча Urine	Плазма Plasma	
Контрольная группа (n=20) Control group (n=20)				
Высокая High	-	0	0	5,154 (0,421)
Средняя Medium	-	0	0	
Низкая Low	-	14 (70 %)	15 (75 %)	
Отсутствие No methylation	-	6 (30 %)	5 (25 %)	

При сравнении статуса метилирования гена *RASFF1A* в биопсийном материале мужчин из групп с верифицированным РПЖ и ДГПЖ было обнаружено статистически значимое увеличение частоты встречаемости средней степени метилирования при РПЖ ($p=0,004$).

Проведенный анализ величин отношения шансов по показателям метилирования изу-

ченных генов в группах с патологиями ПЖ представлен в табл. 5.

Оценка отношения шансов выявления РПЖ показала, что наличие гиперметилированного *APC* в постмассажной моче, гена *GSTP1* в плазме крови и гена *RASFF1A* в биопсийном материале увеличивает вероятность обнаружения РПЖ в 2,5, 12,1 и 4,1 раза соответственно (табл. 5).

Таблица 5
Table 5

Расчет величин отношения шансов выявления РПЖ с 95 % доверительным интервалом по показателям метилирования генов *APC*, *GSTP1*, *RASFF1A* в группах с патологиями предстательной железы
Odd ratio of prostate cancer detection with a 95 % confidence interval according to *APC*, *GSTP1*, *RASFF1A* methylation in patients with prostate pathologies

	<i>APC</i> , моча <i>APC</i> , urine	<i>GSTP1</i> , плазма <i>GSTP1</i> , plasma	<i>RASFF1A</i> , биоптат <i>RASFF1A</i> , biopsy
Отношение шансов (OR) Odd ratio (OR)	2,529	12,115	4,137
Стандартная ошибка отношения шансов (S) Root-mean-square error of odd ratio	0,768	0,789	0,692
Нижняя граница 95 % ДИ (CI) Lower limit 95 % CI	0,561	2,580	1,468
Верхняя граница 95 % ДИ (CI) Upper limit 95 % CI	11,403	56,88	9,034

Примечание. ДИ – доверительный интервал.

Note. CI – confidence interval.

Таблица 6
Table 6Чувствительность и специфичность методики выявления РПЖ по показателям метилирования генов *APC*, *GSTP1*, *RASFF1A* и ПСАSensitivity and specificity of prostate cancer detection according to *APC*, *GSTP1*, *RASFF1A* methylation and PSA

Параметр Parameter	Чувствительность, % Sensitivity, %	Специфичность, % Specificity, %
ПСА, сыворотка PSA, serum	93,0	43,4
<i>APC</i> , моча <i>APC</i> , urine	14,7	93,6
<i>GSTP1</i> , плазма <i>GSTP1</i> , plasma	47,1	90,0
<i>RASFF1A</i> , биоптат <i>RASFF1A</i> , biopsy	55,3	87
<i>APC</i> в моче, <i>GSTP1</i> в плазме, <i>RASFF1A</i> в биоптате <i>APC</i> in urine, <i>GSTP1</i> in plasma, <i>RASFF1A</i> in biopsy	65,2	82,4
ПСА, <i>APC</i> в моче, <i>GSTP1</i> в плазме, <i>RASFF1A</i> в биоптате PSA, <i>APC</i> in urine, <i>GSTP1</i> in plasma, <i>RASFF1A</i> in biopsy	79,1	82,9

Была проведена оценка чувствительности и специфичности изученных ДНК-маркеров для того типа биологического материала, в котором были показаны статистически значимые различия между РПЖ и ДГПЖ, для каждого маркера отдельно и в комбинации (табл. 6). Анализ продемонстрировал низкую чувствительность и высокую специфичность неинвазивной диагностики РПЖ по уровню метилирования гена *APC* в образцах постмассажной мочи и гена *GSTP1* в плазме крови. При этом определение степени метилирования гена *RASFF1A* в биопсийном материале может использоваться для отличия злокачественных и доброкачественных дисплазий ПЖ с 55,3 % чувствительностью и 87 % специфичностью. При сочетанном использовании статуса метилирования изученных генов чувствительность составила 65,2 %, специфичность – 82,4 %, а при добавлении в панель значения ПСА – 79,1 и 82,9 % соответственно (табл. 6).

Обсуждение. Анализ статуса метилирования промоторов генов *APC*, *GSTP1* и *RASFF1A* показал, что наиболее часто во всех изученных типах биологического материала отмечается

средняя степень метилирования. По результатам проведенного исследования по статусу метилирования генов обнаружены статистически значимые групповые различия как между группами с патологиями ПЖ, так и в сравнении с контрольной группой практически здоровых людей. Причем для каждого из изученных генов-супрессоров был выявлен тот тип биологического материала, определение метилирования в котором повышает вероятность обнаружения РПЖ. Так, для гена *APC* таким биологическим материалом служит постмассажная моча, для гена *GSTP1* – плазма крови, для гена *RASFF1A* – биоптаты опухоли ПЖ. Эти результаты имеют практическую значимость, поскольку обширная внутриопухолевая клonalная гетерогенность локализованного и метастатического РПЖ создает проблему отбора образцов в процессе биопсии. Поэтому актуальным является поиск доступных неинвазивных источников материала для проведения молекулярно-генетических исследований при РПЖ. В исследовании Y. Nakai et al. (2014) было продемонстрировано содержание разрушающихся клеток и внеклеточной ДНК из разных участ-

ков ПЖ в образцах постмассажной мочи [12]. В настоящем исследовании были получены результаты, согласующиеся с данными, представленными в зарубежной и отечественной литературе. Наблюдаемая тенденция к низкой степени метилирования *APC* в образцах постмассажной мочи и *GSTP1* в плазме крови, а также высокая специфичность изучаемых показателей согласовались с рядом ранее опубликованных результатов [13–16].

В результате проведенного исследования показана наибольшая чувствительность и специфичность определения гена *RASSF1A* в образцах биоптатов, что подтверждает выводы А.В. Сивкова и соавт. [17]. При этом авторами была продемонстрирована целесообразность сочетанного использования молекулярно-генетических маркеров и ПСА в связи с гетерогенностью РПЖ. При использовании нами комбинации изученных генов с учетом типа биоматериала также обнаружена высокая чувствительность и специфичность, что свидетельствует о больших предикторных возможностях панели генов для выявления РПЖ в сравнении с определением статуса метилирования отдельных генов. Сочетанное использование степени метилирования генов и показателя

общего ПСА повысило обе диагностические характеристики панели относительно оценки статуса метилирования каждого гена отдельно, а также их комбинации. Такие же закономерности были обнаружены в исследовании А. Vakavicius et al. (2019), где было показано увеличение чувствительности и специфичности диагностики РПЖ в образцах постмассажной мочи при сочетанном использовании уровня метилирования генов *GSTP1*, *RARB*, *RASSF1* и показателя ПСА [18].

Заключение. Выявленные в проведенном исследовании закономерности позволяют рассматривать повышение уровней метилирования гена *APC* в образцах постмассажной мочи, *GSTP1* в плазме крови и *RASSF1A* в биопсийном материале в качестве высокоспецифичных диагностических маркеров для выявления рака ПЖ. Совместное применение данных показателей увеличивает специфичность в сравнении с определением уровня инициального ПСА, а при включении в панель последнего увеличивает также чувствительность панели для выявления РПЖ в сравнении с оценкой метилирования генов в отдельности, что позволит оптимизировать диагностику РПЖ и сократить число биопсий.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Jain M.A., Sapra A. Cancer Prostate Screening. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
2. Strand S.H., Orntoft T.F., Sorensen K.D. Prognostic DNA methylation markers for prostate cancer. Int. J. Mol. Sci. 2014; 15 (9): 16544–16576. DOI: 10.3390/ijms150916544.
3. Tkac J., Gajdosova V., Hroncekova S., Bertok T., Hires M., Jane E., Lorencova L., Kasak P. Prostate-specific antigen glycoprofiling as diagnostic and prognostic biomarker of prostate cancer. Interface Focus. 2019; 9 (2): 20180077. DOI: 10.1098/rsfs.2018.0077.
4. Hoogland A.M., Kweldam C.F., van Leenders G.J. Prognostic histopathological and molecular markers on prostate cancer needle-biopsies: a review. Biomed. Res. Int. 2014; 2014: 341324. DOI: 10.1155/2014/341324.
5. Miyake H., Muramaki M., Kurahashi T., Takenaka A., Fujisawa M. Expression of potential molecular markers in prostate cancer: correlation with clinicopathological outcomes in patients undergoing radical prostatectomy. Urol. Oncol. 2010; 28 (2): 145–151. DOI: 10.1016/j.urolonc.2008.08.001.
6. Fiano V., Zugna D., Grasso C., Trevisan M., Delsedime L., Molinaro L., Gillio-Tos A., Merletti F., Richiardi L. LINE-1 methylation status in prostate cancer and non-neoplastic tissue adjacent to tumor in association with mortality. Epigenetics. 2017; 12 (1): 11–18. DOI: 10.1080/15592294.2016.1261786.
7. Skorodumova L.O., Babalyan K.A., Sultanov R., Vasiliev A.O., Govorov A.V., Pushkar D.Y., Sharova E.I. The methylation status of *GSTP1*, *APC*, and *RASSF1* genes in human prostate cancer samples: Comparative analysis of diagnostic informativeness of MS-HRM and hybridization on the Illumina Infinium HumanMethylation450 BeadChip. Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry. 2017; 11 (2): 194–201.

8. Cui J., Li G., Yin J., Li L., Tan Y., Wei H., Liu B., Deng L., Tang J., Chen Y., Yi L. GSTP1 and cancer: Expression, methylation, polymorphisms and signaling (Review). *Int. J. Oncol.* 2020; 56 (4): 867–878. DOI: 10.3892/ijo.2020.4979.
9. Patel P.G., Wessel T., Kawashima A., Okello J.B.A., Jamaspishvili T., Guérard K.P., Lee L., Lee A.Y., How N.E., Dion D., Scarlata E., Jackson C.L., Boursalie S., Sack T., Dunn R., Moussa M. A three-gene DNA methylation biomarker accurately classifies early stage prostate cancer. *Prostate.* 2019; 79 (14): 1705–1714. DOI: 10.1002/pros.23895.
10. Kamińska K., Białkowska A., Kowalewski J., Huang S., Lewandowska M.A. Differential gene methylation patterns in cancerous and non-cancerous cells. *Oncol. Rep.* 2019; 42 (1): 43–54. DOI: 10.3892/or.2019.7159.
11. Григорьева М.В., Михайленко Д.С., Ефремов Г.Д., Сивков А.В. Диагностическая значимость PCA3 в моче, в зависимости от уровня сывороточного ПСА у обследуемых пациентов. *Вестник современных исследований.* 2017; 12-1: 25–26.
12. Nakai Y., Anai S., Kuwada M., Miyake M., Chihara Y., Tanaka N., Hirayama A., Yoshida K., Hirao Y., Fujimoto K. Photodynamic diagnosis of shed prostate cancer cells in voided urine treated with 5-aminolevulinic acid. *BMC Urol.* 2014; 14: 59. DOI: 10.1186/1471-2490-14-59.
13. Malpeli G., Innamorati G., Decimo I., Bencivenga M., Nwabo Kamdje A.H., Perris R., Bassi C. Methylation Dynamics of RASSF1A and Its Impact on Cancer. *Cancers (Basel).* 2019; 11 (7): 959. DOI: 10.3390/cancers11070959.
14. Li M., Wang C., Yu B., Zhang X., Shi F., Liu X. Diagnostic value of RASSF1A methylation for breast cancer: a meta-analysis. *Biosci Rep.* 2019; 39 (6): BSR20190923. DOI: 10.1042/BSR20190923.
15. Litovkin K., Van Eynde A., Joniau S., Lerut E., Laenen A., Gevaert T., Gevaert O., Spahn M., Kneitz B., Gramme P., Helleputte T., Isebaert S., Haustermans K., Bollen M. DNA Methylation-Guided Prediction of Clinical Failure in High-Risk Prostate Cancer. *PLoS One.* 2015; 10 (6): e0130651. DOI: 10.1371/journal.pone.0130651.
16. Li D., Xu Z., Liu J., Pu X., Luo Y., Zheng X. Restriction landmark genomic scanning for screening aberrant CpG methylations in prostate cancer. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2016; 36 (1): 103–108.
17. Сивков А.В., Кешишев Н.Г., Меринова О.В., Северин С.Е., Савватеева М.В., Кузнецова Е.М., Каприн А.Д., Сивков А.В. Маркеры GSTn1, RARβ2 и RASSF1A в диагностике рака предстательной железы: результаты исследования. *Экспериментальная и клиническая урология.* 2016; 4: 38–43.
18. Bakavicius A., Daniunaite K., Zukauskaite K., Barisiene M., Jarmalaite S., Jankevicius F. Urinary DNA methylation biomarkers for prediction of prostate cancer upgrading and upstaging. *Clinical Epigenetics.* 2019; 11 (1): 1–10. DOI: 10.1186/s13148-019-0716-z.

Поступила в редакцию 06.04.2022; принята 14.08.2022.

Авторский коллектив

Абян Игорь Артемович – доктор медицинских наук, профессор, главный врач, МБУЗ «Клинико-диагностический центр «Здоровье» г. Ростова-на-Дону». 344011, Россия, г. Ростов-на-Дону, пер. Доломановский, 70/3; e-mail: eka140184@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2798-368X>.

Федотова Екатерина Николаевна – биолог клинической лабораторной диагностики, МБУЗ «Клинико-диагностический центр «Здоровье» г. Ростова-на-Дону». 344011, Россия, г. Ростов-на-Дону, пер. Доломановский, 70/3; e-mail: eka140184@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0891-4806>.

Максимов Алексей Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора по перспективным научным разработкам, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63; e-mail: eka140184@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-1397-837X>.

Комарова Екатерина Федоровна – доктор биологических наук, профессор РАН, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63; e-mail: eka140184@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7553-6550>.

Образец цитирования

Абоян И.А., Федотова Е.Н., Максимов А.Ю., Комарова Е.Ф. Эффективность оценки степени метилирования генов APC, GSTP1 и RASSF1A как маркера рака предстательной железы. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 73–85. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-73-85.

EFFECTIVENESS OF EVALUATION OF APC, GSTP1 AND RASSF1A METHYLATION LEVEL AS A PROSTATE CANCER MARKER

I.A. Aboyan¹, E.N. Fedotova¹, A.Yu. Maksimov², E.F. Komarova²

¹Clinical and Diagnostic Center “Health (Zdorov'e)”, Rostov-on-Don, Russia;

²National Medical Research Center for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Prostate cancer (PC) is one of the most common oncological diseases, ranking fourth in the global mortality structure. Due to the absence of clinical manifestations in the early stages, and poor methods of differential laboratory diagnostics, the search for sensitive minimally invasive prostate cancer (PC) markers remains relevant.

The aim of the study was to analyze APC, GSTP1 and RASSF1A methylation levels in biological material in prostate pathologies and their effectiveness in PC detection.

Materials and Methods. For molecular genetic study of APC, GSTP1 and RASSF1A methylation levels by molecular-specific PCR test, the authors used genomic DNA isolated from samples of post-massage urine, blood plasma and biopsy material from patients with PC (n=34) and benign prostatic hyperplasia (BPH) (n=27). The control group consisted of 20 men without any identified pathology. Analysis of molecular-specific PCR products was carried out by 2 % agarose gel electrophoresis.

Results. The average APC, GSTP1, and RASSF1A methylation level was mainly noted in all types of biological material. There were statistically significant differences between groups with pancreatic pathologies, taking into account biological material. The evaluation of the odds ratio of PC detection showed that the hypermethylated APC in post-massage urine, GSTP1 in blood plasma, and RASSF1A in biopsy material increased the probability of PC detection by 2.5, 12.1, and 4.1 times, respectively. Low sensitivity (55.3 %) and high specificity (87 %) of PC diagnostics in terms of APC methylation in post-massage urine, GSTP1 in blood plasma, and RASSF1A in biopsy material were shown. With the combined use of the methylation gene status, the sensitivity was 65.2 %, and the specificity was 82.4 %. When the total prostate-specific antigen (PSA) value was added to the panel, the indices were 79.1 % and 82.9 %, respectively. Conclusion. APC methylation levels in post-massage urine, GSTP1 in blood plasma, and RASSF1A in biopsy can be considered as highly specific diagnostic PC markers. The combined use of these indicators increases the specificity of diagnosis in comparison with the initial PSA level. When included in the panel, the latter also increases the panel sensitivity for PC detection.

Key words: prostate cancer, APC, GSTP1, RASSF1A, methylation, post-massage urine.

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

References

1. Jain M.A., Sapra A. Cancer Prostate Screening. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
2. Strand S.H., Orntoft T.F., Sorensen K.D. Prognostic DNA methylation markers for prostate cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15 (9): 16544–16576. DOI: 10.3390/ijms150916544.
3. Tkac J., Gajdosova V., Hroncekova S., Bertok T., Hires M., Jane E., Lorencova L., Kasak P. Prostate-specific antigen glycoprofiling as diagnostic and prognostic biomarker of prostate cancer. *Interface Focus*. 2019; 9 (2): 20180077. DOI: 10.1098/rsfs.2018.0077.
4. Hoogland A.M., Kweldam C.F., van Leenders G.J. Prognostic histopathological and molecular markers on prostate cancer needle-biopsies: a review. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 341324. DOI: 10.1155/2014/341324.

5. Miyake H., Muramaki M., Kurahashi T., Takenaka A., Fujisawa M. Expression of potential molecular markers in prostate cancer: correlation with clinicopathological outcomes in patients undergoing radical prostatectomy. *Urol. Oncol.* 2010; 28 (2): 145–151. DOI: 10.1016/j.urolonc.2008.08.001.
6. Fiano V., Zugna D., Grasso C., Trevisan M., Delsedime L., Molinaro L., Gillio-Tos A., Merletti F., Richiardi L. LINE-1 methylation status in prostate cancer and non-neoplastic tissue adjacent to tumor in association with mortality. *Epigenetics.* 2017; 12 (1): 11–18. DOI: 10.1080/15592294.2016.1261786.
7. Skorodumova L.O., Babalyan K.A., Sultanov R., Vasiliev A.O., Govorov A.V., Pushkar D.Y., Sharova E.I. The methylation status of GSTP1, APC, and RASSF1 genes in human prostate cancer samples: Comparative analysis of diagnostic informativeness of MS-HRM and hybridization on the Illumina Infinium HumanMethylation450 BeadChip. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry.* 2017; 11 (2): 194–201.
8. Cui J., Li G., Yin J., Li L., Tan Y., Wei H., Liu B., Deng L., Tang J., Chen Y., Yi L. GSTP1 and cancer: Expression, methylation, polymorphisms and signaling (Review). *Int. J. Oncol.* 2020; 56 (4): 867–878. DOI: 10.3892/ijo.2020.4979.
9. Patel P.G., Wessel T., Kawashima A., Okello J.B.A., Jamaspishvili T., Guérard K.P., Lee L., Lee A.Y., How N.E., Dion D., Scarlata E., Jackson C.L., Boursalie S., Sack T., Dunn R., Moussa M. A three-gene DNA methylation biomarker accurately classifies early stage prostate cancer. *Prostate.* 2019; 79 (14): 1705–1714. DOI: 10.1002/pros.23895.
10. Kamińska K., Białkowska A., Kowalewski J., Huang S., Lewandowska M.A. Differential gene methylation patterns in cancerous and non-cancerous cells. *Oncol. Rep.* 2019; 42 (1): 43–54. DOI: 10.3892/or.2019.7159.
11. Grigor'eva M.V., Mikhaylenko D.S., Efremov G.D., Sivkov A.V. Diagnosticheskaya znachimost' PCA3 v moche, v zavisimosti ot urovnya syvorotochnogo PSA u obsleduemykh patsientov [Diagnostic significance of PCA3 in urine, depending on PSA serum level in patients]. *Vestnik sovremennykh issledovaniy.* 2017; 12-1: 25–26 (in Russian).
12. Nakai Y., Anai S., Kuwada M., Miyake M., Chihara Y., Tanaka N., Hirayama A., Yoshida K., Hirao Y., Fujimoto K. Photodynamic diagnosis of shed prostate cancer cells in voided urine treated with 5-aminolevulinic acid. *BMC Urol.* 2014; 14: 59. DOI: 10.1186/1471-2490-14-59.
13. Malpeli G., Innamorati G., Decimo I., Bencivenga M., Nwabo Kamdje A.H., Perris R., Bassi C. Methylation Dynamics of RASSF1A and Its Impact on Cancer. *Cancers (Basel).* 2019; 11 (7): 959. DOI: 10.3390/cancers11070959.
14. Li M., Wang C., Yu B., Zhang X., Shi F., Liu X. Diagnostic value of RASSF1A methylation for breast cancer: a meta-analysis. *Biosci Rep.* 2019; 39 (6): BSR20190923. DOI: 10.1042/BSR20190923.
15. Litovkin K., Van Eynde A., Joniau S., Lerut E., Laenen A., Gevaert T., Gevaert O., Spahn M., Kneitz B., Gramme P., Helleputte T., Isebaert S., Haustermans K., Bollen M. DNA Methylation-Guided Prediction of Clinical Failure in High-Risk Prostate Cancer. *PLoS One.* 2015; 10 (6): e0130651. DOI: 10.1371/journal.pone.0130651.
16. Li D., Xu Z., Liu J., Pu X., Luo Y., Zheng X. Restriction landmark genomic scanning for screening aberrant CpG methylations in prostate cancer. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2016; 36 (1): 103–108.
17. Sivkov A.V., Keshishev N.G., Merinova O.V., Severin S.E., Savvateeva M.V., Kuznetsova E.M., Kaprin A.D., Sivkov A.V. Markery GSTn1, RARβ2 i RASSF1A v diagnostike raka predstatel'noy zhelezy: rezul'taty issledovaniya [Markers for prostate cancer diagnostics: GSTn1, RARβ2 and RASSF1A. Results of the study]. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya urologiya.* 2016; 4: 38–43 (in Russian).
18. Bakavicius A., Daniunaite K., Zukauskaite K., Barisiene M., Jarmalaite S., Jankevicius F. Urinary DNA methylation biomarkers for prediction of prostate cancer upgrading and upstaging. *Clinical Epigenetics.* 2019; 11 (1): 1–10. DOI: 10.1186/s13148-019-0716-z.

Received 6 April 2022; accepted 14 August 2022.

Information about the authors

Aboyan Igor' Artemovich, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Chief Physician, Clinical and Diagnostic Center “Health (Zdorov’e)”, Rostov-on-Don. 344011, Russia, Rostov-on-Don, Dolomanovskiy LN, 70/3; e-mail: eka140184@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2798-368X>.

Fedotova Ekaterina Nikolaevna, Biologist of Clinical Laboratory Diagnostics, Clinical and Diagnostic Center “Health (Zdorov’e)”, Rostov-on-Don. 344011, Russia, Rostov-on-Don, Dolomanovskiy LN, 70/3; e-mail: eka140184@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0891-4806>.

Maksimov Aleksey Yur'evich, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Deputy General Director for Advanced Scientific Developments, National Medical Research Center for Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14-ya liniya St., 63; e-mail: eka140184@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-1397-837X>.

Komarova Ekaterina Fedorovna, Doctor of Sciences (Biology), Professor of the Russian Academy of Sciences, Leading Researcher, National Medical Research Center for Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14-ya liniya St., 63; e-mail: eka140184@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7553-6550>.

For citation

Aboyan I.A., Fedotova E.N., Maksimov A.Yu., Komarova E.F. Effektivnost' otsenki stepeni metilirovaniya genov *APC*, *GSTP1* i *RASSF1A* kak markera raka predstatel'noy zhelezy [Effectiveness of evaluation of APC, GSTP1 and RASSF1A methylation level as a prostate cancer marker]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskiy zhurnal*. 2022; 3: 73–85. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-73-85 (in Russian).

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.014

DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-86-96

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ЦИРКУЛЯТОРНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ПОДРОСТКОВ ПРИ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

А.Б. Иванов, И.Х. Борукаева, З.Х. Абазова, А.А. Молов,
Т.Б. Кипкеева, А.Г. Шокуева, К.Ю. Шхагумов

ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова»,
г. Нальчик, Россия

Степень мозгового кровенаполнения и биоэлектрическая активность головного мозга напрямую определяют его физиологическую активность. Данных о закономерности и неразрывности этих процессов недостаточно.

Цель исследования – провести сравнительный анализ биоэлектрической активности и циркуляторного обеспечения головного мозга у подростков при острой гипоксии.

Материалы и методы. Исследовано 100 чел. мужского пола двух возрастных групп: 1-я группа – подростки в возрасте от 12 до 14 лет, 2-я группа – подростки в возрасте от 15 до 17 лет.

Результаты. Выявлено наличие положительной взаимосвязи между кровоснабжением, метаболизмом и функцией головного мозга. У подростков раннего пубертатного периода значительное влияние на характер ЭЭГ и РЭГ при гипоксии оказывают эндокринные изменения, связанные с половым созреванием. Увеличение географического индекса сопровождается повышением индекса альфа- и уменьшением индекса дельта-ритмов. У подростков пубертатного периода увеличение значения географического индекса приводит к снижению индекса альфа-ритма и увеличению медленноволновых дельта-колебаний в лобных и затылочных отведениях. Под действием кратковременной гипоксии происходит увеличение кровенаполнения головного мозга. В условиях вдыхания обедненного кислородом воздуха (14 %), несмотря на увеличение МОД и МОК, у подростков пубертатного возраста развивается тканевая гипоксия, особенно выраженная в раннем периоде полового созревания, о чем свидетельствует снижение потребления кислорода у подростков 12–14 лет. Кровоток в мозге при гипоксии увеличивается.

Ключевые слова: острая гипоксия, адаптация к гипоксии, кровоснабжение, биоэлектрическая активность, функциональная система дыхания, реоэнцефалография, электроэнцефалография.

Введение. Несмотря на то что возрастные аспекты трофики и снабжения организма кислородом в целом уже известны, зависимость биоэлектрической активности нейронов определенных долей коры больших полушарий от их кровоснабжения и питания кислородом у подростков изучена недостаточно. В настоящий момент исследований об изменениях кровоснабжения, питания O_2 и биоэлектрической активности клеток головного мозга подростков в условиях гипоксии крайне мало [1–7].

Как известно, функциональная система дыхания (ФСД) ответственна за скорость поэтапной доставки кислорода, адекватной потребностям организма, и поддержание pO_2 в тканях на уровнях выше критических. Центральная и автономная эндокринные системы выполняют роль центров управления всеми функциями органов дыхания, кровообращения, кроветворения, которые обеспечивают поступление кислорода в ткани и его утилизацию с образованием CO_2 и АТФ во всем орга-

низме, в т.ч. и в клетках головного мозга [8]. Исследование изменений состояния ФСД при гипоксии у детей пубертатного периода дает новое представление о снабжении головного мозга кислородом как в условиях нормоксии, так и в условиях дыхания воздухом, обедненным кислородом.

Вопросы взаимозависимости функционального состояния различных долей коры мозга и подкорковых образований от кровоснабжения и питания кислородом имеют большое значение не только для характеристики уровня развития головного мозга и его функционального состояния у здоровых подростков, но и для оценки клинических симптомов различных заболеваний, в патогенезе которых гипоксия играет немаловажную роль. Перечисленное выше определяет актуальность исследований особенностей суммарной биоэлектрической активности различных областей коры больших полушарий и ее взаимосвязь с кровенаполнением и снабжением кислородом у подростков раннего пубертатного и пубертатного периодов [9–15].

Цель исследования. Провести сравнительный анализ биоэлектрической активности и циркуляторного обеспечения головного мозга у подростков при острой гипоксии.

Материалы и методы. Обследовано 100 лиц мужского пола двух возрастных групп: 1-я группа – 70 подростков в возрасте от 12 до 14 лет (ранний пубертатный период), 2-я группа – 30 подростков в возрасте от 15 до 17 лет (пубертатный период).

Регистрация РЭГ и ЭЭГ осуществлялась на комплексной отечественной установке «Телепат-103» с компьютерной обработкой результатов.

У испытуемых определялись показатели функциональной системы дыхания: минутный объем дыхания (МОД), дыхательный объем (ДО), частота дыхания (ЧД) с помощью волюметра (Финляндия), частота сердечных сокращений (ЧСС), систолический объем (СО), минутный объем кровообращения (МОК) по Пугиной и Старру, потребление кислорода (ПО₂) по Дугласу – Холдену. Гипоксические условия создавались аппаратом «Гипоксикатор» (Trade Medical) и установкой «Био-Нова-204» («Горный воздух»).

Работа велась в два этапа. Первый этап включал обследование подростков всех возрастных групп при нормальном атмосферном давлении и содержании кислорода во вдыхаемом воздухе 20,9 % (нормоксические условия). На втором этапе испытуемые обследовались в нормобарических условиях, но при пониженном содержании кислорода во вдыхаемом воздухе. Острая гипоксия создавалась в ходе гипоксического теста посредством вдыхания воздуха с пониженным содержанием кислорода в ингалируемой газовой смеси (14 %).

Статистическая обработка результатов проводилась согласно правилам математической статистики с использованием программ Microsoft Excel и Statistic 6.0 для Windows. Данные обрабатывались вариационно-статистическими методами. Уровень значимости оценивался по t-критерию Стьюдента, использовалась формула расчета ошибки средней

$$m_M = \frac{\sigma}{\sqrt{n}},$$

где m – ошибка средней, M – средняя арифметическая, σ – стандартное отклонение, n – выборка [1]. Критерий достоверности различий вычислялся по формуле

$$t_D = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}.$$

Значения критерия достоверности различий (t_D) определялись при трех уровнях вероятности (p) и разных числах степеней свободы (v). Число степеней свободы находилось по формуле $v=n-1$.

Результаты и обсуждение. В ходе исследования было установлено, что у подростков раннего пубертатного периода еще присутствуют некоторые свойства распределения ритмов ЭЭГ, присущие детскому возрасту: в 12-летнем возрасте – низкий индекс альфа-ритма в лобных долях и почти в 3 раза более высокий индекс дельта-ритма по сравнению с индексом альфа-ритма в лобных долях, в 2 раза более высокий индекс дельта-ритма в затылочных долях мозга; у подростков 13–14 лет – преобладание суммарной медленной активности (тета+дельта) над быстрой активностью (альфа+бета).

Средние значения показателей биоэлектрической активности различных отделов

коры головного мозга подростков 12–14 лет в покое в нормоксических условиях представлены в табл. 1. Доминирование альфа-ритма на ЭЭГ в этом возрасте еще не происходит,

индекс наиболее медленной активности (дельта-ритма) оказывается наиболее высоким по сравнению с индексами других ритмов (табл. 1).

Таблица 1
Table 1

Индекс ритмов электроэнцефалограммы у подростков 12–14 лет в норме
Normal EEG indices in adolescents aged 12–14

Отведение ЭЭГ EEG lead	Индекс ритмов, % Rhythm index, %			
	альфа alpha	бета beta	тета theta	дельта delta
F3	13,32±0,63	6,32±0,56	18,40±1,29	61,95±1,03
F4	13,14±1,18	5,92±0,56	18,16±1,17	63,35±1,97
O1	27,27±1,37	9,34±1,27	10,64±0,94	52,76±2,58
O2	29,80±2,15	9,10±1,39	9,74±1,00	51,37±3,12

В результате исследования биоэлектрической активности головного мозга у подростков 15–17 лет в нормоксических условиях было установлено, что электроэнцефалограмма подростков пубертатного периода начинает приобретать характеристики, близкие ЭЭГ взрослого человека (табл. 2). Это проявляется в нараста-

нии числа колебаний альфа-ритма по сравнению с предыдущей возрастной группой. На ЭЭГ видно, что в затылочно-теменных областях особенно выделяются колебания в диапазоне альфа-ритма. Отличие от ЭЭГ взрослого человека состоит в некотором преобладании в лобных отделах мозга дельта- и тета-колебаний.

Таблица 2
Table 2

Индекс ритмов электроэнцефалограммы у подростков 15–17 лет в норме
Normal EEG indices in adolescents aged 15–17

Отведение ЭЭГ EEG lead	Индекс ритмов, % Rhythm index, %			
	альфа alpha	бета beta	тета theta	дельта delta
F3	22,21±1,63	4,33±0,26	20,73±1,28	52,60±2,02
F4	22,69±1,32	4,94±0,37	18,39±1,59	53,98±2,41
O1	63,15±2,81	3,63±0,14	9,22±0,92	24,00±2,44
O2	49,22±3,21	4,92±0,48	12,12±1,03	33,75±3,04

В этом возрасте значения индекса альфа-ритма в разных долях коры колеблются в пределах 20–63 %. Наблюдается его рост в лобно-затылочном направлении, отмечается увеличение индекса альфа-ритма в затылочных долях коры.

Динамика биоэлектрической активности различных долей коры мозга у подростков 12–14 лет в результате действия сниженного содержания кислорода во вдыхаемом воздухе (14 % O₂) представлена в табл. 3.

Таблица 3
Table 3Индекс ритмов электроэнцефалограммы у подростков 12–14 лет при гипоксии
EEG indices in adolescents with hypoxia aged 12–14

Отведение ЭЭГ EEG lead	Индекс ритмов, % Rhythm index, %			
	альфа alpha	бета beta	тета theta	дельта delta
F3	16,92±1,12*	6,20±0,65	28,97±2,32*	47,91±2,52*
F4	21,99±1,22*	7,53±1,36	31,48±2,95*	39,00±2,29*
O1	28,62±1,70	14,27±2,80*	20,53±1,84*	36,59±3,51*
O2	36,40±3,49*	13,35±2,25*	18,12±1,87*	32,13±0,88*

Примечание. * – различия достоверны по сравнению с нормоксией ($p \leq 0,05$).

Note. * – the differences are significant compared with normoxia ($p \leq 0.05$).

Установлено, что на изменения ритмов ЭЭГ подростков данной возрастной группы гипоксия оказывает дифференцированное влияние, в частности способствует увеличению альфа-, бета- и тета-активности и снижению индекса дельта-ритма. Индекс альфа-ритма возрастает в пределах исследуемых областей коры мозга на 27–56 %.

Таким образом, у подростков 12–14 лет при гипоксии происходит уменьшение медленноволновых колебаний в дельта-диапазоне и увеличение колебаний в остальных ритмах ЭЭГ (альфа-, бета- и тета-).

Результаты исследований индекса ритмов ЭЭГ у подростков 15–17 лет при гипоксии представлены в табл. 4.

Таблица 4
Table 4Индекс ритмов электроэнцефалограммы у подростков 15–17 лет при гипоксии
EEG indices in adolescents with hypoxia aged 15–17

Отведение ЭЭГ EEG lead	Индекс ритмов, % Rhythm index, %			
	альфа alpha	бета beta	тета theta	дельта delta
F3	22,24±2,16	4,04±0,33	19,64±1,20	52,66±2,49
F4	18,55±2,10*	3,87±0,41*	18,36±1,67	58,99±2,57
O1	44,35±3,73*	5,79±0,64*	12,07±1,10*	37,79±3,16*
O2	34,30±3,00*	6,42±0,50*	15,50±0,69*	42,92±3,02*

Примечание. * – различия достоверны по сравнению с нормоксией ($p \leq 0,05$).

Note. * – the differences are significant compared with normoxia ($p \leq 0.05$).

При вдыхании воздуха с 14 % кислорода на ЭЭГ подростков данного возраста происходит рост индекса дельта-ритма во всех исследуемых областях коры мозга, причем наиболее значительный – в затылочных долях мозга.

В отличие от подростков 12–14 лет, у которых биоэлектрическая активность при гипоксии характеризуется уменьшением колебаний дельта-волн, у подростков пубертатного периода происходит увеличение дельта-ак-

тивности, а в большинстве случаев и тетаритма. Это указывает на своеобразную реакцию коры головного мозга, связанную с функциональными гормональными перестройками, присущими организму в раннем пубертатном и пубертатном периодах.

У лиц обеих возрастных категорий реографический индекс (РИ) в лобных отведениях оказался выше, чем в затылочных долях коры головного мозга (табл. 5).

Таблица 5
Table 5

Значения реографического индекса в затылочных и лобных отведениях у подростков при нормоксии

Rheographic indices in frontal and occipital leads in adolescents with normoxia

Возраст, лет Age, years old	Отведения РЭГ REG lead			
	FMd	FMs	Omd	Oms
12–14	0,146±0,015	0,141±0,009	0,098±0,018	0,129±0,013
15–17	0,145±0,009	0,130±0,014	0,105±0,011	0,086±0,010

Несмотря на то что РИ имеет склонность к снижению, сопряженную с возрастом, подобные изменения в исследуемых возрастных периодах практически не прослеживаются.

Известно, что РИ является косвенным по-

казателем кровенаполнения того или иного участка головного мозга, поэтому данные об изменении РИ в условиях гипоксии могут быть полезными для оценки кровенаполнения различных участков мозга (табл. 6).

Таблица 6
Table 6

Показатели реографического индекса в лобных и затылочных отведениях у подростков разного возраста при гипоксии

Rheographic indices in frontal and occipital leads in adolescents of different age with hypoxia

Возраст, лет Age, years old	Отведения РЭГ REG lead			
	FMd	FMs	Omd	Oms
12–14	0,174±0,012	0,163±0,006*	0,122±0,026	0,189±0,011*
15–17	0,178±0,005*	0,150±0,015	0,156±0,004*	0,106±0,012

Примечание. * – различия достоверны по сравнению с нормоксией ($p \leq 0,05$).

Note. * – the differences are significant compared with normoxia ($p \leq 0.05$).

У подростков 15–17 лет при действии острой гипоксии усиливается кровенаполнение головного мозга. При сопоставлении полученных результатов с показателями трофики организма в целом можно судить о ФСД у лиц разных возрастных групп. Безусловно, кровенаполнение головного мозга зависит от гемодинамических факторов, влияющих на перераспределение крови в кровеносном русле, от минутного объема кровообращения и степени оксигенации артериальной крови.

Основная задача ФСД – обеспечение адекватности поэтапного процесса массопереноса респираторных газов метаболическим потребностям организма, т.е. обеспечение такой скорости доставки кислорода, которая удовлетворяла бы кислородный запрос всех органов, в т.ч. и головного мозга [8, 16–22]. При гипоксии у подростков раннего пубертатного возраста статистически значимо ($p < 0,05$) увеличился минутный объем дыхания (на 19 %) за счет возрастания его частоты. При этом достоверного увеличения дыхательного объема не произошло. Отмечалось снижение доли альвеолярной вентиляции в МОД до $61,4 \pm 0,8$ % и падение скорости потребления кислорода до $168,0 \pm 2,0$ мл/мин, что свидетельствовало о развитии тканевой гипоксии. У подростков пубертатного периода эти изменения носили более выраженный характер.

Аналогичные изменения у подростков раннего пубертатного и пубертатного периодов выявлялись со стороны системной гемодинамики при действии острой гипоксии: увеличился МОК, ЧСС без достоверного возрастания ударного объема сердца, что характеризовало пониженную экономичность и эффективность кровообращения.

Заключение. Всестороннее исследование биоэлектрической активности мозга и его циркуляторного обеспечения в условиях гипоксии показало, что показатели РЭГ лобных областей у подростков раннего пубертатного и пубертатного периодов более высокие, чем в затылочных отведениях. При сопоставлении фронтальных и затылочных отведений ЭЭГ в тех же возрастных группах зафиксирована аналогичная закономерность по показателям дельта-ритма.

Анализ реоэнцефалограмм при гипоксии у подростков в двух возрастных группах пока-

зал, что РИ, являющийся показателем кровенаполнения, достоверно увеличивается в обеих возрастных категориях.

В период ранней половозрелости значительное влияние на направленность ЭЭГ и РЭГ при гипоксии оказывают эндокринные изменения, связанные с половым созреванием. В 12–14 лет повышается активность гипоталамо-гипофизарной системы, что оказывает существенное влияние на формирование полового статуса подростков. Как следствие, происходит увеличение мозгового кровотока, сопряженное с повышением индекса альфа-ритма и уменьшением дельта-активности. Надо полагать, это связано с высоким фоновым всплеском в нормоксических условиях дельта-колебаний, которые при гипоксии снижаются за счет уменьшения влияния лимбической системы. Усиление циркуляторного обеспечения мозга на фоне усиления биоэлектрической активности, очевидно, связано с перераспределением крови, в результате которого происходит стабилизация тканевого дыхания мозга за счет включения как системных, так и местных механизмов и приспособительных реакций на тканевом уровне.

У подростков пубертатного периода, чей нейрофизиологический статус приближается к статусу взрослого человека, увеличение мозгового кровообращения приводит к снижению альфа-ритма и увеличению медленноволновых дельта-колебаний в лобных и затылочных отведениях. Это является доказательством гетерогенной чувствительности параметров ЭЭГ к изменениям функционального состояния ЦНС и окислительно-восстановительного метаболизма нервной ткани у подростков к началу и концу полового созревания.

Полагаем, что результаты проведенных исследований внесут вклад в диагностику нарушений функционального состояния головного мозга у подростков с различной аномалией. На сегодняшний день метод ЭЭГ имеет большое значение при скрининге пациентов с различными типами неврологических расстройств, включая ишемию головного мозга, энцефалопатию и прочие заболевания. Выявление действия острой гипоксии на организм здоровых и больных необходимо для подбора оптимального содержания кислорода во дыха-

емой смеси при проведении интервальной гипокситерапии, которая находит эффективное применение в лечении таких болезней, как неспецифический хронический обструктивный

бронхит, близорукость, в реабилитации пациентов после перенесенной пневмонии, вызванной COVID-19, и профилактике ее развития у лиц, относящихся к группе риска.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Грачев В.И., Маринкин И.О., Севрюков И.Т. Влияние гипоксии на центральную нервную систему, органы и ткани с учетом возрастных особенностей. *Norwegian Journal of Development of the International Science*. 2018; 6-2 (19): 3–20.
2. Бурых Э.А. Доминирующая активность сигма-диапазона ЭЭГ у человека при острой экспериментальной нормобарической гипоксии. *Вестник образования и развития науки Российской академии естественных наук*. 2021; 3: 60–68.
3. Бурых Э.А. Взаимосвязь изменений локальных и пространственно-временных спектральных характеристик ЭЭГ при гипоксии у человека. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2005; 91 (11): 1260–1280.
4. Бурых Э.А. Изменения внешнего дыхания, мозгового кровотока и ЭЭГ при острой гипоксии у испытуемых с разной гипоксической резистентностью. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2011; 97 (5): 459–471.
5. Сечин Д.И., Тамбовцева Р.В. ЭЭГ активность у спортсменов при выполнении моторных задач после пребывания в условиях воздействия нормобарической гипоксии. В кн.: *Новые подходы к изучению проблем физиологии экстремальных состояний*. Москва; 2021: 145.
6. Бурых Э.А., Сергеева Е.Г. Электрическая активность мозга и кислородное обеспечение когнитивно-мнестической деятельности человека при разных уровнях гипоксии. *Физиология человека*. 2008; 34 (6): 51–62.
7. Шемякина Н.В., Нагорнова Ж.В. Изменения когнитивных вызванных потенциалов и спонтанной биоэлектрической активности в условиях нормобарической гипоксии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2018; 104 (11): 1368–1380.
8. Колчинская А.З., Цыганова Т.Н., Остапенко Л.А. Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка в медицине и спорте. Москва: Медицина; 2003. 250.
9. Бурых Э.А. Особенности динамики спектра ЭЭГ человека при постоянном уровне острого гипоксического воздействия. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2018; 104 (9): 1049–1064.
10. Бурых Э.А. Индивидуальные особенности потребления кислорода организмом человека при гипоксии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2007; 93 (11): 1292–1307.
11. Джунусова Г.С. Центральные регуляторные механизмы адаптации человека в горных условиях. *Медицина Кыргызстана*. 2014; 5: 36–39.
12. Рожков В.П., Трифонов М.И., Сороко С.И. Контроль функционального состояния мозга на основе оценки динамики интегральных параметров многоканальной ЭЭГ у человека в условиях гипоксии. *Физиология человека*. 2021; 47 (1): 5–19.
13. Ерошенко А.Ю., Кочубейник Н.В., Шатов Д.В., Грошillin С.М., Скляр В.Н., Степанов В.А., Линченко С.Н. Гипоксическая тренировка как способ протекции головного мозга человека от повреждающего действия дефицита кислорода. *Медицинский вестник Юга России*. 2018; 9 (4): 33–41.
14. Рожков В.П., Сороко С.И., Трифонов М.И., Бекшаев С.С., Бурых Э.А., Сергеева Е.Г. Кортикостероидные взаимодействия и регуляция функционального состояния мозга при острой гипоксии у человека. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2008; 94 (5): 481–501.
15. Гусейнов А.Г. Механизмы влияния гипоксии на суммарную активность коры головного мозга. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2017; 103 (11): 1209–1224.
16. Бурых Э.А., Сороко С.И. Различия в стратегиях и возможностях адаптации человека к гипоксическому воздействию. *Физиология человека*. 2007; 33 (3): 63–74.
17. Рожков В.П., Трифонов М.И., Бурых Э.А., Сороко С.И. Оценка индивидуальной устойчивости человека к острой гипоксии по интегральным характеристикам структурной функции многоканальной ЭЭГ. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2019; 105 (7): 832–852.

18. Балыкин М.В., Зайнеева Р.Ш., Каманина Т.В., Балыкин Ю.М., Жарков А.В. Кровоснабжение и реакции сосудов головного мозга у лиц зрелого возраста при нормобарической гипоксии и гипоксии. Медицина Кыргызстана. 2014; 2-1: 14–19.
19. Barrick T.R., Mackay C.E., Prima S., Maes F., Vandermeulen D., Crow T.J., Roberts N. Anatomical analysis of cerebral asymmetry: an exploratory study of the relationship between brain torque and planum temporale asymmetry. *Neroimage*. 2005; 24 (3): 678–687.
20. Boldyreva G., Zhavoronkova L., Sharova E., Dobronravova I. Electroencephalographic intercentral interaction as a reflection of normal and pathological human brain activity. *Spanish J. of Psychology*. 2007; 10 (1): 167–177.
21. Strelets V.B., Garakh Zh.V., Novototskii-Vlasov V.Y., Magamedov R.A. EEG power and rhythm synchronization in health and cognitive pathology. *Neuro-sci. Behav. Physiol.* 2006; 36: 655–662.
22. Борукаева И.Х., Абазова З.Х., Иванов А.Б., Шхагумов К.Ю. Интервальная гипокситерапия и энтеральная оксигенотерапия в реабилитации пациентов с хронической обструктивной болезнью легких. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2019; 2: 27–32.

Поступила в редакцию 09.06.2022; принята 12.07.2022.

Авторский коллектив

Иванов Анатолий Беталович – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной и патологической физиологии человека, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова». 360004, Россия, г. Нальчик, ул. Чернышевского, 173; e-mail: abivanov@gambler.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1995-167X>.

Борукаева Ирина Хасанбиевна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова». 360004, Россия, г. Нальчик, ул. Чернышевского, 173; e-mail: irborukaeva@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1180-228X>.

Абазова Залина Хасановна – кандидат медицинских наук, доцент, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова». 360004, Россия, г. Нальчик, ул. Чернышевского, 173; e-mail: zalina.abazova@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2827-5068>.

Молов Анзор Аскербиевич – кандидат биологических наук, доцент кафедры нормальной и патологической физиологии человека, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова». 360004, Россия, г. Нальчик, ул. Чернышевского, 173; e-mail: anzor-m@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9920-5289>.

Кипкеева Татьяна Борисовна – ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии человека, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова». 360004, Россия, г. Нальчик, ул. Чернышевского, 173; e-mail: tborisovna10@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0285-0995>.

Шокуева Асият Гисаевна – ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии человека, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова». 360004, Россия, г. Нальчик, ул. Чернышевского, 173; e-mail: schokueva@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3540-119X>.

Шхагумов Казбек Юрьевич – кандидат медицинских наук, доцент, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова». 360004, Россия, г. Нальчик, ул. Чернышевского, 173; e-mail: kazbek07_07@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3671-481X>.

Образец цитирования

Иванов А.Б., Борукаева И.Х., Абазова З.Х., Молов А.А., Кипкеева Т.Б., Шокуева А.Г., Шхагумов К.Ю. Сравнительный анализ биоэлектрической активности и циркуляторного обеспечения головного мозга у подростков при острой гипоксии. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 86–96. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-86-96.

COMPARATIVE ANALYSIS OF BRAIN BIOELECTRICAL ACTIVITY AND CIRCULATORY SUPPLY IN ADOLESCENTS WITH ACUTE HYPOXIA

A.B. Ivanov, I.Kh. Borukaeva, Z.Kh. Abazova, A.A. Molov,
T.B. Kipkeeva, A.G. Shokueva, K.Yu. Shkhagumov

Kabardino-Balkarian State University named after H.M. Berbekov, Nalchik, Russia

Brain bioelectrical activity and the degree of cerebral blood supply directly determine physiological brain activity. There is insufficient evidence on the regularity and continuity of these processes.

The aim of the study is to conduct a comparative analysis of brain bioelectrical activity and circulatory supply in adolescents with acute hypoxia.

Materials and Methods. The authors examined 100 adolescent males of two age groups: Group 1 consisted of boys aged 12–14 years old, Group 2 included those aged 15–17.

Results. The authors revealed a positive correlation between blood supply, metabolism and brain function. In early pubertal adolescents, puberty-associated endocrine changes have a significant effect on EEG and REG indices in adolescents with hypoxia. An increase in the rheographic index is accompanied by an increase in the alpha- and a decrease in the delta-rhythm indices. In pubertal adolescents, an increase in the rheographic index causes a decrease in alpha rhythm and an increase in slow-wave delta oscillations in the frontal and occipital leads. Under short-term hypoxia, an increase in the brain filling with blood is observed. Under oxygen depletion (14%), despite the increase in pulmonary and blood minute volumes, tissue hypoxia develops in pubertal adolescents. It is especially evident in the early puberty, as there is even a decrease in oxygen consumption in adolescents aged 12–14. In adolescents with hypoxia cerebral blood flow increases.

Key words: acute hypoxia, adaptation to hypoxia, blood supply, bioelectrical activity, functional respiratory system, rheoencephalography, electroencephalography.

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

References

1. Grachev V.I., Marinkin I.O., Sevryukov I.T. Vliyanie gipoksii na tsentral'nyuyu nervnyuyu sistemu, organy i tkani s uchetom vozrastnykh osobennostey [The influence of hypoxia on the central nervous system, organs and tissues in accordance to age-related characteristics]. *Norwegian Journal of Development of the International Science*. 2018; 6-2 (19): 3–20 (in Russian).
2. Burykh E.A. Dominiruyushchaya aktivnost' sigma-diapazona EEG u cheloveka pri ostroy eksperimental'noy normobaricheskoy gipoksii [Dominant activity of EEG sigma-band during acute observed normobaric hypoxia in humans]. *Vestnik obrazovaniya i razvitiya nauki Rossiyskoy akademii estestvennykh nauk*. 2021; 3: 60–68 (in Russian).
3. Burykh E.A. Vzaimosvyaz' izmeneniy lokal'nykh i prostranstvenno-vremennykh spektral'nykh kharakteristik EEG pri gipoksii u cheloveka [Correlation between changes in EEG local and spatio-temporal spectral characteristics in patients with hypoxia]. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2005; 91 (11): 1260–1280 (in Russian).
4. Burykh E.A. Izmeneniya vneshnego dykhaniya, mozgovogo krovotoka i EEG pri ostroy gipoksii u ispytuemykh s raznoy gipoksicheskoy rezistentnost'yu [Changes in external respiration, cerebral blood flow and EEG during acute hypoxia in patients with different hypoxic resistance]. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2011; 97 (5): 459–471 (in Russian).
5. Sechin D.I., Tambovtseva R.V. EEG aktivnost' u sportsmenov pri vypolnenii motornykh zadach posle prebyvaniya v usloviyakh vozdeystviya normobaricheskoy gipoksii [EEG activity in athletes during motor tasks after exposure to normobaric hypoxia]. V kn.: *Novye podkhody k izucheniyu problem fiziologii ekstremal'nykh sostoyaniy* [New approaches to the problems of extreme state physiology]. Moscow; 2021: 145 (in Russian).
6. Burykh E.A., Sergeeva E.G. Elektricheskaya aktivnost' mozga i kislorodnoe obespechenie kognitivno-mnesticheskoy deyatel'nosti cheloveka pri raznykh urovnyakh gipoksii [Electrical brain activity and oxygen supply of cognitive-mnestic human activity at different levels of hypoxia]. *Fiziologiya cheloveka*. 2008; 34 (6): 51–62 (in Russian).

7. Shemyakina N.V., Nagornova Zh.V. Izmeneniya kognitivnykh vyzvannykh potentsialov i spontanoy bioelektricheskoy aktivnosti v usloviyakh normobaricheskoy gipoksii [Changes in cognitive evoked potentials and spontaneous bioelectrical activity under normobaric hypoxia]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2018; 104 (11): 1368–1380 (in Russian).
8. Kolchinskaya A.Z., Tsyganova T.N., Ostapenko L.A. *Normobaricheskaya interval'naya gipoksicheskaya trenirovka v meditsine i sporte* [Normobaric interval hypoxic training in medicine and sports]. Moscow: Meditsina; 2003. 250 (in Russian).
9. Burykh E.A. Osobennosti dinamiki spektra EEG cheloveka pri postoyannom urovne ostrogo gipoksicheskogo vozdeystviya [Characteristics of human EEG spectrum dynamics under constant acute hypoxic exposure]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2018; 104 (9): 1049–1064 (in Russian).
10. Burykh E.A. Individual'nye osobennosti potrebleniya kisloroda organizmom cheloveka pri gipoksii [Individual differences in oxygen consumption by a human body under hypoxia]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2007; 93 (11): 1292–1307 (in Russian).
11. Dzhunusova G.S. Tsentral'nye regulatorynye mekhanizmy adaptatsii cheloveka v gornyykh usloviyakh [Central regulatory mechanisms of human adaptation in high mountain conditions]. *Meditsina Kyrgyzstana*. 2014; 5: 36–39 (in Russian).
12. Rozhkov V.P., Trifonov M.I., Soroko S.I. Kontrol' funktsional'nogo sostoyaniya mozga na osnove otsenki dinamiki integral'nykh parametrov mnogokanal'noy EEG u cheloveka v usloviyakh gipoksii [Control of the functional state of the brain based on the dynamics of integral parameters of multichannel EEG in humans under acute hypoxia]. *Fiziologiya cheloveka*. 2021; 47 (1): 5–19 (in Russian).
13. Eroshenko A.Yu., Kochubeynik N.V., Shatov D.V., Groshilin S.M., Sklyarov V.N., Stepanov V.A., Linchenko S.N. Gipoksicheskaya trenirovka kak sposob protektsii golovnoy mozga cheloveka ot povrezhdayushchego deystviya defitsita kisloroda [Hypoxic training as a way of the human brain protection from the damaging effects of oxygen deficiency]. *Meditsinskiy vestnik Yuga Rossii*. 2018; 9 (4): 33–41 (in Russian).
14. Rozhkov V.P., Soroko S.I., Trifonov M.I., Bekshaev S.S., Burykh E.A., Sergeeva E.G. Korkovo-podkorkovye vzaimodeystviya i regulyatsiya funktsional'nogo sostoyaniya mozga pri ostroy gipoksii u cheloveka [Cortical-subcortical correlation and regulation of cerebral functional state under acute hypoxia in humans]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2008; 94 (5): 481–501 (in Russian).
15. Guseynov A.G. Mekhanizmy vliyaniya gipoksii na summarnuyu aktivnost' kory golovnoy mozga [Mechanisms of impact of hypoxia on general activity of brain cortex]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2017; 103 (11): 1209–1224 (in Russian).
16. Burykh E.A., Soroko S.I. Razlichiya v strategiyakh i vozmozhnostyakh adaptatsii cheloveka k gipoksicheskomu vozdeystviyu [Differences in strategies and possibilities of human adaptation to hypoxic exposure]. *Fiziologiya cheloveka*. 2007; 33 (3): 63–74 (in Russian).
17. Rozhkov V.P., Trifonov M.I., Burykh E.A., Soroko S.I. Otsenka individual'noy ustoychivosti cheloveka k ostroy gipoksii po integral'nym kharakteristikam strukturnoy funktsii mnogokanal'noy EEG [Estimation of individual human tolerance to acute hypoxia according to the integral characteristics of the structural function of the multichannel EEG]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2019; 105 (7): 832–852 (in Russian).
18. Balykin M.V., Zayneeva R.Sh., Kamanina T.V., Balykin Yu.M., Zharkov A.V. Krovosnabzhenie i reaktzii sosudov golovnoy mozga u lits zrelogo vozrasta pri normobaricheskoy gipoksii i gipokapnii [Blood supply and cerebral vessels in adults under normobaric hypoxia and hypocapnia]. *Meditsina Kyrgyzstana*. 2014; 2-1: 14–19 (in Russian).
19. Barrick T.R., Mackay C.E., Prima S., Maes F., Vandermeulen D., Crow T.J., Roberts N. Anatomical analysis of cerebral asymmetry: an exploratory study of the relationship between brain torque and planum temporale asymmetry. *Neroimage*. 2005; 24 (3): 678–687.
20. Boldyreva G., Zhavoronkova L., Sharova E., Dobronravova I. Electroencephalographic intercentral interaction as a reflection of normal and pathological human brain activity. *Spanish J. of Psychology*. 2007; 10 (1): 167–177.
21. Strelets V.B., Garakh Zh.V., Novototskii-Vlasov V.Y., Magamedov R.A. EEG power and rhythm synchronization in health and cognitive pathology. *Neuro-sci. Behav. Physiol.* 2006; 36: 655–662.

22. Borukaeva I.Kh., Abazova Z.Kh., Ivanov A.B., Shkhagumov K.Yu. Interval'naya gipoksiterapiya i enteral'naya oksigenoterapiya v rehabilitatsii patsientov s khronicheskoy obstruktivnoy bolezn'yu legkikh [The role of interval hypoxia therapy and enteral oxygen therapy in the rehabilitation of patients with chronic obstructive pulmonary disease]. *Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoy fizicheskoy kul'tury*. 2019; 2: 27–32 (in Russian).

Received 9 June 2022; accepted 12 July 2022.

Information about the authors

Ivanov Anatoliy Betalovich, Doctor of Sciences (Biology), Professor, Head of the Chair of Normal and Pathological Human Physiology, Kabardino-Balkarian State University named after H.M. Berbekov. 360004, Russia, Nalchik, Chernyshevsky St., 173; e-mail: abivanov@rambler.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1995-167X>.

Borukaeva Irina Khasanbievna, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Kabardino-Balkarian State University named after H.M. Berbekov. 360004, Russia, Nalchik, Chernyshevsky St., 173; e-mail: irborukaeva@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1180-228X>.

Abazova Zalina Khasanovna, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Kabardino-Balkarian State University named after H.M. Berbekov. 360004, Russia, Nalchik, Chernyshevsky St., 173; e-mail: zalina.abazova@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2827-5068>.

Molov Anzor Askerbievich, Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Chair of Normal and Pathological Human Physiology, Kabardino-Balkarian State University named after H.M. Berbekov. 360004, Russia, Nalchik, Chernyshevsky St., 173; e-mail: anzor-m@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9920-5289>.

Kipkeeva Tat'yana Borisovna, Teaching Assistant, Chair of Normal and Pathological Human Physiology, Kabardino-Balkarian State University named after H.M. Berbekov. 360004, Russia, Nalchik, Chernyshevsky St., 173; e-mail: tborisovna10@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0285-0995>.

Shokueva Asiyat Gisaevna, Teaching Assistant, Chair of Normal and Pathological Human Physiology, Kabardino-Balkarian State University named after H.M. Berbekov. 360004, Russia, Nalchik, Chernyshevsky St., 173; e-mail: schokueva@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3540-119X>.

Shkhagumov Kazbek Yur'evich, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Kabardino-Balkarian State University named after H.M. Berbekov. 360004, Russia, Nalchik, Chernyshevsky St., 173; e-mail: kazbek07_07@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3671-481X>.

For citation

Ivanov A.B., Borukaeva I.Kh., Abazova Z.Kh., Molov A.A., Kipkeeva T.B., Shokueva A.G., Shkhagumov K.Yu. Sravnitel'nyy analiz bioelektricheskoy aktivnosti i tsirkulyatornogo obespecheniya golovno mozga u podrostkov pri ostroy gipoksii [Comparative analysis of brain bioelectrical activity and circulatory supply in adolescents with acute hypoxia]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskij zhurnal*. 2022; 3: 86–96. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-86-96 (in Russian).

УДК 616.831.31-005.4-092.913:618.33
DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-97-105

ХАРАКТЕРИСТИКА НАРУШЕНИЙ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА У КРЫС С ИШЕМИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович, И.К. Дремза, М.А. Носович, К.А. Храповицкая

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

Избыток активных форм кислорода может приводить к повреждению мембран, накоплению продуктов окисления липидов, белков и нуклеиновых кислот, дефициту восстановленных пиридин-нуклеотидов и фосфолипидов митохондриальных мембран, а затем – к электролитному дисбалансу, набуханию митохондрий, разобщению процессов окисления и фосфорилирования и гибели нейронов при ишемии. В связи с этим изучение окислительного стресса и активности антиоксидантной системы имеет большое значение.

Цель. Изучить изменения прооксидантно-антиоксидантного баланса у крыс с ишемическим повреждением головного мозга различной степени тяжести с субтотальной и тотальной ишемией головного мозга.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 30 самцах беспородных белых крыс массой 260±20 г с соблюдением требований Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей.

Результаты. В условиях 1-суточной СИГМ отмечено более значительное, чем при 1-часовой СИГМ, уменьшение содержания общих SH-групп белков и глутатиона – на 58 (51; 64) % ($p<0,05$), концентрации GSH – на 29 (19; 35) % ($p<0,05$). Изменения активности глутатионпероксидазы были разнонаправленными: при 1-часовой СИГМ она повышалась на 12 (9; 18) % ($p<0,05$) по отношению к уровню контроля, а при 1-суточной – снижалась на 74 (67; 81) % ($p<0,05$). По сравнению с показателями 1-часовой ТИГМ при 1-часовой СИГМ содержание общих SH-групп белков и глутатиона было больше на 60 (54; 65) % ($p<0,05$), концентрация GSH выше на 42 (39; 56) % ($p<0,05$). Повысилось содержание ТБКРС на 59 (51; 63) % ($p<0,05$). По сравнению с 1-суточной ТИГМ при 1-суточной СИГМ содержание общих SH-групп белков и глутатиона было больше на 36 (29; 45) % ($p<0,05$), концентрация GSH выше на 63 (59; 75) % ($p<0,05$). Возросло содержание ТБКРС на 83 (78; 91) % ($p<0,05$). Активность глутатионпероксидазы при ТИГМ была равна нулю.

Выводы. Наиболее выраженные нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса наблюдались при тотальной ишемии головного мозга продолжительностью 1 сут. Схожие, однако менее выраженные нарушения выявлены при суточной субтотальной ишемии.

Ключевые слова: ишемия головного мозга, прооксидантно-антиоксидантный баланс, окислительный стресс.

Введение. Острые нарушения мозгового кровообращения – одна из наиболее актуальных проблем современной медицины. Частота инсультов колеблется в различных регионах мира от 1 до 4 случаев на 1000 населения в год, значительно увеличиваясь с возрастом. Цереброваскулярные заболевания ишемического генеза имеют тенденцию к росту, омоложению, сопряжены с тяжелым клиническим течением, высокими показателями инвалидности и смертности. Проблема нарушения мозгового кровообращения требует концентрации усилий специалистов разных профилей [2].

При ишемии головного мозга (ИГМ) в его структурах развивается цепь патогенетических нарушений, среди которых одним из ведущих является энергодефицит, что приводит к развитию клеточной патологии из-за нарушений гомеостаза, активности ферментов, целостности мембран. В условиях ИГМ избирательно нарушаются механизмы синаптической передачи, что способствует нарушению ауторегуляции местного кровотока, развитию вазоспазма, усилению агрегации тромбоцитов и развитию внутрисосудистого стаза, углубляя гипоксию и усиливая энергодефицит.

Нарушается работа ферментов, в т.ч. натрий-калиевой АТФазы, что приводит к дисбалансу ионов и отеку головного мозга [1–3].

Образование активных форм кислорода (АФК) имеет большое значение в жизнедеятельности клеток всего организма, в т.ч. головного мозга. В небольших количествах кислородные радикалы играют роль мессенджера, отвечая за нейрональную активность, регулируют мозговой кровоток, апоптоз и другие процессы функционирования головного мозга [4].

Однако избыток активных форм кислорода может приводить к повреждению мембран, накоплению продуктов окисления липидов, белков и нуклеиновых кислот (альдегидов, кетонов), дефициту восстановленных пиридиннуклеотидов и фосфолипидов митохондриальных мембран, а затем – к электролитному дисбалансу, набуханию митохондрий, разобщению процессов окисления и фосфорилирования и гибели нейронов при ишемии. Повреждение АФК незащищенной гистонами митохондриальной ДНК приводит к ингибированию синтеза белков – переносчиков электронов [5, 6].

Цель исследования. Изучение изменения прооксидантно-антиоксидантного баланса у крыс с ишемическим повреждением головного мозга различной степени тяжести с субтотальной и тотальной ИГМ.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 30 самцах беспородных белых крыс массой 260 ± 20 г с соблюдением требований Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, использующихся для научных целей.

Моделирование ИГМ осуществляли в условиях внутривенного тиопенталового наркоза ($40\text{--}50$ мг/кг) [7].

Тотальную ишемию головного мозга (ТИГМ) моделировали путем декапитации животных, субтотальную ишемию головного мозга (СИГМ) – путем одномоментной перевязки обеих общих сонных артерий (ОСА). Забор головного мозга осуществляли спустя 1 и 24 ч после декапитации. В предыдущих морфологических исследованиях головного мозга крыс при церебральной ИГМ были установ-

лены наиболее значимые различия именно в эти временные сроки [2].

Контрольную группу составили ложно оперированные крысы, аналогичные по полу и весу.

Для определения прооксидантно-антиоксидантного состояния головного мозга в его гомогенатах (20 % разведение в PBS (pH 7,2)) определяли активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) по содержанию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), концентрации восстановленного глутатиона (GSH), общих тиоловых групп (SH) и активности глутатионпероксидазы (ГП).

ТБКРС возникают в организме при деградации полиненасыщенных жиров активными формами кислорода, служат маркерами активности ПОЛ и окислительного стресса.

Для определения содержания ТБКРС к исследуемому образцу 10 % гомогената головного мозга (0,3 мл) последовательно добавляли 2,4 мл 0,07 N раствора серной кислоты и 0,3 мл 10 % раствора фосфорновольфрамовой кислоты. К дважды отмытому, растворенному в 3,0 мл бидистиллированной воды осадку добавляли 1 мл 0,85 % водного раствора тиобарбитуровой кислоты (ТБК), растворенной в 25 мл уксусной кислоты с добавлением 5 мл H_2O . Цветная реакция протекала в герметично закрытых пробирках при температуре $96^\circ C$ в течение 60 мин. После их охлаждения в воде в течение 5 мин определяли оптическую плотность отцентрифугированного супернатанта на спектрофотометре PV 1251C («Солар», Беларусь) при длинах волн 532 и 580 нм.

Концентрацию ТБКРС рассчитывали по формуле $TBKPC = (E_{532} - E_{580}) / 0,156 \times K$, где E – экстинкция при соответствующих длинах волн, K – коэффициент разведения образца головного мозга (147,7).

Расчет концентрации ТБКРС осуществляли с использованием коэффициента поглощения для образующегося продукта $\epsilon_{532} = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ и выражали в наномоль на грамм белка (грамм ткани).

При измерении концентрации GSH к 1 мл 15 % гомогената головного мозга добавляли 0,2 мл 25 % трихлоруксусной кислоты, встряхивали и центрифугировали при 5000 об/мин

в течение 5 мин. К полученному супернатанту (0,2 мл) добавляли 1,2 мл 0,5 М фосфатного буфера (pH 7,8) и 50 мкл реактива Элмана. Концентрацию GSH рассчитывали с учетом коэффициента молярной экстинкции ($\epsilon_{412}=13600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) путем определения оптической плотности исследуемых образцов при $\lambda=412 \text{ nm}$ на спектрофотометре PV 1251C.

Определение концентрации TSH осуществляли следующим образом. Добавляли 30 мкл 3 % раствора натриевой соли додецилсульфата к 60 мкл гомогената головного мозга, отбирали 25 мкл полученной смеси и соединяли с 1,2 мл 0,5 М фосфатного буфера (pH 7,8) и 50 мкл реактива Элмана, через 10 мин инкубации при комнатной температуре определяли оптическую плотность на спектрофотометре PV 1251C при $\lambda=412 \text{ nm}$ с учетом коэффициента молярной экстинкции. Коэффициент молярной экстинкции при определении содержания TSH составляет $13600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Для измерения активности глутатионпероксидазы к 0,8 мл буфера Трис-НСI (pH 7,25), содержащего 0,012 М азида натрия, 0,001 М этилендиаминтетрауксусной кислоты и 4,8 мМ GSH, добавляли 0,1 мл гомогената головного мозга и 20 мМ трет-бутилгидропероксида, инкубировали 10 мин при температуре 37°C .

Реакцию останавливали путем добавления 0,02 мл раствора 25 % трихлоруксусной кислоты; для получения нулевой точки аналогичную процедуру проводили сразу после введения трет-бутилгидропероксида. Пробы центрифугировали (5000 об/мин, 5 мин), к 1 мл фосфатного буфера (pH 7,8) добавляли 30 мкл полученного супернатанта и 30 мкл реактива Элмана, измеряли оптическую плотность при $\lambda=412 \text{ nm}$ и $\lambda=700 \text{ nm}$.

В результате исследований получены количественные непрерывные данные. Так как в эксперименте использованы малые выборки, которые имели ненормальное распределение, анализ проводили методами непараметрической статистики с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). Данные представлены в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – значение нижнего квартиля; UQ – значение верхнего квартиля. Различия между группами считали достоверными при $p<0,05$ (тест Крускаллы – Уоллиса с поправкой Бонферони) [8–10].

Базовый прооксидантно-антиоксидантный статус коры головного мозга характеризовался параметрами, установленными в контрольной группе (табл. 1).

Таблица 1
Table 1

Показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса головного мозга крыс с тотальной церебральной ишемией, Me (LQ; UQ)

Indicators of pro-oxidant-antioxidant balance in the brain of rats with total cerebral ischemia, Me (LQ; UQ)

Группа Group	SH, ммоль/л SH, mmol/L	GSH, ммоль/л GSH, mmol/L	ГП, ммоль/мин×л GP, mmol/min×L	ТБКРС, ммоль/л PRTBA, mmol/L
Контроль Control	5,5 (5,4; 5,6)	4,6 (4,4; 4,8)	70 (70; 72)	19,9 (13,8; 22,7)
ТИГМ 1 ч 1-hour TCI	1,0 (1,0; 1,1)*	1,1 (1,0; 1,2)*	0 (0; 0)*	12,3 (11,7; 14,1)
ТИГМ 1 сут 24-hour TCI	0,7 (0,6; 0,7)* +	0,5 (0,2; 0,7)* +	0 (0; 0)*	5,9 (2,1; 10,9)*

Примечание. * – различия достоверны ($p<0,05$) по сравнению с группой контроля, + – различия достоверны ($p<0,05$) по сравнению с 1-часовой ТИГМ.

Note. * – the differences are significant compared with the control group ($p<0.05$), + – the differences are significant compared with 1-hour TCI ($p<0,05$); GSH – reduced glutathione, GP – glutathione peroxidase, PRTBA – products that react with thiobarbituric acid, TCI – total cerebral ischemia.

По сравнению с уровнем группы контроля в группе 1-часовой ТИГМ отмечали статистически значимое уменьшение показателей неферментативных механизмов защиты: содержания общих SH-групп белков и глутатиона – на 82 (79; 87) % ($p < 0,05$), концентрации GSH – на 75 (71; 81) % ($p < 0,05$), а также нулевую активность глутатионпероксидазы, что указывает на несостоятельность антиоксидантных механизмов. Содержание ТБКРС не изменялось ($p > 0,05$), так как для его наработки необходим определенный уровень оксигенации.

При 1-суточной ТИГМ, по сравнению с группой контроля, произошло уменьшение содержания общих SH-групп белков и глутатиона на 88 (81; 91) % ($p < 0,05$), концентрации GSH на 87 (79; 92) % ($p < 0,05$). Активность глутатионпероксидазы была нулевой, как и в группе 1-часовой ТИГМ, что, возможно, связано с повреждением и инактивацией фермента активными формами кислорода. Содержание ТБКРС уменьшилось на 70 (65; 75) % ($p > 0,05$).

В условиях 1-суточной ТИГМ отмечено более значительное, чем при 1-часовой ТИГМ, уменьшение содержания общих SH-групп белков и глутатиона – на 34 (29; 38) % ($p < 0,05$), концентрации GSH – на 55 (48; 61) % ($p < 0,05$) и ТБКРС – на 53 (47; 59) % ($p < 0,05$).

Таким образом, по мере удлинения ишемического периода у крыс с ТИГМ происходит

усугубление нарушений показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса – уменьшение содержания общих SH-групп белков и глутатиона, концентрации GSH и активности ГП. Снижение содержания ТБКРС связано с отсутствием притока кислорода при тотальной ишемии головного мозга [11, 12].

Низкий уровень неферментативных и ферментативных механизмов защиты указывает на общее снижение функциональной активности нейронов и невозможность запуска компенсаторных механизмов при ТИГМ [13–15].

При изучении показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса головного мозга в группе 1-часовой СИГМ по сравнению с группой контроля отмечали уменьшение показателей неферментативных механизмов защиты: содержания общих SH-групп белков и глутатиона – на 56 (49; 61) % ($p < 0,05$), концентрации GSH – на 57 (51; 63) % ($p < 0,05$), повышение активности ГП – на 12 (9; 18) % ($p < 0,05$), увеличение содержания ТБКРС – на 32 (27; 38) % ($p < 0,05$), что отражало высокую напряженность ферментативных механизмов и являлось маркером окислительного стресса (табл. 2). Выбранные параметры позволяют оценить степень напряженности антиоксидантных систем головного мозга, а также активность окислительного стресса.

Таблица 2
Table 2

Показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса головного мозга крыс с субтотальной церебральной ишемией, Me (LQ; UQ)

Indicators of pro-oxidant-antioxidant balance in the brain of rats with subtotal cerebral ischemia, Me (LQ; UQ)

Группа Group	SH, ммоль/л SH, mmol/L	GSH, ммоль/л GSH, mmol/L	ГП, ммоль/мин×л GP, mmol/min×L	ТБКРС, ммоль/л PRTBA, mmol/L
Контроль Control	5,5 (5,4; 5,6)	4,6 (4,4; 4,8)	70 (70; 72)	19,9 (13,8; 22,7)
СИГМ 1 ч 1-hour SCI	2,4 (2,3; 2,4)*	1,94 (1,7; 2,0)*	80 (80; 82)*	29,4 (28,7; 30,5)*
СИГМ 1 сут 24-hour SCI	1,0 (0,9; 1,1)* +	1,4 (1,3; 1,5)* +	18 (12; 18)* +	35,1 (34,3; 35,8)* +

Примечание. * – различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля, + – различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению с 1-часовой СИГМ.

Note. * – the differences are significant compared with the control group ($p < 0,05$), + – the differences are significant compared with 1-hour SCI ($p < 0,05$); GSH – reduced glutathione, GP – glutathione peroxidase, PRTBA – products that react with thiobarbituric acid, SCI – subtotal cerebral ischemia.

При 1-суточной СИГМ по сравнению с группой контроля произошло уменьшение содержания общих SH-групп белков и глутатиона на 82 (77; 90) % ($p < 0,05$), концентрации GSH на 70 (68; 79) % ($p < 0,05$). Активность глутатионпероксидазы была ниже на 74 (67; 81) % ($p < 0,05$), а содержание ТБКРС – выше на 43 (37; 51) % ($p < 0,05$). Данные изменения свидетельствуют о выраженных оксидативных процессах, причем механизмы антиоксидантной защиты (снижение содержания SH, GSH, активности ГП) выражены слабо.

В условиях 1-суточной СИГМ отмечено более значительное, чем при 1-часовой СИГМ, уменьшение содержания общих SH-групп белков и глутатиона – на 58 (51; 64) % ($p < 0,05$), концентрации GSH – на 29 (19; 35) % ($p < 0,05$). Повысилось содержание ТБКРС на 17 (11; 23) % ($p < 0,05$), что указывает на большую активность окислительного стресса при 1-суточной СИГМ.

Изменения активности ГП были разнонаправленными: при 1-часовой СИГМ она повышалась на 12 (9; 18) % ($p < 0,05$) по отношению к уровню контроля, а при 1-суточной – снижалась на 74 (67; 81) % ($p < 0,05$).

По сравнению с показателями 1-часовой ТИГМ при 1-часовой СИГМ содержание общих SH-групп белков и глутатиона было больше на 60 (54; 65) % ($p < 0,05$), концентрация GSH выше на 42 (39; 56) % ($p < 0,05$). Повысилось содержание ТБКРС на 59 (51; 63) % ($p < 0,05$). По сравнению с показателями 1-суточной ТИГМ при 1-суточной СИГМ содержание общих SH-групп белков и глутатиона было больше на 36 (29; 45) % ($p < 0,05$), концентрация GSH выше на 63 (59; 75) % ($p < 0,05$). Возросло содержание ТБКРС на 83 (78; 91) % ($p < 0,05$). Активность ГП при ТИГМ была равна нулю.

Данные изменения свидетельствуют о меньшей выраженности окислительного стресса при СИГМ, чем при ТИГМ.

Таким образом, у крыс с СИГМ при продолжительности ишемического периода 1 сут отмечались более выраженные нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса (уменьшение содержания общих SH-групп белков и глутатиона, концентрации GSH и увеличение содержания ТБКРС), чем при 1-часовой СИГМ. Изменения активности глутатионпероксидазы были разнонаправленными: при 1-часовой СИГМ ее активность повышалась, а при 1-суточной – снижалась, что отражает усугубление дефицита антиоксидантных механизмов при данном способе моделирования церебральной ишемии.

Заключение. Полученные результаты соответствуют данным литературы, согласно которым окислительный стресс развивается вследствие дисбаланса между прооксидантами и антиоксидантами и избыточной продукции активных форм кислорода, которые вовлечены в патогенез ишемического повреждения головного мозга [16–18]. Из-за накопления недоокисленных продуктов углеводного, липидного и белкового обменов происходит избыточное образование ионов H^+ , возникает метаболический ацидоз. Ацидоз и дефицит макроэргов угнетают метаболические процессы и нарушают ионный транспорт, что приводит к пассивному оттоку ионов K^+ из клеток и притоку в нейроны ионов Na^+ , Ca^{++} и водорода. Вследствие накопления свободных ионов Ca^{++} запускается глутамат-кальциевый каскад, развивается отек клетки (глутаматная эксайтоксичность) с изменением физико-химических свойств мембран нейронов и сосудистого эндотелия [8, 9, 11, 19–22].

Таким образом, было установлено, что наиболее выраженные нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса наблюдаются при тотальной ишемии головного мозга продолжительностью 1 сут. Схожие, однако менее выраженные нарушения отмечаются при суточной субтотальной ишемии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Chen H., Sun D. The role of Na-K-Cl co-transporter in cerebral ischemia. *Neurol. Res.* 2005; 27 (3): 280–286.

2. *Максимович Н.Е., Бонь Е.И., Зиматкин С.М.* Головной мозг крысы и его реакция на ишемию: монография. Гродно: ГрГМУ; 2020.
3. *Clemens J.A.* Cerebral ischemia: gene activation, neuronal injury, and the protective role of antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 28: 1526–1531.
4. *Réus G.Z.* Relationship of Oxidative Stress as a Link between Diabetes Mellitus and Major Depressive Disorder. *Oxid Med Cell Longev.* URL: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/8637970/> (дата обращения: 20.01.2022). DOI: 10.1155/2019/8637970.
5. *Su H.* Oxidative Stress and Renal Fibrosis: Mechanisms and Therapies. *Adv Exp Med Biol.* 2019; 1165: 585–604.
6. *Taysi S.* Oxidative/Nitrosative Stress and Preeclampsia. *Mini Rev Med Chem.* 2019; 19 (3): 178–193.
7. *Бонь Е.И., Максимович Н.Е.* Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга. *Биомедицина.* 2018; 2.
8. *Romano A.D.* Oxidative stress and aging. *J. Nephrol.* 2010; 15: 29–33.
9. *Saldmann F.* The Naked Mole Rat: A Unique Example of Positive Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019: 5258–5265.
10. *Реброва О.Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. Москва: Медиа Сфера; 2003.
11. *Guo M.F., Yu J.Z., Ma C.G.* Mechanisms related to neuron injury and death in cerebral hypoxic ischaemia. *Folia Neuropathol.* 2011; 49 (2): 78–87.
12. *Hauck A.K.* Adipose oxidative stress and protein carbonylation. *J. Biol Chem.* 2019; 294 (4): 1083–1088.
13. *Kaliannan K., Li X.Y., Wang B.* Multiomic analysis in transgenic mice implicates omega-6/omega-3 fatty acid imbalance as a risk factor for chronic disease. *Commun Biology.* 2019; 2 (1): 276–280.
14. *Khunt D., Shrivastava M., Polaka S.* Role of Omega-3 Fatty Acids and Butter Oil in Targeting Delivery of Donepezil Hydrochloride Microemulsion to Brain via the Intranasal Route: a Comparative Study. *Pharmacology Scientific Technology.* 2020; 21 (2): 45–50.
15. *Gao Q.* Oxidative Stress and Autophagy. *Adv Exp Med Biol.* 2019; 1206: 179–198.
16. *Bissinger R.* Oxidative stress, eryptosis and anemia: a pivotal mechanistic nexus in systemic diseases. *FEBS J.* 2019; 286 (5): 826–854.
17. *Stevens J.L., Feelisch M., Martin D.S.* Perioperative Oxidative Stress: The Unseen Enemy. *Anesth Analg.* 2019; 129 (6): 1749–1760.
18. *Бутин А.А.* Закономерности изменений сосудисто-капиллярной сети коры большого мозга в ответ на острую церебральную ишемию. *Омский научный вестник.* 2004; 26: 46–57.
19. *Барковский Е.В.* Современные проблемы биохимии: методы исследований. Минск: Вышэйшая школа; 2013.
20. *Sofia Orellana-Urzuu, Ignacio Rojas, Lucas Libano, Ramon Rodrigo.* Pathophysiology of Ischemic Stroke: Role of Oxidative Stress. *Curr Pharm Des.* 2020; 26 (34): 4246–4260.
21. *Allen C.L., Bayraktutan U.* Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke. *Int J Stroke.* 2009; 4 (6): 461–470.
22. *Ramon Rodrigo, Rodrigo Fernandez-Gajardo, Rodrigo Gutiérrez, Jose Manuel Matamala, Rodrigo Carrasco, Andres Miranda-Merchak, Walter Feuerhake.* Oxidative stress and pathophysiology of ischemic stroke: novel therapeutic opportunities. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2013; 12 (5): 698–714.

Поступила в редакцию 11.04.2022; принята 14.08.2022.

Авторский коллектив

Бонь Елизавета Игоревна – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры патологической физиологии им. Д.А. Маслакова, УО «Гродненский государственный медицинский университет». 230009, Республика Беларусь, г. Гродно, ул. Горького, 80; e-mail: asphodela@list.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7189-0838>.

Максимович Наталия Евгеньевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии им. Д.А. Маслакова, УО «Гродненский государственный медицинский университет». 230009, Республика Беларусь, г. Гродно, ул. Горького, 80; e-mail: mne@grsmu.by, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3181-9513>.

Дремза Иосиф Карлович – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры патологической физиологии им. Д.А. Маслакова, УО «Гродненский государственный медицинский университет». 230009, Республика Беларусь, г. Гродно, ул. Горького, 80; e-mail: idremza@rambler.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2971-0167>.

Носович Мирослав Алексеевич – студент, УО «Гродненский государственный медицинский университет». 230009, Республика Беларусь, г. Гродно, ул. Горького, 80; e-mail: miroslavnosovich@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0090-7254>.

Храповицкая Ксения Александровна – студентка, УО «Гродненский государственный медицинский университет». 230009, Республика Беларусь, г. Гродно, ул. Горького, 80; e-mail: ksenia1999pq@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7580-7915>.

Образец цитирования

Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Дремза И.К., Носович М.А., Храповицкая К.А. Характеристика нарушений прооксидантно-антиоксидантного баланса у крыс с ишемией головного мозга. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 97–105. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-97-105.

DISTURBANCE OF PRO-OXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN RATS WITH CEREBRAL ISCHEMIA

E.I. Bon', N.Ye. Maksimovich, I.K. Dremza, M.A. Nosovich, K.A. Khrapovitskaya

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

Excess of reactive oxygen can lead to membrane damage, accumulation of lipid, protein, and nucleic acid oxidation products, deficiency of reduced pyridine nucleotides and phospholipids of mitochondrial membranes, and then to electrolyte imbalance, mitochondrial swelling, uncoupling of oxidation and phosphorylation processes, and ischemic neuronal death. Thus, the study of oxidative stress and antioxidant system activity is relevant.

The aim of the study is to examine the changes in the pro-oxidant-antioxidant balance in rats with ischemic brain damage of different degrees of severity (subtotal and total cerebral ischemia).

Materials and Methods. The experiments were performed on 30 male outbred white rats weighing 260±20 g in compliance with the requirements of the Directive of the European Parliament and the Council of the European Union No. 2010/63/EU of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

Results. A more significant decrease in the content of total SH-groups of proteins and glutathione (by 58 (51; 64) % ($p<0.05$)), and GSH concentration (by 29 (19; 35) % ($p<0.05$)) was observed under 24-hour subtotal brain ischemia (SBI) compared with 1-hour SBI. Changes in the glutathione peroxidase activity were multidirectional: in 1-hour SBI, the activity increased by 12 (9; 18) % ($p<0.05$) compared to the control level, and in 24-hour SBI, it decreased by 74 (67; 81) % ($p<0.05$). In 1-hour SBI, the content of total SH-groups of proteins and glutathione was higher by 60 (54; 65) % ($p<0.05$), and GSH concentration was higher by 42 (39; 56) % ($p<0.05$) compared with 1-hour total brain ischemia (TBI). The content of products that react with thiobarbituric acid increased by 59 (51; 63) % ($p<0.05$). In 24-hour SBI, the content of total SH-groups of proteins and glutathione was higher by 36 (29; 45) % ($p<0.05$), and GSH concentration was higher by 63 (59; 75) % ($p<0.05$) compared with 24-hour TBI. The content of products that react with thiobarbituric acid increased by 83 (78; 91) % ($p<0.05$). The glutathione peroxidase activity in TBI was equal to zero.

Conclusions. Thus, the most pronounced disturbances in the pro-oxidant-antioxidant balance were observed in 24-hour TBI. Similar, but less pronounced disturbances were observed in 24-hour SBI.

Key words: cerebral ischemia, pro-oxidant-antioxidant balance, oxidative stress.

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

References

1. Chen H., Sun D. The role of Na-K-Cl co-transporter in cerebral ischemia. *Neurol. Res.* 2005; 27 (3): 280–286.

2. Maksimovich N.Ye., Bon' E.I., Zimatkin S.M. *Golovnoy mozg krysy i ego reaktsiya na ishemiyu*: monografiya [Rat brain and its response to ischemia: Monograph]. Grodno: GrGMU; 2020 (in Russian).
3. Clemens J.A. Cerebral ischemia: gene activation, neuronal injury, and the protective role of antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 28: 1526–1531.
4. Réus G.Z. Relationship of Oxidative Stress as a Link between Diabetes Mellitus and Major Depressive Disorder. *Oxid Med Cell Longev.* Available at: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/8637970/> (accessed: January 20, 2022). DOI: 10.1155/2019/8637970.
5. Su H. Oxidative Stress and Renal Fibrosis: Mechanisms and Therapies. *Adv Exp Med Biol.* 2019; 1165: 585–604.
6. Taysi S. Oxidative/Nitrosative Stress and Preeclampsia. *Mini Rev Med Chem.* 2019; 19 (3): 178–193.
7. Bon' E.I., Maksimovich N.Ye. Sposoby modelirovaniya i morfofunktsional'nye markery ishemii golovnogo mozga [Methods of modeling and morphofunctional markers of cerebral ischemia]. *Biomeditsina.* 2018; 2 (in Russian).
8. Romano A.D. Oxidative stress and aging. *J. Nephrol.* 2010; 15: 29–33.
9. Saldmann F. The Naked Mole Rat: A Unique Example of Positive Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019: 5258–5265.
10. Rebrova O.Yu. *Statisticheskiy analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm Statistica* [Statistical analysis of medical data. Application of the package Statistica]. Moscow: Media Sfera; 2003 (in Russian).
11. Guo M.F., Yu J.Z., Ma C.G. Mechanisms related to neuron injury and death in cerebral hypoxic ischaemia. *Folia Neuropathol.* 2011; 49 (2): 78–87.
12. Hauck A.K. Adipose oxidative stress and protein carbonylation. *J. Biol Chem.* 2019; 294 (4): 1083–1088.
13. Kaliannan K., Li X.Y., Wang B. Multiomic analysis in transgenic mice implicates omega-6/omega-3 fatty acid imbalance as a risk factor for chronic disease. *Commun Biology.* 2019; 2 (1): 276–280.
14. Khunt D., Shrivastava M., Polaka S. Role of Omega-3 Fatty Acids and Butter Oil in Targeting Delivery of Donepezil Hydrochloride Microemulsion to Brain via the Intranasal Route: a Comparative Study. *Pharmacology Scientific Technology.* 2020; 21 (2): 45–50.
15. Gao Q. Oxidative Stress and Autophagy. *Adv Exp Med Biol.* 2019; 1206: 179–198.
16. Bissinger R. Oxidative stress, eryptosis and anemia: a pivotal mechanistic nexus in systemic diseases. *FEBS J.* 2019; 286 (5): 826–854.
17. Stevens J.L., Feelisch M., Martin D.S. Perioperative Oxidative Stress: The Unseen Enemy. *Anesth Analg.* 2019; 129 (6): 1749–1760.
18. Butin A.A. Zakonomernosti izmeneniy sosudisto-kapillyarnoy seti kory bol'shogo mozga v otvet na ostruyu tserebral'nuyu ishemiyu [Patterns of changes in the vascular-capillary network of the cerebral cortex in response to acute cerebral ischemia]. *Omskiy nauchnyy vestnik.* 2004; 26: 46–57 (in Russian).
19. Barkovskiy E.V. *Sovremennyye problemy biokhimii: metody issledovaniy* [Modern problems of biochemistry: Research methods]. Minsk: Vysheyshaya shkola; 2013 (in Russian).
20. Sofia Orellana-Urzuza, Ignacio Rojas, Lucas Libano, Ramon Rodrigo. Pathophysiology of Ischemic Stroke: Role of Oxidative Stress. *Curr Pharm Des.* 2020; 26 (34): 4246–4260.
21. Allen C.L., Bayraktutan U. Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke. *Int. J. Stroke.* 2009; 4 (6): 461–470.
22. Ramon Rodrigo, Rodrigo Fernandez-Gajardo, Rodrigo Gutiérrez, Jose Manuel Matamala, Rodrigo Carasco, Andres Miranda-Merchak, Walter Feuerhake. Oxidative stress and pathophysiology of ischemic stroke: novel therapeutic opportunities. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2013; 12 (5): 698–714.

Received 11 April 2022; accepted 14 August 2022.

Information about the authors

Bon' Elizaveta Igorevna, Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Chair of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov, Grodno State Medical University. 230009, Republic of Belarus, Grodno, Gorky St., 80; e-mail: asphodela@list.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7189-0838>.

Maksimovich Nataliya Evgen'evna, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Head of the Chair of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov, Grodno State Medical University. 230009, Republic of Belarus, Grodno, Gorky St., 80; e-mail: mne@grsmu.by, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3181-9513>.

Dremza Iosif Karlovich, Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Chair of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov, Grodno State Medical University. 230009, Republic of Belarus, Grodno, Gorky St., 80; e-mail: idremza@rambler.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2971-0167>.

Nosovich Miroslav Alekseevich, Student, Grodno State Medical University. 230009, Republic of Belarus, Grodno, Gorky St., 80; e-mail: miroslavnosovich@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0090-7254>.

Khrapovitskaya Kseniya Aleksandrovna, Student, Grodno State Medical University. 230009, Republic of Belarus, Grodno, Gorky St., 80; e-mail: ksenia1999pq@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7580-7915>.

For citation

Bon' E.I., Maksimovich N.Ye., Dremza I.K., Nosovich M.A., Khrapovitskaya K.A. Kharakteristika narusheniy prooksidantno-antioksidantnogo balansa u krysa s ishemiey golovnogo mozga [Disturbance of prooxidant-antioxidant balance in rats with cerebral ischemia]. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal*. 2022; 3: 97–105. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-97-105 (in Russian).

УДК 612.17

DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-106-119

ОСТРЕЙШАЯ СТАДИЯ ИНФАРКТА МИОКАРДА: ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ If НА ИЗОЛИРОВАННОЕ СЕРДЦЕ КРЫС

А.М. Купцова, Р.К. Бугров, Н.И. Зиятдинова, Т.Л. Зефирова

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия

Плотность If в кардиомиоцитах изменяется не только с возрастом, но и при патофизиологической гипертрофии, поэтому исследования патологических состояний на моделях экспериментальных животных позволяют детально изучить роль If в патофизиологических процессах, происходящих в сердце после инфаркта миокарда (ИМ).

Цель – изучить влияние блокады If-токов на изолированное сердце крыс с моделью острейшего инфаркта миокарда (ОИМ) и ложнопериоперированных (ЛО) крыс.

Материалы и методы. ИМ воспроизводили путем лигирования левой коронарной артерии. Исследование проводилось на изолированном по Лангендорфу сердце (ADInstruments). В период ОИМ изучали хронотропию, инотропию и ее временные характеристики, кровоснабжение сердца крыс.

Результаты. Выявлено, что исходные значения силы сокращения и коронарного потока были достоверно ниже в группе с экспериментальной моделью ОИМ, различий в ЧСС и временных характеристиках силы сокращения не обнаружено. Блокада If (ZD7288, 10^{-9} М, 10^{-5} М) уменьшает силу сокращения и коронарный поток изолированного сердца в обеих экспериментальных группах, изменения более выражены в группе ЛО крыс. Блокада If (10^{-9} М) в группе ЛО крыс приводит к тахикардии, а в группе ОИМ – к брадикардии. ZD7288 (10^{-5} М) снижает ЧСС в обеих исследуемых группах, но в группе с ОИМ брадикардия была более выраженной. Возможно, полученная динамика выраженности эффектов связана с изменением плотности If в патологическом миокарде. Таким образом, очевидно, что токи If не только участвуют в регуляции различных функций сердца после ИМ, но и меняют свою роль на разных стадиях экспериментального инфаркта миокарда.

Ключевые слова: токи, активируемые при гиперполяризации, экспериментальный инфаркт миокарда, изолированное сердце, крыса.

Введение. Ритмические циклы, такие как спонтанные и повторяющиеся паттерны возбуждения в возбудимых клетках, являются важными временными механизмами, которые регулируют различные биологические процессы. Неудивительно, что пейсмекерный ток, также известный как «забавный ток» (If) или ток, активируемый гиперполяризацией, был впервые описан в сердце [1], наиболее надежном ритмическом органе тела. Этот ток, позже также описанный в нервах, оказался опосредованным гиперполяризационно активируемыми ионными каналами, управляемыми циклическими нуклеотидами (HCN-каналы) [1]. HCN-каналы способствуют активности синусового узла и нейронов. В клетках синоатриального узла каналы отвечают за начальную фазу потенциала действия и, следовательно, регулируют скорость возбуждения. HCN-каналы модулируются внутриклеточными циклическими нуклеотидами, включая циклический

аденозинмонофосфат (цАМФ). Активность каналов увеличивается в присутствии цАМФ и имеет решающее значение для ускорения частоты сердечных сокращений (ЧСС) при симпатической стимуляции [2]. В нервной системе HCN-каналы участвуют в возбудимости нейронов и сетевой активности [3]. Таким образом, с учетом многочисленных ролей HCN-каналов их дисфункция связана с целым рядом заболеваний [3], например с аритмиями, эпилепсией и невропатической болью, что делает их новыми мишенями для терапевтических исследований [3].

В экспериментальных исследованиях на лабораторных животных показано влияние неселективного блокатора If-токов ZD7288 на показатели работы сердечно-сосудистой системы. Выявлено, что блокада If-токов оказывала влияние как на ЧСС [4], так и на сократимость миокарда [5]. В изолированном сердце с хронической моделью инфаркта миокарда

(ИМ) положительный инотропный эффект возникает при аппликации ZD7288 в концентрациях 10^{-9} М и 10^{-7} М, а у здоровых животных положительный инотропный эффект наблюдается только при добавлении минимальной концентрации блокатора [6].

В последние годы в литературе появились данные, свидетельствующие о том, что дисфункциональные HCN-каналы, в частности HCN1-канал, а также HCN2- и HCN4-каналы, могут играть патогенную роль при эпилепсии, что показано в экспериментальных исследованиях на животных моделях и у пациентов с эпилепсией. В центральной нервной системе изменение Ih-тока может предрасполагать к развитию нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона. Поскольку HCN-каналы широко экспрессируются в периферической нервной системе, их дисфункциональное поведение также может быть связано с патогенезом невропатической боли. С учетом фундаментальной роли HCN-каналов в регуляции спонтанной активности сердечных и нейрональных клеток изучение модуляции их функции в терапевтических целях может быть полезным для коррекции различных патологических состояний [7].

В литературе показано, что плотность If в кардиомиоцитах изменяется не только с возрастом, но и при патофизиологической гипертрофии [8], поэтому исследования патологических состояний на моделях экспериментальных животных позволяют детально изучить патофизиологические процессы, происходящие в миокарде при поражении коронарного русла.

В последние годы в связи с развитием общества, изменением окружающей среды и образа жизни человека увеличилась заболеваемость инфарктом миокарда. ИМ становится одной из основных причин смерти и инвалидности населения [9]. Как независимый фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний увеличение ЧСС в покое вызывает смерть от острого инфаркта миокарда [10, 11]. На фоне ИМ происходит увеличение потребления кислорода миокардом, снижение перфузии коронарных артерий, что вызывает ишемию миокарда, рост количества некротических клеток миокарда, снижение сократимости миокарда.

В дальнейшем все это может вызывать ремоделирование миокарда и развитие сердечной недостаточности [12]. Таким образом, активный клинический контроль ЧСС в покое стал одним из наиболее важных методов лечения ИМ [12]. Хотя β -блокаторы используются для замедления ЧСС, такие эффекты, как уменьшение проводимости, снижение силы сокращения и артериального давления и др., а также различные противопоказания следует учитывать при клиническом применении этих препаратов [12].

Селективное снижение ЧСС путем ингибирования If-каналов является одним из современных методов лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Так, недавно для клинического применения при лечении хронической сердечной недостаточности был одобрен блокатор HCN-каналов ивабрадин [3]. В инструкции по применению препарата, а также некоторыми исследователями указывается, что ивабрадин может специфически снижать синусовый ритм и замедлять ЧСС без дополнительных эффектов, таких как уменьшение силы сокращения и снижение артериального давления [2, 13]. Кроме того, процесс воздействия на ЧСС другими препаратами, такими как бета-блокаторы, более медленный, поскольку их дозировку необходимо увеличивать постепенно, в то время как ивабрадин позволяет быстрее и эффективнее осуществлять контроль ЧСС без ухудшения сердечной функции [14].

Ивабрадин связывается с каналом If синусового узла, подавляя ток If, уменьшая автономию синусового узла и замедляя ЧСС [1, 15]; замедление ЧСС может продлить диастолический период, увеличить снабжение миокарда кислородом и коронарную перфузию, увеличить сердечный выброс и улучшить сердечную функцию; ЧСС положительно коррелирует с объемом желудочков, а снижение ЧСС может снизить объемную нагрузку желудочков, уменьшить работу миокарда и потребление кислорода, а также улучшить толерантность к физической нагрузке [16, 17]. В то же время, несмотря на перечисленные преимущества, ивабрадин противопоказан для применения при остром инфаркте миокарда.

Цель исследования. Изучить влияние блокады If-токов на изолированное сердце

крыс с моделью острейшего инфаркта миокарда и ложнооперированных крыс.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены с соблюдением этических норм и правил обращения с лабораторными животными.

В работе использовали беспородных крыс обоего пола в возрасте 4 мес. Непосредственно перед операцией каждое животное взвешивалось. Средняя масса составила 200–250 г.

Крысы были разделены на две группы: 1-я (контроль, $n=20$) – ложнооперированные животные (ЛО); 2-я ($n=20$) – крысы с моделью острейшего инфаркта миокарда (ОИМ). Контрольная группа ложнооперированных животных была сформирована для исключения влияния факторов оперативного вмешательства на сердце на результаты исследования.

Методика воспроизведения инфаркта миокарда. Для воспроизведения инфаркта миокарда у экспериментальных животных использовалась классическая модель, разработанная Г. Селье.

Животных обезболивали с помощью эфирного наркоза, помещая под стеклянный колпак. Затем при помощи резиновых лент животное фиксировали на операционном столе. Во время подготовки к торакотомии могла потребоваться дополнительная анестезия. При необходимости над дыхательными путями крысы размещали пропитанный эфиром марлевый тампон. В ходе дальнейшего эксперимента наркоз не применяли.

Для улучшения видения операционного поля использовали ламповое освещение. С грудной клетки животного состригали шерсть, кожу обрабатывали дезинфицирующим раствором. На левой стороне грудной клетки крысы делали разрез кожи. С помощью ранорасширителей разводили в противоположные стороны грудные мышцы. Между V и VI ребрами тонкими ножницами производили поперечный разрез длиной около 15 мм. Теперь воздух поступал в грудную полость, дыхание становилось невозможным, но это не представляло серьезной угрозы для жизни экспериментального животного, поскольку наложение лигатуры занимало около 60–90 с. Манипулируя в операционной ране пинцетом, отводили в сторону легкое и приводили сердце в

удобное положение. Затем путем активной компрессии грудной клетки с обеих сторон выводили сердце из грудной полости. Сердце удерживали за желудочки большим и указательными пальцами левой руки. Визуально находили переднюю ветвь левой коронарной артерии. С помощью атрауматической иглы и нерассасывающейся нити (Prolene 6/0, Ethicon, США) накладывали лигатуру на 0,5–1 мм ниже ее выхода из-под ушка сердца и трехкратно перевязывали. О правильности наложения лигатуры на коронарную артерию свидетельствовали быстро развивающиеся тахикардия, аритмия и анемия миокарда в области лигатуры. Затем сердце возвращали в грудную полость. Мышцы сдвигали, на кожу накладывали сдавливающий пинцет, а пальцами рук производили надавливания на грудную клетку так, чтобы удалить скопившийся воздух и создать отрицательное давление в грудной полости. Затем кожу зашивали полигликолид-ко-лактидом 3/0 («Медтехника») и обрабатывали антисептическим препаратом ариמידерм. Сразу после сдвигания мышц и кожи животное начинало самостоятельно дышать. Далее в течение 5 мин после ушивания кожи и начала восстановления дыхания ждали развития острейшей стадии инфаркта миокарда. При необходимости животное дополнительно анестезировали эфиром. Затем грудную клетку вскрывали и готовили препарат изолированного сердца.

Методика приготовления препарата изолированного сердца. Эксперименты *ex vivo* проводили на установке Лангендорфа (ADInstruments, Австралия). Изолированное сердце промывали в охлажденном до +4 °С растворе Кребса – Хензеляйте. Сердце за аорту лигировали на канюле и подавали оксигенированный (95 % O₂ и 5 % CO₂) раствор при постоянном гидростатическом давлении 75–80 мм рт. ст. и температуре 37 °С, которые поддерживались в ходе всего эксперимента. Сократительную активность изучали в изоволюмическом режиме с помощью датчика давления и латексного баллончика, заполненного водой и введенного в полость левого желудочка через разрез, сделанный между левым предсердием и левым желудочком. Конечно-диастолическое давление устанавливали на уровне 16–18 мм рт. ст.

Для диагностики развития ОИМ на изолированное сердце накладывали атравматические электроды и записывали электрограмму.

Исследуемые параметры работы изолированного сердца регистрировали и обрабатывали в программе LabChart Pro V8. В ходе эксперимента подсчитывали частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд./мин), давление, развиваемое левым желудочком (ДРЛЖ, мм рт. ст.), максимальную скорость сокращения левого желудочка (dP/dt_{max} , мм рт. ст./с), максимальную скорость расслабления левого желудочка (dP/dt_{min} , мм рт. ст./с), длительность сокращения и расслабления левого желудочка (с), время цикла сокращения левого желудочка (с), коронарный поток (КП, мл/мин).

Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе Microsoft Excel с использованием однофакторного дис-

персионного анализа (ANOVA) и последующим применением апостериорных тестов (Т-тест) для связанных групп, а также использовали парный и непарный t-критерий Стьюдента. Данные представлены в виде среднего значения (M) и ошибки среднего (m). Достоверными считали значения при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Согласно данным литературы, ОИМ обычно продолжается от нескольких часов (от 1 до 3 ч) до 1–3 сут и характеризуется развитием повреждения кардиомиоцитов в результате острого нарушения коронарного кровообращения. ЭКГ регистрирует подъем сегмента зубца ST выше изолинии с дугой, обращенной выпуклостью вверх, в виде монофазной кривой, когда сегмент зубца ST сливается с положительным зубцом Т [18].

В нашем исследовании на электрограмме изолированного сердца зафиксирована элевация зубца ST выше изолинии (рис. 1).

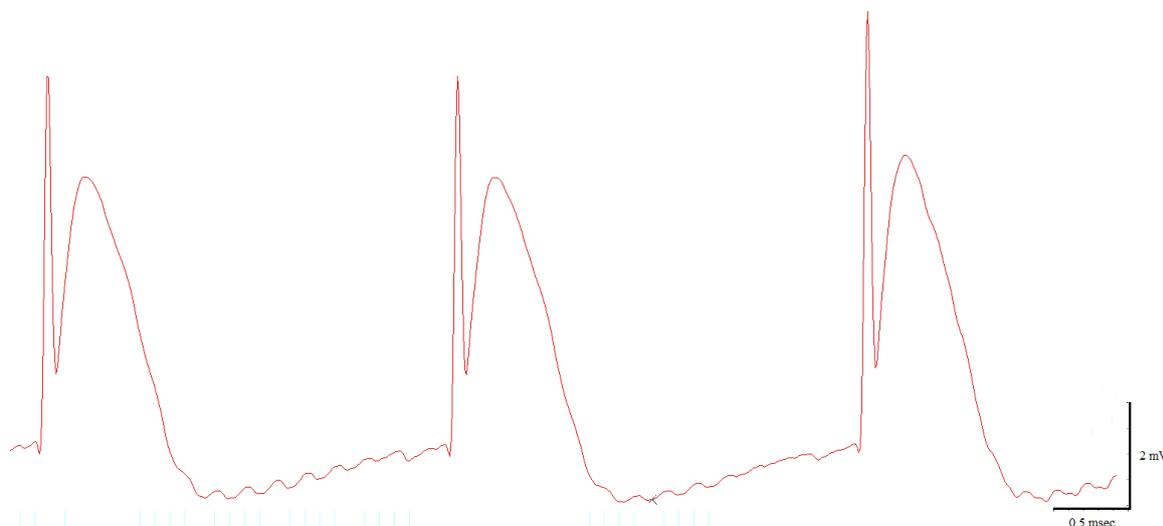


Рис. 1. Нарушение сердечного ритма на электрограмме изолированного по Лангендорфу сердца с экспериментальной моделью острейшего инфаркта миокарда (оригинальная запись)

Fig. 1. Cardiac arrhythmia on the electrogram of a Langendorff-isolated heart with an experimental model of acute myocardial infarction (original record)

В группе ЛО животных исходное значение ДРЛЖ составило $89,4 \pm 6,4$ мм рт. ст. В группе крыс с ОИМ исходное значение ДРЛЖ соста-

вило $71 \pm 10,5$ мм рт. ст. и было достоверно ниже, чем у ложнооперированных животных ($p < 0,05$) (рис. 2).

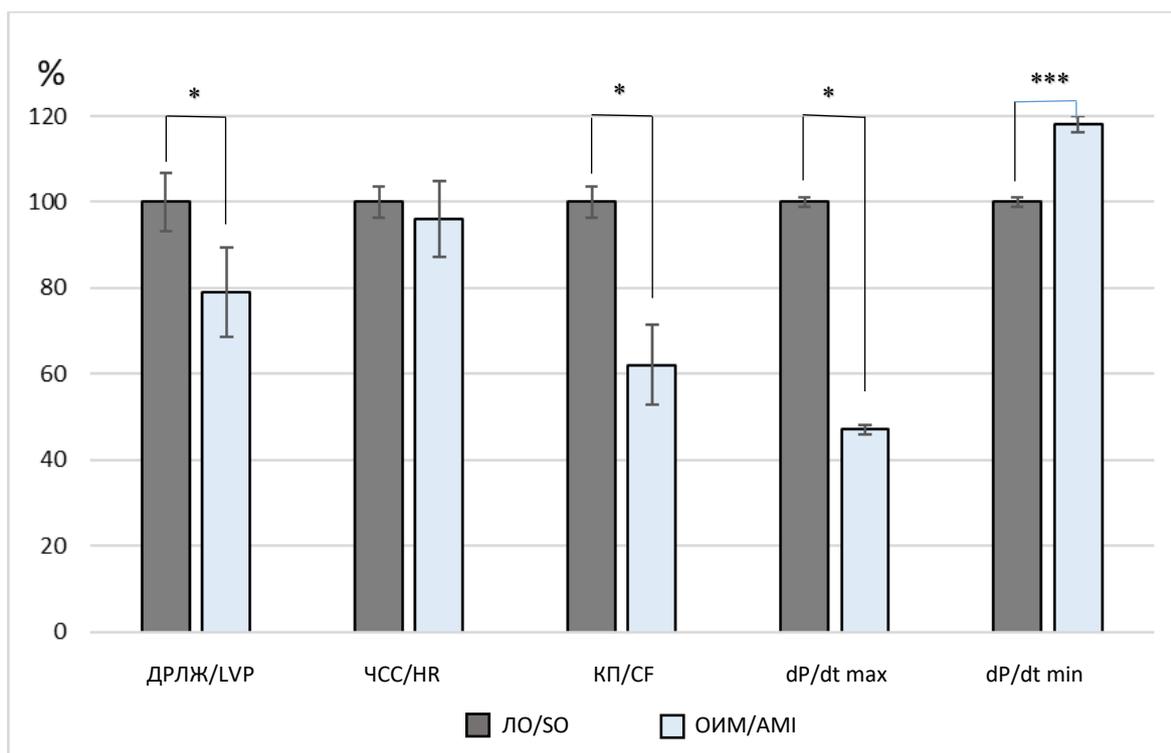


Рис. 2. Сравнение исходных значений ДРЛЖ, ЧСС, КП, dP/dt_{max} и dP/dt_{min} изолированного по Лангендорфу сердца ложнооперированных крыс и крыс с моделью острейшего инфаркта миокарда (различия достоверны по сравнению с группой ЛО: * – $p < 0,05$, *** – $p < 0,001$)

Fig. 2. Initial values of LVP, HR and CF, dP/dt_{max} and dP/dt_{min} of the Langendorff-isolated heart of sham-operated (SO) rats with a model of acute myocardial infarction (* – the differences are significant compared with the SO group ($p < 0.05$); *** – the differences are significant compared with the SO group ($p < 0.001$))

Значения ЧСС у ложнооперированных крыс и у крыс с моделью ОИМ достоверно не различались: $233,4 \pm 3,5$ и $224,8 \pm 8,8$ уд./мин соответственно. Показатель КП изолированного сердца ЛО животных составил $11,7 \pm 3,7$ мл/мин. В группе крыс с ОИМ он был достоверно ниже и составил $7,3 \pm 1,3$ мл/мин ($p < 0,05$) (рис. 2).

Максимальная скорость сокращения миокарда левого желудочка у ЛО составила $3691,3 \pm 349$ мм рт. ст./с, в группе с ОИМ она была достоверно ниже – $1748,1 \pm 350$ мм рт. ст./с ($p < 0,05$) (рис. 2). Максимальная скорость расслабления миокарда левого желудочка у живот-

ных с моделью ОИМ была достоверно выше, чем у ЛО крыс, на 18 % ($p < 0,001$) (рис. 2).

Исходные значения показателя длительности сокращения левого желудочка в группе ЛО животных составляли $0,132 \pm 0,004$ с, в группе с ОИМ – $0,133 \pm 0,007$ с (рис. 3). Длительность расслабления миокарда левого желудочка в группе ЛО животных составляла $0,149 \pm 0,01$ с, в группе ОИМ – $0,148 \pm 0,01$ с (рис. 3). Длительность цикла сокращения миокарда левого желудочка в группе ЛО животных была равна $0,276 \pm 0,003$ с, в группе ОИМ – $0,280 \pm 0,011$ с (рис. 3). Достоверных различий между группами не обнаружено.

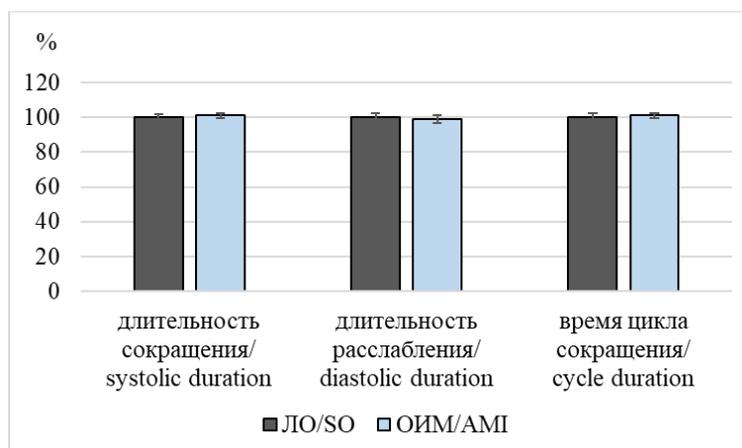


Рис. 3. Сравнение исходных значений времени сокращения, времени расслабления, времени цикла сокращения изолированного по Лангендорфу сердца ложнооперированных крыс и крыс с моделью острейшего инфаркта миокарда

Fig. 3. Initial values of systolic, diastolic, and cycle duration of the Langendorff-isolated heart of sham-operated rats with a model of acute myocardial infarction

Для изучения влияния блокады токов, активируемых при гиперполяризации, в перфузионный раствор добавляли антагонист ZD7288 в концентрациях 10^{-9} М и 10^{-5} М. Данные концентрации блокаторов выбраны на основе ранее проведенных исследований, выявивших влияние изучаемых токов на параметры изолированного сердца [19].

При добавлении в перфузионный раствор ZD7288 в концентрации 10^{-9} М ДРЛЖ в группе ЛО животных снижалось с $88,3 \pm 10,5$

до $76,7 \pm 9,6$ мм рт. ст. ($p < 0,01$) к 10-й мин наблюдения. На заключительной минуте эксперимента ДРЛЖ составило $69,1 \pm 7,7$ мм рт. ст. ($p < 0,01$), т.е. уменьшилось на 22 %. В группе животных с экспериментальной моделью ОИМ ДРЛЖ при аппликации блокатора снижалось с $71 \pm 9,9$ до $64,2 \pm 9$ мм рт. ст. ($p < 0,01$) на 5-й мин эксперимента. К 20-й мин экспериментальной записи значения ДРЛЖ снизились до $60,5 \pm 8,6$ мм рт. ст. ($p < 0,05$), т.е. на 15 % от исходных (рис. 4).

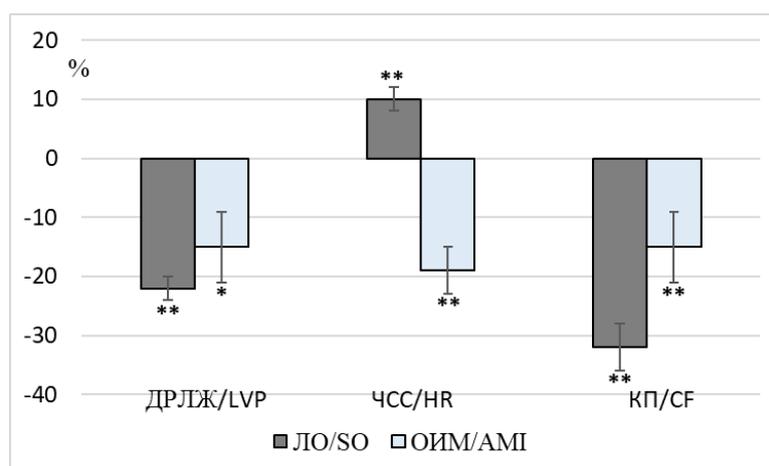


Рис. 4. Влияние ZD7288 (10^{-9} М) на показатели работы изолированного по Лангендорфу сердца (ДРЛЖ, ЧСС, КП) ложнооперированных крыс и крыс после моделирования ОИМ (ось ординат – показатели работы изолированного сердца, ось абсцисс – изменения по сравнению с исходными значениями (в %): * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$)

Fig. 4. Effect of ZD7288 (10^{-9} M) on the Langendorff-isolated heart values (LVP, HR, CF) of sham-operated rats and rats after AMI simulation (Y-axis shows the isolated heart values; X-axis shows the changes compared with the baseline values (%): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$)

Показатель dP/dt_{max} в группе ЛО животных до добавления ZD7288 в перфузионный раствор составлял $3921,2 \pm 428$ мм рт. ст./с, а после аппликации уменьшился до $3640,8 \pm 381,7$ мм рт. ст./с ($p < 0,05$) на 10-й мин наблюдения. К 20-й мин перфузии изолированного сердца данный показатель уменьшился до $3324,2 \pm 264,7$ мм рт. ст./с ($p < 0,01$) – на 15 %. При добавлении в перфузионный раствор блокатора If в группе ОИМ значения dP/dt_{max} увеличились с $1870,1 \pm 402,4$ до $2111,1 \pm 457,2$ мм рт. ст./с ($p < 0,05$) к 10-й мин эксперимента. На заключительной минуте наблюдения значения dP/dt_{max} левого желудочка увеличились до $2186,9 \pm 412,3$ мм рт. ст./с ($p < 0,01$) – на 17 %.

Аппликация в перфузионный раствор ZD7288 увеличивала dP/dt_{min} в группе ЛО животных на 16 % ($p < 0,01$) от исходного. В экспериментальной группе с ОИМ данный показатель увеличивался на 15 % ($p < 0,05$) от исходного.

Длительность сокращения миокарда левого желудочка у ЛО животных после аппликации ZD7288 уменьшилась на 6 %: с $0,127 \pm 0,005$ до $0,120 \pm 0,004$ с ($p < 0,01$) к 5-й мин эксперимента. Далее длительность сокращения уменьшилась до $0,112 \pm 0,008$ с ($p < 0,05$). Снижение составило 12 %. В группе с моделью ОИМ изучаемый показатель снизился на 8 %: с $0,129 \pm 0,005$ до $0,118 \pm 0,006$ с ($p < 0,01$) к заключительной минуте эксперимента (рис. 5).

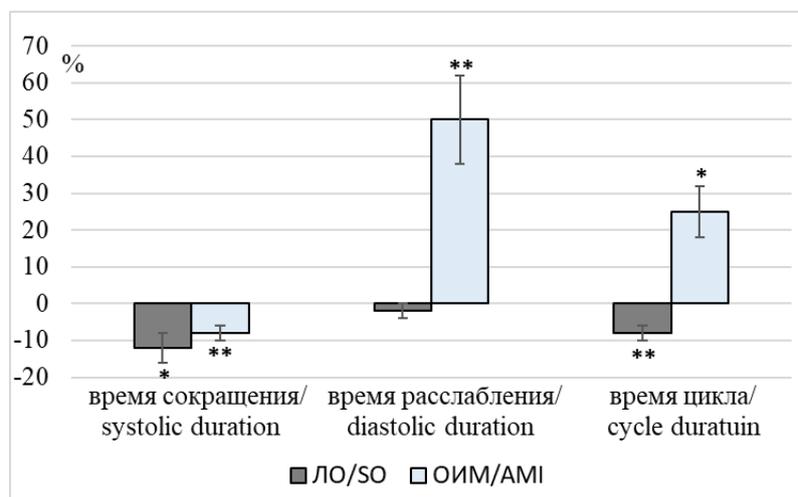


Рис. 5. Влияние ZD7288 (10^{-9} М) на временные характеристики сокращения изолированного по Лангендорфу сердца ложнооперированных крыс и крыс после моделирования ОИМ (ось ординат – показатели работы изолированного сердца, ось абсцисс – изменения по сравнению с исходными значениями (%): * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$)

Fig. 5. Effect of ZD7288 (10^{-9} M) on the temporal characteristics of contraction of the Langendorff-isolated heart in sham-operated rats and rats after AMI simulation (Y-axis shows the isolated heart values; X-axis shows the changes compared with the baseline values (%): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$)

Длительность расслабления миокарда левого желудочка при аппликации в перфузионный раствор блокатора If в группе ЛО животных уменьшилась с $0,131 \pm 0,006$ до $0,124 \pm 0,003$ с ($p < 0,05$) на 5-й мин наблюдения. Далее показатель вернулся к исходному значению и не изменялся до конца эксперимента. В группе с моделью ОИМ длительность расслабления миокарда левого желудочка увеличивалась с $0,148 \pm 0,010$ до $0,205 \pm 0,028$ с ($p < 0,05$) на

15-й мин эксперимента. На 20-й мин наблюдения длительность расслабления миокарда левого желудочка возросла до $0,222 \pm 0,025$ с ($p < 0,01$), увеличение составило 50 % (рис. 5).

Время цикла сокращения левого желудочка изолированного сердца ЛО животных при блокаде If уменьшалось с $0,251 \pm 0,004$ до $0,231 \pm 0,008$ с ($p < 0,01$) к 20-й мин эксперимента, уменьшение составило 8 %. В группе с моделью ОИМ время цикла сокращения после

блокады If увеличилось на 25 %: с $0,280 \pm 0,011$ до $0,349 \pm 0,031$ с ($p < 0,05$) (рис. 5).

При добавлении в перфузионный раствор блокатора токов, активируемых при гиперполяризации, в концентрации 10^{-5} М ДРЛЖ в группе ЛО уменьшилось на 30 % от исходных значений: с $92,2 \pm 3,4$ до $82,8 \pm 2,5$ мм рт. ст. ($p < 0,01$) к 10-й мин эксперимента. На заключительной

минуте наблюдения ДРЛЖ уменьшилось до $64,5 \pm 5,7$ мм рт. ст. ($p < 0,01$). В экспериментальной группе с моделью ОИМ ДРЛЖ уменьшилось на 25 %: с $65 \pm 7,2$ до $49,4 \pm 5,5$ мм рт. ст. ($p < 0,05$) на 15-й мин наблюдения. К заключительной минуте эксперимента ДРЛЖ уменьшилось до $48,7 \pm 5,4$ мм рт. ст. ($p < 0,05$) (рис. 6).

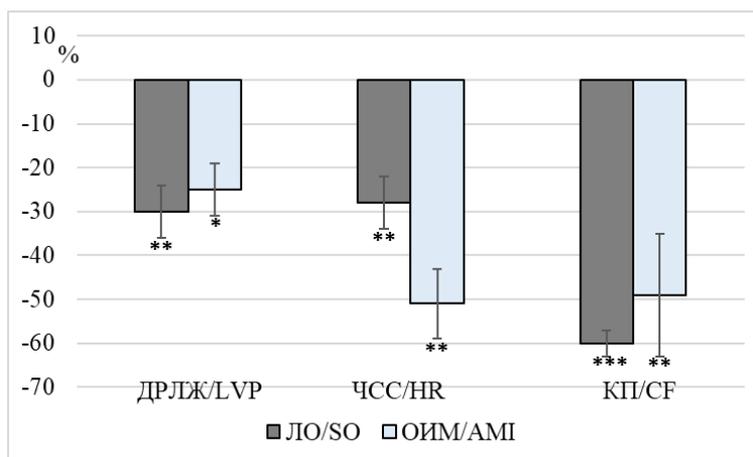


Рис. 6. Влияние ZD7288 (10^{-5} М) на показатели работы изолированного по Лангендорфу сердца ложнооперированных крыс и крыс после моделирования ОИМ (ось ординат – показатели работы изолированного сердца, ось абсцисс – изменения по сравнению с исходными значениями (в %): * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$)

Fig. 6. Effect of ZD7288 (10^{-5} M) on the Langendorff-isolated heart values (LVP, HR, CF) of sham-operated rats and rats after AMI simulation (Y-axis shows the isolated heart values; X-axis shows the changes compared with the baseline values (%): * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

ЧСС изолированного сердца ЛО животных после добавления блокатора увеличивалась на 10 %. С 1-й мин наблюдения ЧСС выросла с $241,9 \pm 2,6$ до $260 \pm 2,1$ уд./мин ($p < 0,01$). Тахикардия наблюдалась до заключительной 20-й мин эксперимента, когда ЧСС составила $265,1 \pm 7,6$ уд./мин ($p < 0,01$). Блокада If в группе с ОИМ снижала ЧСС с $224,8 \pm 8,3$ до $204,1 \pm 15,4$ уд./мин ($p < 0,05$) к 10-й мин. Брадикардия сохранялась до 20-й мин эксперимента, когда ЧСС снизилась до $182,7 \pm 13,2$ уд./мин ($p < 0,01$). Снижение составило 19 % (рис. 6).

Показатель КП изолированного сердца в группе ЛО животных уменьшался с $12,8 \pm 1,3$ до $10,8 \pm 1,2$ мл/мин ($p < 0,01$) на 5-й мин. Снижение КП наблюдалось до окончания эксперимента и составляло к 20-й мин $8,7 \pm 1,1$ мл/мин ($p < 0,01$), т.е. показатель уменьшился на 32 %. В экспериментальной группе ОИМ КП уменьшился на 15 %: с $7,3 \pm 1,3$ до $6,7 \pm 1,3$ мл/мин ($p < 0,01$) к

5-й мин наблюдения. К 20-й мин эксперимента значение КП составило $6,1 \pm 1,4$ мл/мин ($p < 0,01$) (рис. 6).

Добавление в перфузионный раствор блокатора ZD7288 (10^{-5} М) снижало dP/dt_{max} в группе ЛО животных с $3270,7 \pm 274,8$ до $2968,9 \pm 240,6$ мм рт. ст./с ($p < 0,05$) к 15-й мин наблюдения. На последней минуте эксперимента dP/dt_{max} снизилась до $2678,5 \pm 247,6$ мм рт. ст./с ($p < 0,01$), т.е. на 18 %. В группе животных с моделью ОИМ dP/dt_{max} увеличилась на 3 % на 1-й мин эксперимента: с $2309,9 \pm 404,1$ до $2374,9 \pm 412,4$ мм рт. ст./с ($p < 0,01$). Далее наблюдали снижение изучаемого показателя до $1622,3 \pm 336,3$ мм рт. ст./с ($p < 0,05$) на последней 20-й мин эксперимента. Снижение dP/dt_{max} составило 30 % от исходных значений.

После аппликации в перфузионный раствор блокатора If в группе ЛО животных dP/dt_{min} увеличилась на 25 % ($p < 0,01$) от ис-

ходного значения. В экспериментальной группе с моделью ОИМ увеличение dP/dt_{\min} составило 31 % ($p < 0,05$).

Аппликация ZD7288 в перфузионный раствор вызывала брадикардию в обеих изучаемых группах. В группе ЛО животных ЧСС уменьшилась с $216,7 \pm 10,7$ до $167,3 \pm 25,6$ уд./мин ($p < 0,05$) к 10-й мин эксперимента, а затем до $157,2 \pm 21,1$ уд./мин ($p < 0,01$) на 20-й мин. Снижение ЧСС составило 28 % от исходного уровня. В группе животных с моделью ОИМ блокада If уменьшила ЧСС с $208,7 \pm 10,9$ до $140,3 \pm 14,2$ уд./мин ($p < 0,01$) к 10-й мин эксперимента. К 20-й мин ЧСС продолжала снижаться до $102,9 \pm 8,6$ уд./мин ($p < 0,01$). Разница с исходными значениями составила 51 % (рис. 6).

Блокатор токов, активируемых при гиперполяризации, снижал КП изолированного сердца в экспериментальных группах. КП в группе ЛО животных уменьшался с $10 \pm 0,3$ до $8,7 \pm 0,4$ мл/мин ($p < 0,001$) к 5-й мин наблюдения. К 20-й мин КП уменьшился до $4 \pm 0,2$ мл/мин ($p < 0,001$). Снижение КП составило 60 % от исходного уровня. В экспериментальной группе с моделью ОИМ КП уменьшился с $7,2 \pm 0,7$ до $4,3 \pm 0,6$ мл/мин ($p < 0,01$) к 5-й мин наблюдения. Затем к 20-й мин КП уменьшился до

$3,7 \pm 0,6$ мл/мин ($p < 0,01$). Снижения КП составило 49 % (рис. 6).

Блокада If вызывала снижение длительности сокращения миокарда левого желудочка в группе ЛО животных с $0,140 \pm 0,008$ до $0,133 \pm 0,006$ с ($p < 0,05$) к 5-й мин эксперимента. К 20-й мин длительность сокращения уменьшилась до $0,117 \pm 0,004$ с ($p < 0,05$) (рис. 7). Уменьшение длительности сокращения составило 17 %. В группе с моделью ОИМ изучаемый показатель увеличился незначительно – на 5 %: с $0,134 \pm 0,011$ до $0,142 \pm 0,006$ с на 5-й мин. К заключительной (20-й мин) эксперимента длительность сокращения миокарда левого желудочка составила $0,141 \pm 0,003$ с (рис. 7).

Длительность расслабления миокарда левого желудочка при аппликации в перфузионный раствор блокатора If в группе ЛО животных увеличивалась на 69 %. Изучаемый показатель вырос с $0,183 \pm 0,030$ до $0,203 \pm 0,031$ с ($p < 0,01$) к 5-й мин наблюдения. Затем продолжал увеличиваться и к 20-й мин достигал $0,309 \pm 0,044$ с ($p < 0,01$). В группе с моделью ОИМ длительность расслабления миокарда левого желудочка увеличивалась на 170 %: с $0,180 \pm 0,028$ до $0,424 \pm 0,077$ с ($p < 0,05$) к 15-й мин и до $0,485 \pm 0,075$ с ($p < 0,05$) на 20-й мин (рис. 7).

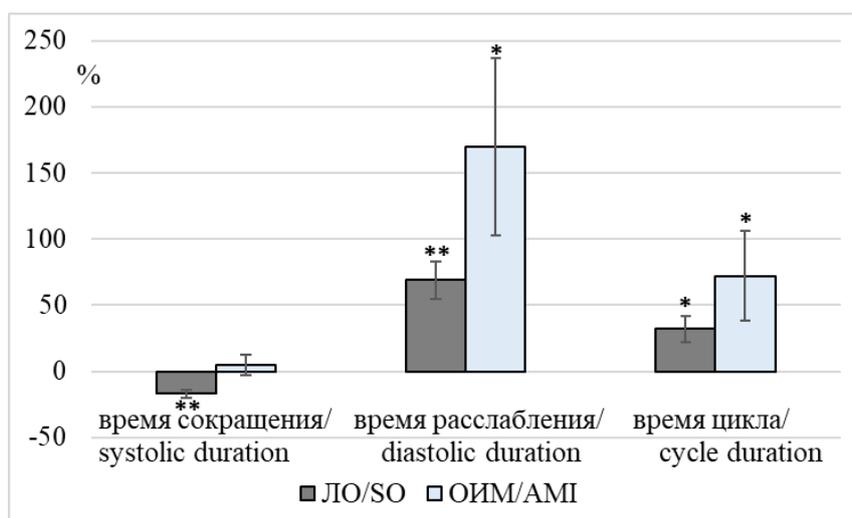


Рис. 7. Влияние ZD7288 (10^{-5} М) на временные характеристики сокращения изолированного по Лангендорфу сердца ложнооперированных крыс и крыс после моделирования ОИМ (ось ординат – показатели работы изолированного сердца, ось абсцисс – изменения по сравнению с исходными значениями (в %): * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$)

Fig. 7. Effect of ZD7288 (10^{-5} M) on the temporal characteristics of contraction of the Langendorff-isolated heart of sham-operated rats and rats after AMI simulation (Y-axis shows the isolated heart values; X-axis shows the changes compared with the baseline values (%): * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

Время цикла сокращения левого желудочка изолированного сердца ЛО животных при блокаде If увеличилось с $0,323 \pm 0,037$ до $0,424 \pm 0,067$ с ($p < 0,05$) к 10-й мин наблюдения. Далее время цикла сокращения продолжало расти до $0,427 \pm 0,047$ с ($p < 0,05$) к заключительной 20-й мин эксперимента. Увеличение составило 32 %. В группе с моделью ОИМ время цикла сокращения после блокады If выросло на 72 %: с $0,324 \pm 0,036$ до $0,557 \pm 0,068$ с ($p < 0,05$) к 20-й мин наблюдения (рис. 7).

Заключение. Проведенное исследование выявило, что исходные значения ДРЛЖ, dP/dt_{max} , КП достоверно ниже в группе с экспериментальной моделью ОИМ, различий в ЧСС и временных характеристиках силы сокращения не обнаружено. Возможно, в первые минуты коронарной окклюзии происходит резкое угнетение сократительной функции сердечной мышцы из-за кислородного голодания, нарушения кровоснабжения, влияющего на энергетические ресурсы, чувствительность сердечной мышцы к ионам Ca^{2+} , изменение скорости образования актомиозиновых мостиков и скорости расслабления миоцитов [20]. Однако, по-видимому, перечисленные изменения еще не отражаются на временных показателях сокращения миокарда.

Селективная блокада If (ZD7288, 10^{-9} М, 10^{-5} М) уменьшает ДРЛЖ и КП изолированного сердца в обеих экспериментальных группах. Однако в группе ЛО животных уменьшение ДРЛЖ и КП более выражено по сравнению с группой крыс с моделью ОИМ. В проведенных ранее исследованиях на стадии хронического ИМ блокада If (10^{-9} М) вызывала положительный инотропный эффект, а максимальная концентрация If уменьшала силу сокращения [6]. На основании полученных дан-

ных в экспериментальной модели ИМ у крыс можно сделать вывод, что роль If меняется: он ингибирует давление, развиваемое левым желудочком на начальной стадии ишемии, и усиливает силу сокращения в адаптационный период хронического ИМ. Аппликация ZD7288 оказывает разнонаправленное влияние на ЧСС изолированного сердца в исследуемых группах. Блокада If (10^{-9} М) в группе ЛО крыс приводит к тахикардии, а в группе ОИМ вызывает брадикардию. ZD7288 в концентрации 10^{-5} М урежает ЧСС в обеих исследуемых группах, но в группе крыс с ОИМ наблюдается более выраженная брадикардия. Аппликация блокатора (10^{-9} М, 10^{-5} М) в обеих исследуемых группах уменьшает время сокращения миокарда. В группе ЛО крыс изменение данного показателя более выражено, чем в группе с ОИМ. Время расслабления после блокады If (10^{-9} М) в группе ЛО животных не изменялось, а в группе с ОИМ увеличивалось. Аппликация ZD7288 в концентрации 10^{-5} М увеличивала время расслабления в обеих исследуемых группах, но в группе с ОИМ эффект был более выраженным. Возможно, полученная динамика выраженности эффектов связана с изменением плотности If в патологическом миокарде. Инверсия полученных эффектов может быть связана с участием данных токов в фазе реполяризации потенциала действия в рабочих кардиомиоцитах [21]. Таким образом, очевидно, что токи If не только участвуют в регуляции различных функций сердца после ИМ, но и меняют свою роль на разных стадиях экспериментального инфаркта миокарда.

В дальнейшем необходимо детальное исследование роли If в миокарде с различными патологиями, в т.ч. на разных стадиях развития инфаркта миокарда.

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (Приоритет-2030).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Shi S., Wu X. Clinical research progress of ivabradine in cardiovascular disease. Chinese Circulation Journal. 2015; 30: 613–616.
2. DiFrancesco D. Funny channels in the control of cardiac rhythm and mode of action of selective blocker. Pharmacol. Res. 2006; 53: 399–406.

3. *Sartiani L., Mannaioni G., Masi A., Romanelli M.N., Cerbai E.* The Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide-Gated Channels: from Biophysics to Pharmacology of a Unique Family of Ion Channels. *Pharmacol. Rev.* 2017; 69: 354–395. DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.117.014035>.
4. *Zefirov T.L., Ziyatdinova N.I., Zefirov A.L.* Autonomic control of cardiac function involves modulation of hyperpolarization activated channels in vitro. *Russ. J. Physiol.* 2003; 89 (2): 154–160.
5. *Zefirov T.L., Gibina A.E., Sergejeva A.M., Ziyatdinova N.I., Zefirov A.L.* Age-Related Peculiarities of Contractile Activity of Rat Myocardium during Blockade of Hyperpolarization-Activated Currents. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2007; 144 (3): 273–275.
6. *Bugrov R.K., Kuptsova A.M., Khabibrakhmanov I.I., Ziyatdinova N.I., Zefirov T.L.* Influence of If-current blockade on rat heart contractility with a model of myocardial infarction. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica.* 2020; 37 (7): 817–821.
7. *Rivolta I., Binda A., Masi A., DiFrancesco J.C.* Cardiac and neuronal HCN channelopathies. *Pflugers Arch.* 2020; 472 (7): 931–951. DOI: [10.1007/s00424-020-02384-3](https://doi.org/10.1007/s00424-020-02384-3).
8. *Cerbai E., Pino R., Sartiani L., Mugelli A.* Influence of postnatal-development on If occurrence and properties in neonatal rat ventricular myocytes. *Cardiovascular Research.* 1999; 42: 416–423.
9. *Boateng S., Sanborn T.* Acute myocardial infarction. *Dis. Mon.* 2013; 59: 83–96.
10. *Ide T., Ohtani K., Higo T.* Ivabradine for the Treatment of Cardiovascular Diseases. *Circ. J.* 2019; 83: 252–260.
11. *Sharashova E., Wilsgaard T., Mathiesen E.B.* Resting heart rate predicts incident myocardial infarction, atrial fibrillation, ischaemic stroke and death in the general population: the Tromsø Study. *J. Epidemiol. Community Health.* 2016; 70: 902–909.
12. *Wang B., Zhang X., Chen J., Chen S., Chen Q., Yang S., Wang Q.* Effectiveness and safety of ivabradine in the treatment of acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *Ann. Palliat. Med.* 2021; 10 (4): 4523–4531. DOI: [10.21037/apm-21-563](https://doi.org/10.21037/apm-21-563).
13. *Swedberg K., Komajda M., Böhm M., Borer J.S., Ford I., Dubost-Brama A., Lerebours G., Tavazzi L.* Ivabradine and outcomes in chronic heart failure (SHIFT): a randomized placebo-controlled study. *Lancet.* 2010; 376: 875–885.
14. *Fang Y., Debonne M., Vercauteren M., Brakenhielm E., Richard V., Lallemand F., Henry J-P., Mulder P., Thuillez C.* Heart rate reduction induced by the if current inhibitor ivabradine improves diastolic function and attenuates cardiac tissue hypoxia. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2012; 59: 260–267.
15. *Li C., Jiang D.* Study and progress of ivabradine in cardiovascular diseases. *Advances in Cardiovascular Diseases.* 2019; 40: 143–145.
16. *Ramirez-Carracedo R., Tesoro L., Hernandez I., Diez-Mata J., Botana L., Saura M., Sanmartin M., Zamorano J.L., Zaragoza C.* Ivabradine-stimulated microvesicle release induces cardiac protection against acute myocardial infarction. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21: 6566.
17. *Brown H., Dfirancesso D., Noble S.* How does adrenaline accelerate the heart? *Nature.* 1979; 280: 235–236.
18. *Nikulina N.A., Dotsenko E.A., Nerovnya A.M., Salivonchik D.P., Platoshkin E.N., Nikolaeva N.V., Tishkov S.P.* Experimental myocardial infarction in rats: features of modeling and course within the first 48 hours after coronary artery ligation. *Problems of health and ecology.* 2020; 2 (64): 91–96.
19. *Купцова А.М., Зиятдинова Н.И., Фасхутдинов Л.И., Биктемирова Р.Г., Зефирова Т.Л.* Влияние HCN-каналов на работу изолированного сердца взрослых крыс. *Ученые записки Казанского университета. Сер. Естественные науки.* 2018; 160 (4): 568–578.
20. *Катруха И.А.* Тропонинный комплекс сердца человека. Структура и функции. *Успехи биол. химии.* 2013; 53: 149–194.
21. *Abramochkin D.V., Faskhutdinov L.I., Filatova T.S., Ziyatdinova N.I.* Changes in Electrical Activity of Working Myocardium Under Condition of I-f Current Inhibition. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2015; 158 (5): 600–603.

Поступила в редакцию 20.06.2022; принята 22.07.2022.

Авторский коллектив

Купцова Анна Михайловна – кандидат биологических наук, доцент кафедры охраны здоровья человека, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». 420008, Россия, г. Казань, ул. Кремлевская, 18; e-mail: anuta0285@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3592-6589>.

Бугров Роман Кутдусович – аспирант кафедры охраны здоровья человека, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». 420008, Россия, г. Казань, ул. Кремлевская, 18; e-mail: bugrovrk@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6801-8547>.

Зиятдинова Нафиса Ильгизовна – доктор биологических наук, профессор кафедры охраны здоровья человека, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». 420008, Россия, г. Казань, ул. Кремлевская, 18; e-mail: nafisaz@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4503-7451>.

Зефирова Тимур Львович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой охраны здоровья человека, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». 420008, Россия, г. Казань, ул. Кремлевская, 18; e-mail: zefirovtl@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-9557-1639>.

Образец цитирования

Купцова А.М., Бугров Р.К., Зиятдинова Н.И., Зефирова Т.Л. Острейшая стадия инфаркта миокарда: влияние блокады I_f на изолированное сердце крысы. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 106–119. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-106-119.

ACUTE PHASE OF MYOCARDIAL INFARCTION: EFFECT OF I_f -CURRENT BLOCKADE ON ISOLATED RAT HEART

A.M. Kuptsova, R.K. Bugrov, N.I. Ziyatdinova, T.L. Zefirov

Kazan Federal University, Kazan, Russia

If-current density in cardiomyocytes changes not only with age, but also with pathophysiological hypertrophy. Thus, studies of pathological conditions in experimental animal models allow us to study If-current role in pathophysiological processes occurring in the heart after myocardial infarction (MI).

The objective of the study is to examine the effect of If-currents blockade on the isolated heart of rats with modelled acute myocardial infarction (AMI) and sham-operated (SO) rats.

Materials and Methods. MI was reproduced by the left coronary artery ligation. The study was conducted on a Langendorff-isolated heart (ADInstruments). During AMI, the authors studied chronotropy, inotropy and its temporal characteristics, and blood supply of the rat heart.

Results. It was found that the initial values of contractile force and coronary flow were significantly lower in the group with an experimental AMI model. There were no differences in heart rate and temporal characteristics of contractile force. If-current blockade (ZD7288, 10^{-9} M, 10^{-5} M) reduced the contractile force and coronary flow of the isolated heart in both experimental groups, the changes were more pronounced in the SO group. If-current blockade (10^{-9} M) in the SO group led to tachycardia, and in the AMI group - to bradycardia. ZD7288 (10^{-5} M) reduced heart rate in both groups, but in the AMI group, bradycardia was more pronounced. It is possible that the obtained dynamics is associated with a change in the if-current density in the dyscrasic myocardium. Thus, it is obvious that If-currents are not only involved in the regulation of various MI heart functions, but their role changes at different stages of experimental myocardial infarction.

Key words: hyperpolarization-activated currents, experimental myocardial infarction, isolated heart, rat.

The work was supported by a Strategic academic leadership program (Priority-2030) of Kazan (Volga region) Federal University.

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

References

1. Shi S., Wu X. Clinical research progress of ivabradine in cardiovascular disease. *Chinese Circulation Journal*. 2015; 30: 613–616.
2. DiFrancesco D. Funny channels in the control of cardiac rhythm and mode of action of selective blocker. *Pharmacol. Res.* 2006; 53: 399–406.

3. Sartiani L., Mannaioni G., Masi A., Romanelli M.N., Cerbai E. The Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide-Gated Channels: from Biophysics to Pharmacology of a Unique Family of Ion Channels. *Pharmacol. Rev.* 2017; 69: 354–395. DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.117.014035>.
4. Zefirov T.L., Ziyatdinova N.I., Zefirov A.L. Autonomic control of cardiac function involves modulation of hyperpolarization activated channels in vitro. *Russ. J. Physiol.* 2003; 89 (2): 154–160.
5. Zefirov T.L., Gibina A.E., Sergejeva A.M., Ziyatdinova N.I., Zefirov A.L. Age-Related Peculiarities of Contractile Activity of Rat Myocardium during Blockade of Hyperpolarization-Activated Currents. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2007; 144 (3): 273–275.
6. Bugrov R.K., Kuptsova A.M., Khabibrakhmanov I.I., Ziyatdinova N.I., Zefirov T.L. Influence of If-current blockade on rat heart contractility with a model of myocardial infarction. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica.* 2020; 37 (7): 817–821.
7. Rivolta I., Binda A., Masi A., DiFrancesco J.C. Cardiac and neuronal HCN channelopathies. *Pflugers Arch.* 2020; 472 (7): 931–951. DOI: 10.1007/s00424-020-02384-3.
8. Cerbai E., Pino R., Sartiani L., Mugelli A. Influence of postnatal-development on If occurrence and properties in neonatal rat ventricular myocytes. *Cardiovascular Research.* 1999; 42: 416–423.
9. Boateng S., Sanborn T. Acute myocardial infarction. *Dis. Mon.* 2013; 59: 83–96.
10. Ide T., Ohtani K., Higo T. Ivabradine for the Treatment of Cardiovascular Diseases. *Circ. J.* 2019; 83: 252–260.
11. Sharashova E., Wilsgaard T., Mathiesen E.B. Resting heart rate predicts incident myocardial infarction, atrial fibrillation, ischaemic stroke and death in the general population: the Tromsø Study. *J. Epidemiol. Community Health.* 2016; 70: 902–909.
12. Wang B., Zhang X., Chen J., Chen S., Chen Q., Yang S., Wang Q. Effectiveness and safety of ivabradine in the treatment of acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *Ann. Palliat. Med.* 2021; 10 (4): 4523–4531. DOI: 10.21037/apm-21-563.
13. Swedberg K., Komajda M., Böhm M., Borer J.S., Ford I., Dubost-Brama A., Lerebours G., Tavazzi L. Ivabradine and outcomes in chronic heart failure (SHIFT): a randomized placebo-controlled study. *Lancet.* 2010; 376: 875–885.
14. Fang Y., Debonne M., Vercauteren M., Brakenhielm E., Richard V., Lallemand F., Henry J-P., Mulder P., Thuillez C. Heart rate reduction induced by the if current inhibitor ivabradine improves diastolic function and attenuates cardiac tissue hypoxia. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2012; 59: 260–267.
15. Li C., Jiang D. Study and progress of ivabradine in cardiovascular diseases. *Advances in Cardiovascular Diseases.* 2019; 40: 143–145.
16. Ramirez-Carracedo R., Tesoro L., Hernandez I., Diez-Mata J., Botana L., Saura M., Sanmartin M., Zamorano J.L., Zaragoza C. Ivabradine-stimulated microvesicle release induces cardiac protection against acute myocardial infarction. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21: 6566.
17. Brown H., DiFrancesco D., Noble S. How does adrenaline accelerate the heart? *Nature.* 1979; 280: 235–236.
18. Nikulina N.A., Dotsenko E.A., Nerovnya A.M., Salivonchik D.P., Platoshkin E.N., Nikolaeva N.V., Tishkov S.P. Experimental myocardial infarction in rats: features of modeling and course within the first 48 hours after coronary artery ligation. *Problems of health and ecology.* 2020; 2 (64): 91–96.
19. Kuptsova A.M., Ziyatdinova N.I., Faskhutdinov L.I., Biktemirova R.G., Zefirov T.L. Vliyanie HCN-kanalov na rabotu izolirovannogo serdtsa vzroslykh kryss [Influence of HCN channels on the isolated heart functions in adult rats]. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. Ser. Estestvennye nauki.* 2018; 160 (4): 568–578 (in Russian).
20. Katrukha I.A. Troponinovy kompleks serdtsa cheloveka [Troponin complex of the human heart]. *Struktura i funktsii. Uspekhi biol. khimii.* 2013; 53: 149–194 (in Russian).
21. Abramochkin D.V., Faskhutdinov L.I., Filatova T.S., Ziyatdinova N.I. Changes in Electrical Activity of Working Myocardium Under Condition of I-f Current Inhibition. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2015; 158 (5): 600–603.

Received 20 June 2022; accepted 22 July 2022.

Information about the authors

Kuptsova Anna Mikhailovna, Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Chair of Human Health Protection, Kazan Federal University. 420008, Russia, Kazan, Kremlevskaya St., 18, e-mail: anuta0285@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3592-6589>.

Bugrov Roman Kutdusovich, Post-graduate Student, Chair of Human Health Protection, Kazan Federal University. 420008, Russia, Kazan, Kremlevskaya St., 18, e-mail: bugrovrk@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6801-8547>.

Ziyatdinova Nafisa Il'gizovna, Doctor of Sciences (Biology), Professor, Chair of Human Health Protection, Kazan Federal University. 420008, Russia, Kazan, Kremlevskaya St., 18, e-mail: nafisaz@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4503-7451>.

Zefirov Timur L'vovich, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Head of the Chair of Human Health Protection, Kazan Federal University. 420008, Russia, Kazan, Kremlevskaya St., 18, e-mail: zefirovtl@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-9557-1639>.

For citation

Kuptsova A.M., Bugrov R.K., Ziyatdinova N.I., Zefirov T.L. Ostreyschaya stadiya infarkta miokarda: vliyanie blokady If na izolirovannoe serdtse krysa [Acute phase of myocardial infarction: Effect of If-current blockade on the isolated rat heart]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskiy zhurnal*. 2022; 3: 106–119. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-106-119 (in Russian).

УДК 612.66:611.36:612.014.461+612.086
DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-120-128

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГИДРАТАЦИИ И ГИСТОСТРУКТУРЫ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ

А.А. Виноградов, Е.С. Симакова

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет
им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, г. Рязань, Россия

Одна из гипотез старения основана на уменьшении процентного содержания воды в организме с возрастом. В большей степени потеря воды оказывает влияние на наиболее энергозависимые органы, в частности на печень, которая претерпевает ряд структурных изменений компенсаторно-приспособительного характера. Параметры возрастных изменений, изученные в настоящее время недостаточно полно, должны быть учтены при определении фактических трансформаций в органе при экспериментальных воздействиях.

Цель исследования – на крысах изучить изменение уровня общей воды и гистоструктуры печени в процессе 75-суточного наблюдения.

Материалы и методы. В течение 75 сут у молодых беспородных интактных крыс оценивалось изменение уровня общей воды в паренхиме печени. Гистоструктура печени изучалась на срезах, окрашенных гематоксилин-эозином и микрофуксином по Ван Гизону.

Результаты. Установлено, что в течение 75 сут происходит снижение уровня общей воды в паренхиме печени крыс на $0,54 \pm 0,042$ %. В процессе 75-суточного наблюдения в гистоструктуре печени видимых изменений не выявлено.

Выводы. В печени интактных животных в течение 75 сут происходит снижение уровня общей воды, которое не оказывает влияния на изменение гистоструктуры органа.

Ключевые слова: крыса, возрастные изменения печени, уровень общей воды, гистоструктура.

Введение. В процессе жизни организм претерпевает целый ряд изменений. Это связано с тем, что с возрастом в органах и тканях постепенно уменьшается процентное содержание воды – на этом основана гипотеза старения человека [1]. Известно, что вода является универсальным биологическим растворителем и только в водной среде могут протекать все сложнейшие биохимические процессы в живом организме [2–4]. В первую очередь страдают системы и органы, являющиеся наиболее энергозависимыми, в частности печень [5, 6]. В отличие от других органов и систем печень является относительно медленно стареющим органом. Тем не менее с возрастом печень претерпевает ряд структурных изменений, часть которых носит компенсаторно-приспособительный характер. Уменьшается общее число гепатоцитов, а также масса печени [7, 8]. Этот факт должен учитываться при экспериментальных исследованиях на лабораторных животных, например на крысах. Продолжительность экспериментального

воздействия на животных чаще всего составляет 2–3 мес., что соответствует 5–8 годам жизни человека [9].

В связи с пандемией COVID-19 настоящее исследование является актуальным. У части пациентов, перенесших заболевание, диагностировали мультисистемное поражение, в т.ч. поражение печени [10–12]. И первоочередной задачей является физическая реабилитация таких пациентов [13–16]. Актуальность настоящей работы связана с планированием комплексного исследования, включающего изучение влияния физической нагрузки на печень. Но для определения фактических изменений, обусловленных экспериментальным воздействием, необходимо иметь данные, касающиеся возрастных изменений, в частности гистоструктуры и уровня гидратации печени. Однако эти данные в доступной литературе отсутствуют или представлены фрагментарно.

Цель исследования. На крысах изучить изменение уровня общей воды и гистоструктуры печени в процессе 75-суточного наблюдения.

Материалы и методы. Работа выполнена на материале, полученном от белых беспородных молодых (14–16 мес.) крыс-самцов массой 200–230 г. Исследование проведено в осенне-зимний период. Крысы содержались в условиях вивария на стандартном рационе. Содержание и обращение с животными в эксперименте (включая эвтаназию передозировкой золетила) осуществлялись в соответствии с принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей [17], приказом Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», Санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (СП 2.2.1.3218–14). Животные содержались в стандартных клетках по 5 особей в каждой при температуре воздуха 20–22 °С и относительной влажности 40–60 %, при световом режиме 12:12 с включением света в 8:00, свободном доступе к корму ПК-120 (ООО «Лаборадокорм», Россия) и воде [18–20].

В печени животных уровень общей воды (УОВ, %) определялся по методике Ю.В. Исакова и М.В. Ромасенко [21] в первые сутки (исходный показатель), через 15, 30, 45, 60 и 75 сут. Из центральных и периферических участков печени вырезались кусочки размером 10×10 мм, взвешивались на торсионных весах до и после высушивания в термостате при температуре +55 °С до постоянного веса (сухого остатка). Уровень общей воды (%) определялся по формуле

$$\text{УОВ} = [(Б - А) \times 100] / Б,$$

где А и Б – вес кусочка соответственно после и до высушивания.

Рассчитывался усредненный показатель УОВ с учетом данных, определенных в центральных и периферических участках печени.

Часть препаратов печени фиксировалась в 10 % растворе формалина, приготовленном на фосфатном буфере с рН 7,2–7,4 и охлажденном до +4 °С. На следующий день материал перекладывался в свежеприготовленный 10 % раствор формалина и фиксировался до 20 сут. После окончания фиксации кусочки печени

промывались 24 ч в проточной воде, обезживались и заключались в парафиновые блоки по стандартной методике. Гистоструктура печени на срезах толщиной 15 и 20 мкм, окрашенных гематоксилин-эозином или пикрофуксином по Ван Гизону [22], изучалась под цифровым микроскопом DELTA optical (Китай) и фотодокументировалась.

Цифровые данные обрабатывались методами вариационной статистики с помощью программы StatSoft Statistica 13.0 (США, лицензия № AXA003J115213FAACD-X, Statsoft.ru) и Microsoft Excel for MAC ver. 16.24 (ID 02984-001-000001). Определялись средняя арифметическая выборки (M); ошибка средней арифметической выборки ($\pm m$); вероятность ошибки (p); квартиль – отношение медианы к максимальному и минимальному показателям выборки (δ); достоверность различий по t-критерию Стьюдента. При распределении данных в независимых выборках статистическая значимость отличий от нормального показателя оценивалась $U_{эмп.}$ по U-критерию Манна – Уитни при $U_{кр}$ 3-7. Коэффициент корреляции (R) определялся по Пирсону. Коэффициент корреляции менее 0,3 характеризовал слабую корреляционную зависимость изменений от возраста, 0,3–0,5 – умеренную, 0,5–0,7 – заметную, 0,7–0,9 – высокую, 0,9–1,0 – весьма высокую корреляционную зависимость.

Результаты и обсуждение. При макроскопических исследованиях было установлено, что нативная печень животных содержала от 4 до 5 долей светлого или темного красно-коричневого цвета. Доли имели острые края и гладкую, блестящую поверхность (рис. 1). На срезе паренхима печени была однородной и с умеренным кровенаполнением.

Микроскопическое исследование печени животных позволило выявить лишь небольшое количество соединительной ткани, которая образовывала прослойки вокруг печеночных долек. Соединительная ткань, окружающая глиссонову триаду (печеночный проток, вену и артерию), была толстая с рыхлой консистенцией. В камбиальной зоне печени – наружной и внутренней пограничных печеночных пластинках [23] – отсутствовали клетки с митотическим делением. Печеночная долька включала балки, глиссонову триаду, синусо-

идные капилляры и центральную вену (рис. 2).

Печеночная балка построена двумя слоями гепатоцитов с находящимся между ними

желчным капилляром. Гепатоциты имели полигональную форму с четко выраженной границей эозинофильной цитоплазмы.

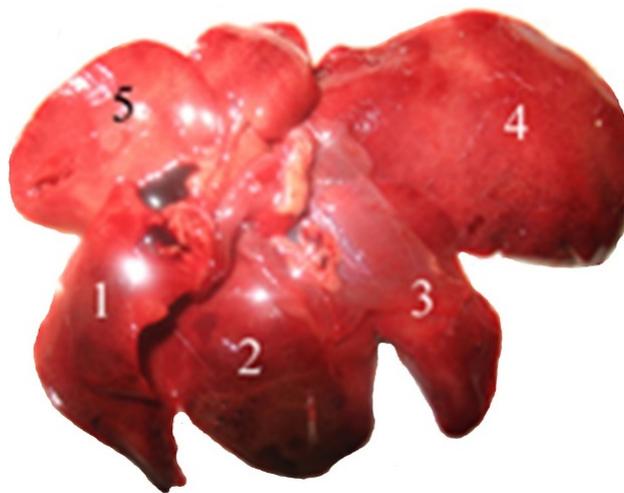


Рис. 1. Печень крысы. Установлено до 5 долей светлого или темного красно-коричневого цвета. Нативный препарат

Fig. 1. Rat liver. Five parts of light or dark red-brown color. Native drug

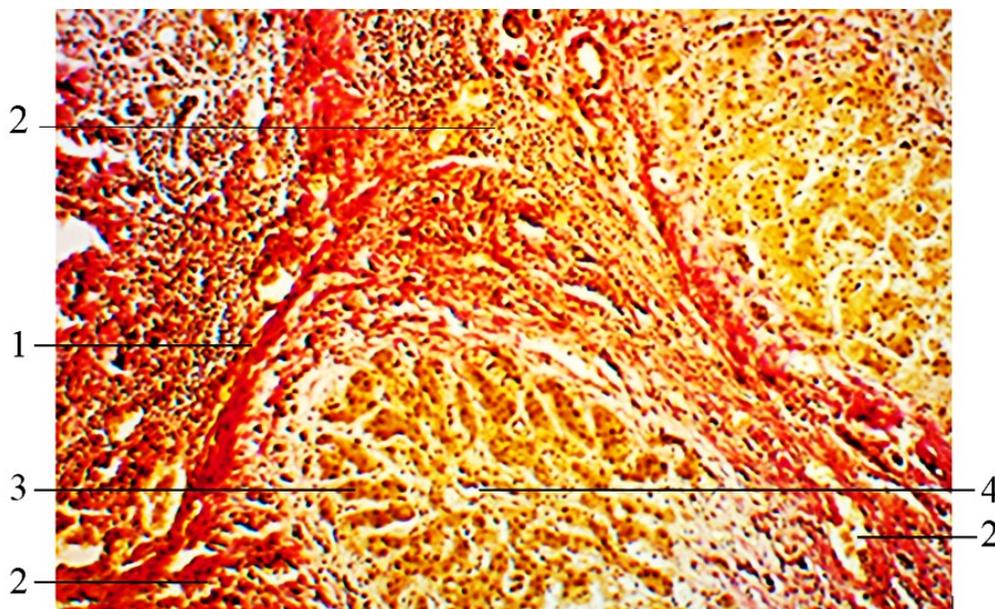


Рис. 2. Печеночная долька окружена прослойкой соединительной ткани 1, которая вокруг глиссоновой триады имеет толстую, рыхлую структуру 2. Печеночная долька сформирована печеночными балками 3, ориентированными радиально к центральной вене 4. Окраска пикрофуксином по Ван Гизону. Ув. ×200

Fig. 2. The hepatic lobule surrounded by a connective tissue layer (1), with a thick, loose structure around the Glisson triad (2). The hepatic lobule made of hepatic beams (3), oriented radially to the central vein (4). Van Gieson's picrofuchsin staining, ×200 magnification

В центре клетки находилось ядро, содержащее от 2 до 4 и более нуклеол (ядрышек), что свидетельствовало в пользу образования зрелых рибосом, которые способны осуществлять трансляцию – синтез клеточных белков.

Хроматин находился преимущественно в диффузном состоянии. В поле зрения микроскопа определялись единичные двуядерные гепатоциты, расположенные, как правило, около кровеносных сосудов (рис. 3).

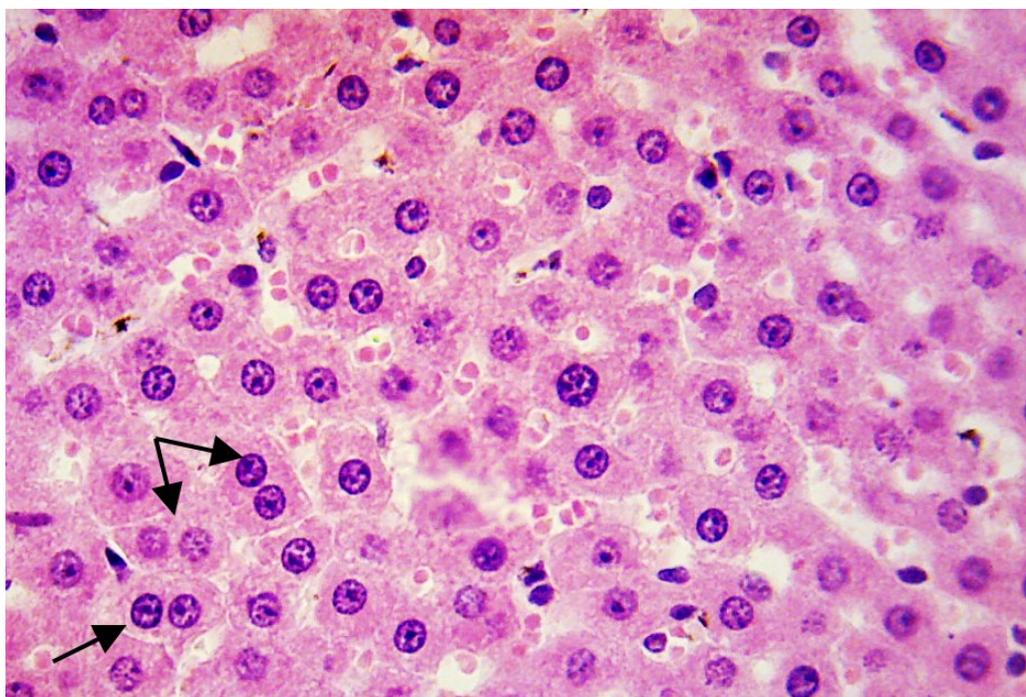


Рис. 3. Гистоструктура печени крысы. В ядрах печеночных клеток хроматин находится преимущественно в диффузном состоянии, контрастируются от 2 до 4 нуклеол. В поле зрения микроскопа определяются единичные двуядерные гепатоциты (показаны стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

Fig. 3. Rat liver histostructure. In the hepatic cell nuclei, chromatin is predominantly in a diffuse state, 2-4 nucleoli are contrasted. Single binuclear hepatocytes are determined in the field of vision of the microscope (arrow). Hematoxylin and eosin staining, $\times 400$ magnification

Макроскопические исследования, проведенные через 75 сут, видимых изменений печени не установили. На срезе паренхима печени была практически однородной с умеренно выраженным полнокровием. Гепатоциты имели четкие полигональные границы цитоплазмы. Хроматин в ядрах гепатоцитов находился в основном в диффузном состоянии. Количество нуклеол составляло 2–3. В поле зрения микроскопа увеличилось количество двуядерных гепатоцитов (рис. 4).

Исходный показатель УОВ, определенный в начале наблюдения, составлял $78,75 \pm 0,096$ % ($\delta=78,66/78,75/78,82$). Через 15 сут УОВ сни-

зился относительно исходного уровня на $0,30 \pm 0,083$ % и составил $78,51 \pm 0,024$ % ($p=0,038$; $\delta=78,49/78,50/78,53$; $U_{эмп}=2,0$; $R=0,863$). На 30-е сут УОВ снизился на $0,48 \pm 0,066$ % до $78,38 \pm 0,076$ % ($p=0,014$; $\delta=78,31/78,32/78,42$; $U_{эмп}=0$; $R=0,718$); на 45-е сут – на $0,50 \pm 0,058$ % до $78,36 \pm 0,098$ % ($p=0,019$; $\delta=78,26/78,328/78,41$; $U_{эмп}=1,0$; $R=0,837$), на 60-е сут – на $0,52 \pm 0,062$ % до $78,34 \pm 0,093$ % ($p=0,013$; $\delta=78,24/78,30/78,41$; $U_{эмп}=0$; $R=0,837$), на 75-е сут – на $0,54 \pm 0,042$ % до $78,33 \pm 0,061$ % ($p=0,005$; $\delta=78,25/78,33/78,38$; $U_{эмп}=0$; $R=0,963$).

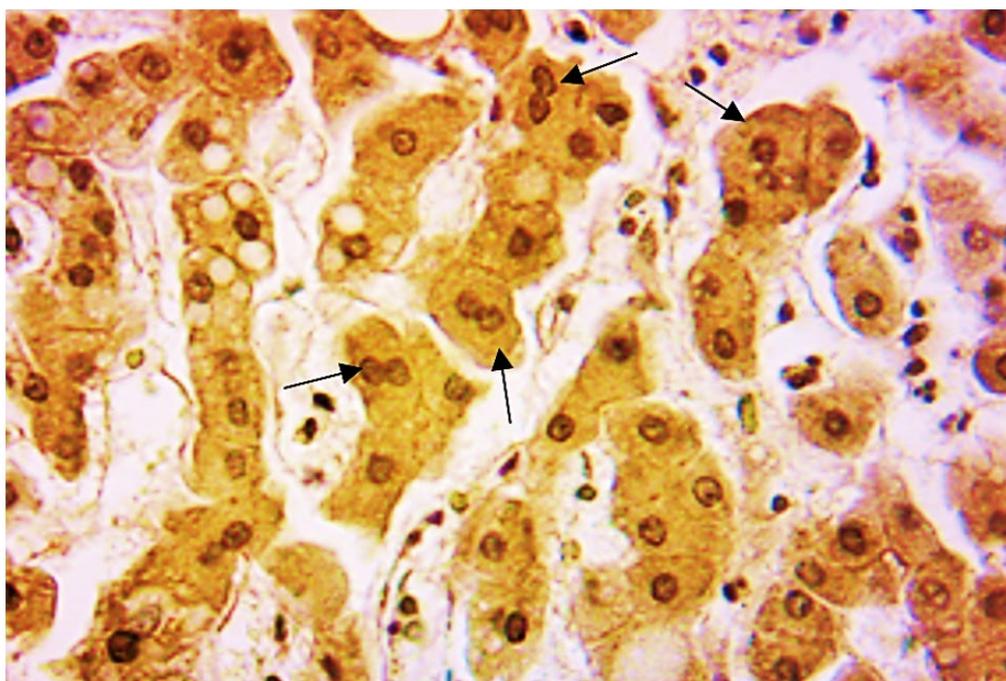


Рис. 4. Печень крысы через 75 сут после начала наблюдения. На фоне умеренно выраженного полнокровия – увеличенное количество двуядерных гепатоцитов (показаны стрелкой). Окраска пикрофуксином по Ван Гизону. Ув. $\times 400$

Fig. 4. Rat liver, 75 days after the start of observation. An increased number of binuclear hepatocytes is observed against the background of mild hyperemia (arrow). Van Gieson's picrofuchsin staining, $\times 400$ magnification

Заключение. Возраст крыс в начале эксперимента при экстраполяции на человека составлял 35–40 лет, а после 75-суточного наблюдения – 40–50 лет. Это второй период зрелого возраста (36–60 лет для мужчин и 36–55 лет для женщин) [24]. В этом возрасте причиной полисистемных заболеваний являются происходящие в организме человека постепенно нарастающие сдвиги в структуре тканей и функциях органов с нарушением клеточной энергетики. Эти изменения особенно выражены в наиболее энергозависимых органах, в частности в печени [7]. В проведенном исследовании в процессе 75-суточного наблюдения за животными видимых макроструктурных трансформаций в печени выявлено не

было. Однако на фоне однородной макроструктуры определено умеренно выраженное полнокровие. Гистоструктурные исследования грубых изменений также не выявили. Гепатоциты сохраняли четкость границ цитоплазмы. Увеличилось количество клеток, содержащих 2–3 нуклеолы. Количество гепатоцитов с двумя ядрами повысилось, особенно около кровеносных сосудов, что является одним из признаков старения печени [25]. Таким образом, в процессе 75-суточного наблюдения было установлено, что в печени животных с возрастом происходит снижение уровня общей воды на $0,54 \pm 0,042$ %, которое не вызывает видимых изменений в гистоструктуре печени.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Ишиманов М.Ю., Сертакова А.В., Соловьев А.М., Федяшина Н.А., Щербакова Е.В. 250 показателей здоровья: справочник. М.: Научная книга; 2017. 602.
2. Копылова В.Д., Веницианов Е.В. Вода в природе, значение и свойства. Сорбционные и хроматографические процессы. 2012; 12 (5): 828–838.

3. Батырханова Н.М., Прмагамбетов Г.К., Иманбекова К.Б., Тлеубаев С.С., Чурсин В.В., ред. Физиология и нарушения водно-солевого обмена: методические материалы к практическим и семинарским занятиям. Алматы: КазМУНО (АГИУВ); 2011. 44.
4. Ермолаева Е.Л., Грибина Г.А. О значении воды для человека. Международный студенческий научный вестник. 2018; 6. URL: <https://eduherald.ru/ru/article/view?id=19387> (дата обращения: 10.05.2022).
5. Калинин А.Л. Морфологические и патофизиологические особенности печени у пожилых пациентов. Проблемы здоровья и экологии. 2016; 1: 13–17.
6. Коломойцев А.К., Кузьмин А.С., Литвиненко В.А., Нежебовская А.С., Тушинский А.А. Возрастные изменения в печени. Фундаментальные аспекты психического здоровья. 2018; 4: 9–10.
7. Радченко В.Г., Селиверстов П.В. Возрастные изменения печени. Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2017; 9 (1): 110–116.
8. Цай Г.Е., Копосова С.А., Беганская Н.С. Возрастные изменения печени человека. Морфология. 2008; 133 (2): 147–148.
9. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Зубенкова Э.С., Вайнсон А.А., Бирюков А.П. Соотношение возрастов основных лабораторных животных (мышей, крыс, хомячков и собак) и человека: актуальность для проблемы возрастной радиочувствительности и анализ опубликованных данных. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2018; 63 (1): 5–27. DOI: 10.12737/article_5a82e4a3908213.56647014.
10. Кравчук Ю.А. Особенности ведения пациентов с заболеваниями печени в условиях пандемии COVID-19. Известия Российской Военно-медицинской академии. 2021; 40 (3): 57–62. DOI: [org/10.17816/rmmar76270](https://doi.org/10.17816/rmmar76270).
11. Никитин И.Г., Ильченко Л.Ю., Федоров И.Г., Тополян Г.Г. Поражение печени при COVID-19: два клинических наблюдения. Альманах клинической медицины. 2020; 48 (6): 412–421. DOI: 10.18786/2072-0505-2020-48-053.
12. Xu L., Liu J., Lu M., Zheng X. Liver injury during highly pathogenic human coronavirus infections. Liver Int. 2020; 40 (5): 998–1004. DOI: 10.1111/liv.14435.
13. Бубнова М.Г., Персиянова-Дуброва А.Л., Лямина Н.П. Реабилитация после новой коронавирусной инфекции (COVID-19): принципы и подход. CardioСоматика. 2019; 11 (4): 6–14. DOI: 10.26442/222117185.4.200570.
14. Тришкин Д.В., Крюков Е.В., Фролов Д.В., Зайцев А.А. Костюченко О.М., Геворкян А.Р. Физическая реабилитация пациентов с новой коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2 (COVID-19) в стационаре. Военно-медицинский журнал. 2020; 341 (9): 13–19.
15. Фролов Д.В., Крюков Е.В., Светлицкая М.В., Костюченко О.М., Зайцев А.А., Чернов С.А., Чернецов В.А. Физическая реабилитация пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 в военном стационаре с использованием телекоммуникационных технологий. Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2020; 19 (4): 266–274. DOI: 10.17816/1681-3456-2020-19-4-10.
16. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.O., He J.X., Liu L., Shan H., Lei C.L., Hui D.S.C., Du B. China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus disease 2019 in China. N. Engl. J. Med. 2020; 382 (18): 1708–1720. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032.
17. European convention for the protection of vertebral animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe. 18.03.1986. Strasbourg; 1986. 52.
18. Иванов Д.Г., Александровская Н.В., Афонькина Е.А., Ерошкин П.В., Семенов А.Н., Бусыгин Д.В. Адаптационные изменения у крыс при ежедневном выполнении физической нагрузки в методике «Бег на тредбане». Биомедицина. 2017; 2: 4–22.
19. Липатов В.А., Крюков А.А., Северинов Д.А., Саакян А.Р. Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных биомедицинских исследований in vivo. Ч. 1. Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. 2019; 27 (1): 80–92. DOI: 10.23888/PAVLOVJ201927180-92.
20. Липатов В.А., Крюков А.А., Северинов Д.А., Саакян А.Р. Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных биомедицинских исследований in vivo. Ч. 2. Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. 2019; 27 (2): 245–257. DOI: 10.23888/PAVLOVJ2019272245-257.

21. *Исаков Ю.В., Ромасенко М.В.* Влияние гипербарической оксигенации на содержание общей воды в мозговой ткани при экспериментальном травматическом отеке мозга. Вопросы нейрохирургии. 1986; 1: 25–27.
22. *Ромейс Б.* Гистологическая техника. М.: Иностранная литература; 1953. 718.
23. *Лебедева Е.И.* Сравнительная морфофункциональная характеристика печени белой крысы и человека в норме и при токсическом поражении: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Минск; 2016. 27.
24. *Антонова В.А.* Возрастная анатомия и физиология. М.: Высшее образование; 2006. 192.
25. *Блинкова Н.Б., Сазонов С.В., Леонтьев С.Л.* Полиплоидия гепатоцитов в регенерации печени при хроническом гепатите у пациентов из разных возрастных групп. Екатеринбург: Юника; 2017. 106.

Поступила в редакцию 25.05.2022; принята 12.07.2022.

Авторский коллектив

Виноградов Александр Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры анатомии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России. 390026, Россия, г. Рязань, ул. Высоковольная, 9; e-mail: alexanvin@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0441-7121>.

Симакова Евгения Сергеевна – аспирант кафедры физиологии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России. 390026, Россия, г. Рязань, ул. Высоковольная, 9; e-mail: simakovryazan@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8728-6395>.

Образец цитирования

Виноградов А.А., Симакова Е.С. Возрастные изменения гидратации и гистоструктуры печени крысы. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 120–128. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-120-128.

AGE-RELATED CHANGES IN RAT LIVER HYDRATION AND HISTOSTRUCTURE

A.A. Vinogradov, E.S. Simakova

Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov,
Ministry of Health of the Russian Federation, Ryazan, Russia

One of the aging hypotheses is based on the fact that the percentage of water in the human body decreases with age. To a greater extent, the loss of water affects the most energy-dependent organs, such as liver, which undergoes a number of structural compensatory-adaptive changes. The parameters of age-related changes are currently understudied. However, they should be taken into account when determining the actual organ transformations in experiments.

The purpose of the study was to examine the change in the level of total water and liver histostructure in rats during a 75-day observation.

Materials and Methods. The changes in the level of total water in the liver parenchyma were assessed in young outbred intact rats during 75-day observation. The authors examined liver histostructure on sections stained with hematoxylin-eosin and picrofuchsin (Van Gieson's stain).

Results. A decrease in the level of total water in the rat liver parenchyma by 0.54 ± 0.042 % was observed during a 75-day observation. At the same time, no visible changes were detected in the liver histostructure.

Conclusion. During the trial a decrease in the level of total water in the liver of intact animals was observed. It did not affect the change in liver histostructure.

Key words: rat, age-related liver changes, total water level, histostructure.

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

References

1. Ishmanov M.Yu., Sertakova A.V., Solov'ev A.M., Fedyashina N.A., Shcherbakova E.V. *250 pokazateley zdorov'ya: spravochnik* [250 health indicators: Manual]. Moscow: Nauchnaya kniga; 2017. 602 (in Russian).
2. Kopylova V.D., Venitsianov E.V. Voda v prirode, znachenie i svoystva [Water in nature, value and property]. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2012; 12 (5): 828–838 (in Russian).
3. Batyrkhanova N.M., Prmagambetov G.K., Imanbekova K.B., Tleubaev S.S., Chursin V.V. *Fiziologiya i narusheniya vodno-solevogo obmena: metodicheskie materialy k prakticheskim i seminarским zanyatiyam* [Physiology and water-salt metabolism disorders: Teaching resources for tutorials]. Almaty: KazMUNO (AGIUV); 2011. 44 (in Russian).
4. Ermolaeva E.L., Gribina G.A. *O znachenii vody dlya cheloveka. Mezhdunarodnyy studencheskiy nauchnyy vestnik* [On the importance of water for humans]. 2018; 6. Available at: <https://eduherald.ru/ru/article/view?id=19387> (accessed: May 10, 2022) (in Russian).
5. Kalinin A.L. Morfologicheskie i patofiziologicheskie osobennosti pecheni u pozhilykh patsientov [Morphological and pathophysiological characteristics of the liver in elderly patients]. *Problemy zdorov'ya i ekologii*. 2016; 1: 13–17 (in Russian).
6. Kolomoitsev A.K., Kuz'min A.S., Litvinenko V.A., Nezhebovskaya A.S., Tushinskiy A.A. Vozrastnye izmeneniya v pecheni [Age-related liver changes]. *Fundamental'nye aspekty psikhicheskogo zdorov'ya*. 2018; 4: 9–10 (in Russian).
7. Radchenko V.G., Seliverstov P.V. Vozrastnye izmeneniya pecheni [Age-related liver changes]. *Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta im. I.I. Mechnikova*. 2017; 9 (1): 110–116 (in Russian).
8. Tsay G.E., Koposova S.A., Beganskaya N.S. Vozrastnye izmeneniya pecheni cheloveka [Age-related changes in human liver]. *Morfologiya*. 2008; 133 (2): 147–148 (in Russian).
9. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Zubenkova E.S., Vaynson A.A., Biryukov A.P. Sootnoshenie vozrastov osnovnykh laboratornykh zhivotnykh (myshey, krysa, khomyachkov i sobak) i cheloveka: aktual'nost' dlya problemy vozrastnoy radiochuvstvitel'nosti i analiz opublikovannykh dannykh [The relationship between the age of the main laboratory animals (mice, rats, hamsters and dogs) and the age of humans: Relevance to the age-related radiosensitivity problem and analysis of the published data]. *Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost'*. 2018; 63 (1): 5–27. DOI: 10.12737/article_5a82e4a3908213.56647014 (in Russian).
10. Kravchuk Yu.A. Osobennosti vedeniya patsientov s zabolevaniyami pecheni v usloviyakh pandemii COVID-19 [Features of management of patients with liver diseases in the conditions of the COVID-19 pandemic]. *Izvestiya Rossiyskoy VoЕННО-meditsinskoy akademii*. 2021; 40 (3): 57–62. DOI: org/10.17816/rmmar76270 (in Russian).
11. Nikitin I.G., Il'chenko L.Yu., Fedorov I.G., Topolyan G.G. Porazhenie pecheni pri COVID-19: dva klinicheskikh nablyudeniya [Liver injury in COVID-19: two clinical cases]. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny*. 2020; 48 (6): 412–421. DOI: 10.18786/2072-0505-2020-48-053 (in Russian).
12. Xu L., Liu J., Lu M., Zheng X. Liver injury during highly pathogenic human coronavirus infections. *Liver Int*. 2020; 40 (5): 998–1004. DOI: 10.1111/liv.14435.
13. Bubnova M.G., Persyanova-Dubrova A.L., Lyamina N.P. Reabilitatsiya posle novoy koronavirusnoy infektsii (COVID-19): printsipy i podkhod [Rehabilitation after new coronavirus infection (COVID-19): principles and approaches]. *CardioComatika*. 2019; 11 (4): 6–14. DOI: 10.26442/222117185.4.200570 (in Russian).
14. Trishkin D.V., Kryukov E.V., Frolov D.V., Zaytsev A.A., Kostyuchenko O.M., Gevorkyan A.R. Fizi-cheskaya reabilitatsiya patsientov s novoy koronavirusnoy infektsiye SARS-CoV-2 (COVID-19) v stacionare [Physical rehabilitation of patients with a new coronavirus infection SARS-CoV-2 (COVID-19) in a hospital]. *VoЕННО-meditsinskiy zhurnal*. 2020; 341 (9): 13–19 (in Russian).
15. Frolov D.V., Kryukov E.V., Svetlitskaya M.V., Kostyuchenko O.M., Zaytsev A.A., Chernov S.A., Chernetsov V.A. Fizi-cheskaya reabilitatsiya patsientov s novoy koronavirusnoy infektsiye COVID-19 v voennom stacionare s ispol'zovaniem telekommunikatsionnykh tekhnologiy [Physical rehabilitation of patients with a new coronavirus infection COVID-19 in a military hospital using telecommunication technologies]. *Fizioterapiya, bal'neologiya i reabilitatsiya*. 2020; 19 (4): 266–274. DOI: 10.17816/1681-3456-2020-19-4-10 (in Russian).

16. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.O., He J.X., Liu L., Shan H., Lei C.L., Hui D.S.C., Du B. China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382 (18): 1708–1720. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032.
17. *European convention for the protection of vertebral animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe.* 18.03.1986. Strasbourg; 1986. 52.
18. Ivanov D.G., Aleksandrovskaia N.V., Afon'kina E.A., Eroshkin P.V., Semenov A.N., Busygin D.V. Adaptatsionnye izmeneniya u kryss pri ezhdnevnom vypolnenii fizicheskoy nagruzki v metodike «Beg na tredbane» [Adaptive changes in rats under everyday physical load in “The run on treadmill” method]. *Biomeditsina.* 2017; 2: 4–22 (in Russian).
19. Lipatov V.A., Kryukov A.A., Severinov D.A., Saakyan A.R. Eticheskie i pravovye aspekty provedeniya eksperimental'nykh biomeditsinskikh issledovaniy in vivo. Ch. 1 [Ethical and legal aspects of in vivo experimental biomedical research. Part 1]. *Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik imeni akademika I.P. Pavlova.* 2019; 27 (1): 80–92. DOI: 10.23888/PAVLOVJ201927180-92 (in Russian).
20. Lipatov V.A., Kryukov A.A., Severinov D.A., Saakyan A.R. Eticheskie i pravovye aspekty provedeniya eksperimental'nykh biomeditsinskikh issledovaniy in vivo. Ch. 2 [Ethical and legal aspects of in vivo experimental biomedical research. Part 2]. *Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik imeni akademika I.P. Pavlova.* 2019; 27 (2): 245–257. DOI: 10.23888/PAVLOV J2019272245-257 (in Russian).
21. Isakov Yu.V., Romasenko M.V. Vliyanie giperbaricheskoy oksigenatsii na sodержanie obshchey vody v mozgovoy tkani pri eksperimental'nom travmaticheskom oteke mozga [Influence of hyperbaric oxygenation on the content of total water in the brain tissue in experimental traumatic cerebral edema]. *Voprosy neyrokhirurgii.* 1986; 1: 25–27 (in Russian).
22. Romeys B. *Gistologicheskaya tekhnika* [Histological technique] Moscow: Inostrannaya literatura; 1953. 718 (in Russian).
23. Lebedeva E.I. *Sravnitel'naya morfofunktsional'naya kharakteristika pecheni beloy kryssy i cheloveka v norme i pri toksicheskom porazhenii* [Comparative morphofunctional characteristics of the liver in white rats and humans in norm and under toxic damage]: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Minsk; 2016. 27 (in Russian).
24. Antonova V.A. *Vozrastnaya anatomiya i fiziologiya* [Age anatomy and physiology]. Moscow: Vysshee obrazovanie; 2006. 192 (in Russian).
25. Blinkova N.B., Sazonov S.V., Leont'ev S.L. *Poliploidiya gepatotsitov v regeneratsii pecheni pri khronicheskom gepatite u patsientov iz raznykh vozrastnykh grupp* [Hepatocyte polyploidy in liver regeneration in patients with chronic hepatitis (different age groups)]. Ekaterinburg: Yunika; 2017. 106 (in Russian).

Received 25 May 2022; accepted 12 July 2022.

Information about the authors

Vinogradov Aleksandr Anatol'evich, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Chair of Anatomy, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Ministry of Health of the Russian Federation. 390026, Russia, Ryazan, Vysokovol'tnaya St., 9; e-mail: alexanvin@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0441-7121>.

Simakova Evgeniya Sergeevna, Post-graduate Student, Chair of Physiology, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Ministry of Health of the Russian Federation. 390026, Russia, Ryazan, Vysokovol'tnaya St., 9; e-mail: simakovryazan@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8728-6395>.

For citation

Vinogradov A.A., Simakova E.S. Vozrastnye izmeneniya gidratatsii i gistostrukturny pecheni kryssy [Age-related changes in rat liver hydration and histostucture]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal.* 2022; 3: 120–128. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-120-128 (in Russian).

УДК 616-092.9-006.699:612.017.12-018
DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-129-141

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ НЕКОТОРЫХ ГОРМОНОВ И РЕЦЕПТОРОВ В ОПУХОЛИ И ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ЗОНЕ У САМОК МЫШЕЙ BALB/C NUDE С ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННЫМ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМ ПРОЦЕССОМ, РАЗВИВАЮЩИМСЯ НА ФОНЕ ПЕРВИЧНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА

Е.М. Франциянц¹, В.А. Бандовкина¹, И.В. Каплиева¹, Е.И. Сурикова¹,
С.В. Шлык², И.В. Нескубина¹, Ю.А. Погорелова¹, Л.К. Трепитаки¹,
И.М. Котиева², К.А. Шумарин¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Россия;
² ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Россия

Одной из причин развития первично-множественных злокачественных образований является первичный иммунодефицит.

Цель. Изучение уровня некоторых гормонов и их рецепторов в ткани и перифокальной зоне меланомы V16/F10 и карциномы легкого Льюиса (LLC) при самостоятельном и сочетанном подкожном росте у самок мышей с T-клеточным иммунодефицитом.

Материалы и методы. Мыши BALB/c Nude были распределены на группы: интактная; 2 контрольные группы: 1-я – со стандартной подкожной перевивкой меланомы V16/F10, 2-я – с подкожной перевивкой LLC; основная – животные с сочетанной перевивкой LLC и V16/F10 (ПМЗО). Методом ИФА определяли содержание свободной формы тестостерона (Тсв.), эстрогена (Е1), пролактина (ПРЛ), рецепторов эстрогенов – RE α и RE β , рецепторов андрогенов (RA) и рецепторов прогестерона (RP4) (Cassabio, Китай). Статистическую обработку полученных результатов проводили на персональном компьютере посредством программы STATISTICA 10.0 при помощи параметрического критерия Стьюдента и непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни.

Результаты. В основной группе на фоне увеличения объемов меланомы в 1,8 раза и уменьшения LLC в 2,3 раза сокращалась продолжительность жизни. У животных с ПМЗО по сравнению с одиночным вариантом роста в опухолях снижался уровень эстрогена, но повышалось содержание свободного тестостерона. Увеличение объема меланомы при ПМЗО сопровождалось повышением уровня пролактина и некоторых рецепторов половых стероидов в ткани опухоли, ее перифокальной зоне и коже, не пораженной злокачественным процессом. Уменьшение размеров карциномы Льюиса у самок основной группы сопровождалось снижением как в опухоли, так и в ее перифокальной зоне содержания практически всех исследованных рецепторов и гормонов.

Выводы. Увеличение объема меланомы, вероятно, связано с высоким содержанием пролактина и рецепторов половых стероидов в непораженной коже как источнике меланоцитов – клеток, из которых развивается данная опухоль.

Ключевые слова: меланома V16/F10, карцинома Льюиса (LLC), первично-множественные злокачественные опухоли (ПМЗО), мыши BALB/c Nude.

Введение. Известно, что у онкологических больных на 10 % повышен риск развития дополнительных первичных злокачественных новообразований других органов [1]. Эти так называемые первично-множественные злокачественные образования (ПМЗО) не являются метастазами, а представляют собой новые первичные опухоли с различным гистогене-

зом [2]. ПМЗО могут быть вызваны различными внутренними, внешними, генетическими и терапевтическими факторами, также ключевую роль может играть общая этиология злокачественных образований [3]. Для пациентов с предшествующим раком в анамнезе определение опухолевого происхождения второго злокачественного поражения имеет

большое прогностическое и терапевтическое значение и по-прежнему представляет собой сложную научную и клиническую проблему [4]. В целом у пациентов с синхронными опухолями выживаемость меньше, чем у пациентов с метасинхронными опухолями [5]. Механизмы возникновения ПМЗО и коморбидные заболевания, способствующие их развитию, до конца не изучены. Одним из факторов может являться угнетение работы иммунной системы.

Первичный иммунодефицит характеризуется рецидивирующими и часто опасными для жизни инфекциями, аутоиммунитетом и раком и представляет собой серьезную диагностическую и терапевтическую проблему [6]. Хотя наиболее тяжелые формы имеют место в раннем детстве, большинство пациентов поступает в зрелом возрасте, как правило, без явного семейного анамнеза и переменного клинического фенотипа широко распространенной иммунной дисрегуляции: около 25 % пациентов имеют аутоиммунное заболевание (преобладает аллергия), до 10 % – злокачественные новообразования [7]. Среди патологий, связанных с первичным иммунодефицитом, особое внимание уделяется раку. Рак при первичном иммунодефиците возникает из-за внутренней неспособности регулировать генетическую нестабильность и трансформацию клеток во время дифференцировки из-за измененного иммунного надзора [8]. Несколько крупных когортных исследований, проведенных в различных частях мира, показали повышенный относительный риск развития рака при первичном иммунодефиците [9].

Имунодефицитный статус животных-реципиентов является обязательным условием для предотвращения отторжения опухолевого материала другого биологического вида, в связи с чем в настоящее время разработано большое количество линий мышей, характеризующихся различной степенью дефектов иммунной системы [10, 11].

Все больше внимания уделяется роли нейроэндокринной системы в патогенезе различных, не только затрагивающих органы репродуктивной системы, злокачественных опухолей. Так, отмечают гормональный дисбаланс при раке желудка и меланоме кожи [12, 13].

Экспериментальные модели опухолей дают возможность выяснить причины и механизмы опухолевого процесса, разработать методы профилактики и лечения рака [14, 15].

Цель исследования. Изучение уровня пролактина, половых гормонов и их рецепторов в ткани и перифокальной зоне меланомы B16/F10 и карциномы легкого Льюиса (LLC) при самостоятельном и сочетанном росте у самок мышей с T-клеточным иммунодефицитом.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования проводили на 8–9-недельных самках мышей линий BALB /c Nude и BALB/c массой тела 21–22 г. Все исследования проводились в соответствии с требованиями и условиями, изложенными в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных и приказе Минздрава России от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики». Работа с животными осуществлялась в соответствии с правилами Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах (Директива 2010/63/EU). Протокол экспериментального исследования был одобрен Комиссией по биоэтике ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России от 01.09.2020 (протокол этического комитета № 21/99).

Основной особенностью линии BALB/c Nude является то, что у животных отсутствует вилочковая железа и они не способны продуцировать T-клетки. Это обуславливается мутацией в гене *FOXN1*, который является особенно важным для развития тимуса и некоторых иммунных реакций, особенно опосредованных T-клетками. Животные не могут создавать эффективный иммунный ответ, поэтому данная линия широко используется для изучения различных типов опухолей. Линия является фенотипически безволосой также вследствие мутации в гене *FOXN1*. Животные были получены из филиала «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА (Московская область).

В работе использовали мышиную метастазирующую в легкие меланому B16/F10 и карциному Льюиса (карцинома легких LLC), полученные из РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (г. Москва).

Животные были распределены на группы: интактные мыши BALB/c Nude (7 шт.); 2 контрольные группы – мыши со стандартной подкожной перевивкой меланомы B16/F10 (7 шт.), мыши с подкожной перевивкой карциномы Льюиса (7 шт.); основная группа – животные с сочетанной перевивкой карциномы Льюиса и меланомы B16/F10 (7 шт.) (ПМЗО).

Самкам мышей линии BALB/c Nude под кожу спины чуть ниже правой лопатки вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток мышинной меланомы B16/F10 в физиологическом растворе в разведении 1:20, с другой стороны чуть ниже левой лопатки подкожно вводили 0,5 мл опухолевой взвеси LLC, содержащей 0,5 млн опухолевых клеток.

Для исследования через 10 дней роста опухолей проводили забой животных, на льду выделяли первичную опухоль, ее перифокальную зону, кожу, не пораженную злокачественным процессом. Из тканей получали 1 % цитозольные фракции, приготовленные на 0,1 М калий-фосфатном буфере pH 7.4, содержащем 0,1 % Твин-20 и 1 % БСА. Методом ИФА в го-

могенатах тканей определяли содержание свободной формы тестостерона (Тсв.), эстрогена (Е1), пролактина (ПРЛ), рецепторов эстрогенов – RE α и RE β , рецепторов андрогенов (RA) и рецепторов прогестерона (RP4) (Cassabio, Китай).

Статистическую обработку полученных результатов проводили на персональном компьютере посредством программы Statistica 10.0 с использованием параметрического критерия Стьюдента и непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Динамика роста опухоли и продолжительность жизни животных при B16/F10 и LLC в самостоятельном варианте не имели достоверных отличий (табл. 1). При сочетанном варианте меланома имела более агрессивный характер роста по сравнению с самостоятельным: на 15-е сут она была в 2,8 раза больше, на 22-е – в 1,8 раза ($p < 0,05$). LLC при сочетанном варианте, напротив, имела меньший объем, чем при самостоятельном: на 15-е сут – в 2,2 раза, на 22-е – в 2,3 раза.

Таблица 1
Table 1

Объем опухолей и продолжительность жизни мышей с ПМЗО

Tumor volumes and life span of nude mice with MPMTs

Объект исследования Study object	Меланома B16/F10, n=7 B16/F10 melanoma, n=7	Карцинома Льюиса, n=7 Lewis lung carcinoma, n=7	ПМЗО, n=7 MPMT, n=7	
			Меланома B16/F10 B16/F10 melanoma	Карцинома Льюиса Lewis lung carcinoma
Объем опухолей на 15-е сут, см ³ Tumor volume, Day 15, cm ³	0,82±0,22	0,94±0,13	2,31±0,54 p ¹ =0,000000	0,42±0,11 p ¹ =0,000000 p ² =0,000000 p ³ =0,000000
Объем опухолей на 22-е сут, см ³ Tumor volume, Day 22, cm ³	3,90±0,86	4,74±0,80	6,89±0,94 p ¹ =0,000000	2,03±0,21 p ¹ =0,000000 p ² =0,000000 p ³ =0,000000
Продолжительность жизни, сут Life span, days	26,00±0,58	28,67±0,33	22,67±0,88 p ¹ =0,005356 p ² =0,000007	

Примечание. p¹ – значимость отличий по сравнению с изолированным ростом меланомы, p² – значимость отличий по сравнению с изолированным ростом карциномы Льюиса, p³ – значимость отличий карциномы Льюиса от меланомы в модели ПМЗО.

Note. p¹ – the differences are significant compared with isolated melanoma growth, p² – the differences are significant compared with isolated Lewis lung carcinoma growth, p³ – the differences between Lewis lung carcinoma and MPMT-modelled melanoma are significant.

Изучение гормонов и рецепторов в ткани меланомы B16/F10 самок при различных вариантах роста показало более высокий уровень E1 (в 2,2 раза) в ткани опухоли при самостоятельном варианте роста по сравнению с сочетанным (табл. 2). При этом уровень Тсв. и ПРЛ оказались ниже – в 1,5 ($p < 0,05$) и 2,2 раза соответственно. Уровни рецепторов гормонов в ткани меланомы B16/F10 самок не имели достоверных различий при разных вариантах роста опухоли. В перифокальной зоне опухоли при самостоятельном варианте роста меланомы уровень E1 был выше в 8,8 раза, чем при сочетанном, уровень ПРЛ и Тсв., напротив,

в 2,3 и 1,5 раза ниже. При этом уровни рецепторов гормонов RE α и RE β не имели значимых отличий в зависимости от варианта роста меланомы, а уровни RA и RP4 при самостоятельном варианте были в 2,2 и 2,5 раза выше.

Поскольку меланома является злокачественным новообразованием кожи, мы изучили не пораженную процессом кожу самок мышей при различных вариантах роста. Показатели в ткани непораженной кожи при различных вариантах роста меланомы сравнили не только между собой, но и со значениями в ткани кожи интактной группы (табл. 2).

Таблица 2
Table 2

Содержание гормонов и рецепторов в опухоли, перифокальной зоне и коже при росте меланомы B16/F10 в самостоятельном и сочетанном с LLC вариантах у самок мышей

Levels of hormones and receptors in the tumor, peritumoral area and skin in female mice with B16/F10 and B16/F10+LLC

Показатели Parameters	Кожа Skin			B16/F10		B16/F10+LLC	
	Интактная Intact	B16/F10	B16/F10+ LLC	Опухоль Tumor	Перифокальная зона Peritumoral area	Опухоль B16/f10 B16/f10 tumor	Перифокальная зона B16/F10 B16/F10 peritumoral area
E1, пг/г тк. E1, pg/g of tissue	66,2±7,1	1692,8±153,8 P ¹ =0,000000	561,5±49,3 P ¹ =0,000000 P ² =0,000000	213,1±23,2	517,3±51,1	95,0±8,4 P ² =0,000000	59,1±6,3 P ² =0,000000
Тсв., пг/г тк. Tf, pg/g of tissue	0,2±0,02	0,3±0,046 P ¹ =0,000001	0,4±0,055 P ¹ =0,000000	0,2±0,02	0,2±0,019	0,3±0,031 P ² =0,000000	0,3±0,033 P ² =0,000000
ПРЛ, нг/г тк. PRL, ng/g of tissue	1,3±0,16	0,6±0,07 P ¹ =0,000000	6,1±0,5 P ¹ =0,000000 P ² =0,000000	1,6±0,17	3,2±0,35	3,5±0,42 P ² =0,000000	7,2±0,8 P ² =0,000000
RE α , нг/г тк. RE α , ng/g of tissue	2,2±0,26	4,4±0,5 P ¹ =0,000000	4,8±0,53 P ¹ =0,000000	3,4±0,37	7,1±0,7	3,2±0,35	6,6±0,8
RE β , нг/г тк. RE β , ng/g of tissue	2,1±0,23	4,1±0,42 P ¹ =0,000000	5,7±0,6 P ¹ =0,000000 P ² =0,000000	3,6±0,48	6,2±0,68	4,4±0,4	7,6±0,7
RA, нг/г тк. RA, ng/g of tissue	0,2±0,021	1,6±0,18 P ¹ =0,000000	1,0±0,1 P ¹ =0,000000 P ² =0,000033	0,6±0,07	2,4±0,26	0,5±0,043	1,1±0,1 P ² =0,000000
RP4, нг/г тк. RP4, ng/g of tissue	0,2±0,019	1,6±0,14 P ¹ =0,000000	2,9±0,3 P ¹ =0,000000 P ² =0,000000	0,9±0,085	2,7±0,3	1,0±0,09	1,1±0,09 P ² =0,000000

Примечание. Статистически значимые различия по отношению: p¹ – к показателю в интактной коже; p² – к показателю при самостоятельном варианте роста опухоли.

Note. p¹ – the differences are statistically significant compared with the index in the intact skin; p² – the differences are significant compared with the isolated tumor growth variant.

Было установлено, что уровень E1 превышал показатели в ткани интактной кожи при самостоятельном варианте роста опухоли в 25,6 раза, а при сочетанном варианте – в 8,5 раза, при этом уровень E1 в ткани кожи, не пораженной опухолевым процессом, при одиночном варианте роста опухоли был в 3 раза выше, чем при сочетанном варианте. Уровень Тсв. при одиночном варианте роста опухоли превышал показатели в ткани интактной кожи в 1,5 раза ($p<0,05$), при сочетанном варианте – в 2 раза и не имел достоверных отличий при различных вариантах роста меланомы. Уровень ПРЛ при одиночном варианте роста опухоли был в 2,2 раза ниже показателя в ткани интактной кожи, а при сочетанном варианте уровень гормона превышал показатели в ткани интактной кожи и ткани кожи при одиночном варианте роста в 4,7 и 10,2 раза соответственно. Уровень всех рецепторов гормонов в

незатронутой ткани при различных вариантах роста меланомы был выше, чем в ткани интактной кожи: RE α при одиночном росте меланомы – в 2 раза, при сочетанном варианте – в 2,2 раза; RE β – в 2 и 2,7 раза соответственно; RA – в 8 и 5 раз соответственно; RP4 – в 8 и 14,5 раза соответственно. При этом уровень RA в ткани кожи при одиночном варианте роста меланомы был выше, чем при сочетанном, в 1,6 раза ($p<0,05$), уровни RE β и RP4 были ниже в 1,4 ($p<0,05$) и 1,8 раза ($p<0,05$) соответственно, а уровни RE α не имели достоверных отличий.

Изучение гормонов и рецепторов в опухоли и перифокальной зоне LLC у самок при различных вариантах роста показало более высокий уровень E1 (в 3,3 раза, $p<0,05$), RE α (в 1,7 раза, $p<0,05$), RE β (в 1,4 раза, $p<0,05$) и RP4 (в 3 раза, $p<0,05$) в ткани опухоли при самостоятельном варианте роста (табл. 3).

Таблица 3
Table 3

Содержание гормонов и рецепторов в опухоли и перифокальной зоне LLC при самостоятельном и сочетанном с меланомой вариантах роста

Levels of hormones and receptors in the tumor and peritumoral area in female mice with LLC and B16/F10+LLC

Показатели Parameters	LLC		B16/F10+LLC	
	Опухоль Tumor	Перифокальная зона Peritumoral area	Опухоль LLC LLC tumor	Перифокальная зона LLC LLC peritumoral area
E1, пг/г тк. E1, pg/g of tissue	171,1 \pm 21,4	517,0 \pm 48,5	51,8 \pm 5,3 $p^1=0,000000$	55,9 \pm 4,6 $p^1=0,000000$
ТСТ, св. пг/г тк. Tf, pg/g of tissue	0,2 \pm 0,018	0,2 \pm 0,016	0,3 \pm 0,027 $p^1=0,000000$	0,2 \pm 0,018
ПРЛ, нг/г тк. PRL, ng/g of tissue	3,0 \pm 0,031	12,5 \pm 1,4	3,7 \pm 0,4	1,6 \pm 0,18 $p^1=0,000000$
RE α , нг/г тк. RE α , ng/g of tissue	2,2 \pm 0,25	10,3 \pm 1,4	1,3 \pm 0,15 $p^1=0,000002$	5,4 \pm 0,6 $p^1=0,000000$
RE β , нг/г тк. RE β , ng/g of tissue	4,6 \pm 0,53	12,3 \pm 1,5	3,4 \pm 0,3 $p^1=0,000007$	7,4 \pm 0,6 $p^1=0,000000$
RA, нг/г тк. RA, ng/g of tissue	0,3 \pm 0,03	2,5 \pm 0,3	0,3 \pm 0,026	1,7 \pm 0,2 $p^1=0,000012$
RP4, нг/г тк. RP4, ng/g of tissue	0,3 \pm 0,032	3,7 \pm 0,39	0,1 \pm 0,008 $p^1=0,000000$	1,7 \pm 0,19 $p^1=0,000000$

Примечание. p^1 – статистически значимые различия по отношению к показателю при самостоятельном варианте роста опухоли.

Note. p^1 – the differences are significant compared with the isolated tumor growth variant.

При этом уровень Тсв. оказался ниже в 1,5 раза ($p < 0,05$), а уровни ПРЛ и RA не имели значимых отличий.

В перифокальной зоне опухоли при самостоятельном варианте роста LLC уровень E1 был выше в 9,2 раза, чем при сочетанном, уровень ПРЛ – в 7,8 раза, а показатели Тсв. не имели достоверных отличий. При этом уровень всех рецепторов гормонов при самостоятельном варианте был выше, чем при сочетанном: RE α – в 1,9 раза ($p < 0,05$), RE β – в 1,7 раза ($p < 0,05$), RA – в 1,5 раза ($p < 0,05$) и RP4 – в 2,2 раза ($p < 0,05$).

Обсуждение. Ранее нами было показано, что коморбидная патология может менять характер развития злокачественного процесса в эксперименте [16]. Одним из возможных путей активации роста меланомы B16/F10 и угнетения карциномы Льюиса у самок мышей линии BALB/c Nude при ПМЗО может быть изменение в опухоли и перифокальной зоне гормонального и рецепторного баланса. Торможение роста LLC у самок мышей основной группы сопровождалось снижением уровня ПРЛ в перифокальной зоне карциномы, в то время как увеличение объемов меланомы сопровождалось повышением уровня ПРЛ как в опухоли, так и в перифокальной зоне и непораженной коже. В настоящее время пролактин рассматривается как многофункциональный полипептид, синтезирующийся не только в гипофизе, но и в различных периферических тканях, а также в опухолях и запускающий пути активации пролиферации, ангиогенеза, ответственного за иммунорегуляцию и дифференцировку клеток [17]. ПРЛ влияет на гомеостаз и метаболизм посредством регуляции ключевых ферментов и транспортеров, связанных с резистентностью к инсулину, гипертонией или коронарным синдромом [18]. Исследования на животных также показывают, что уровень пролактина повышается в ответ на различные стрессорные воздействия [19].

Учитывая тот факт, что органом-реципиентом меланомы B16/F10 является кожа, особый интерес представляли изменения исследованных в ней показателей при самостоятельном росте опухоли и при ПМЗО. Обращает на себя внимание значительная, более

чем в 100 раз, разница в содержании пролактина в коже при самостоятельном росте меланомы и при сочетанном с карциномой Льюиса. При этом резкое повышение уровня ПРЛ в коже при сочетанном процессе сопровождалось падением в ней содержания эстрогена, а низкие концентрации пролактина в коже мышей при самостоятельном росте меланомы сопровождалась высокими показателями E1. Ранее нами показано большое значение эстрогена в росте меланомы у мышей линии BL6/c6, высокий уровень которого определяли в опухоли, перифокальной зоне (по мере роста меланомы) и непораженной коже [13].

Также увеличение объемов меланомы B16/F10 характеризовалось повышением в непораженной коже уровня Тсв., ER β и RP4, сопровождающимся также высокими концентрациями Тсв. и ПРЛ в опухоли и перифокальной зоне. В то же время уменьшение объемов карциномы Льюиса у самок основной группы сопровождалось снижением концентрации рецепторов стероидных гормонов в опухоли и перифокальной зоне на фоне повышения только в карциноме Льюиса уровня Тсв.

Некоторые иммуногистохимические исследования показали, что в меланоцитарных невусах и злокачественных клетках меланомы присутствуют рецепторы эстрогенов – как RE β , так и RE α . Было показано, что подавление RE α находится под эпигенетическим контролем и, по-видимому, прямо пропорционально прогрессированию заболевания [20]. Напротив, экспрессия RE β обратно коррелирует с толщиной опухоли по Бреслоу – наиболее важным и независимым прогностическим маркером меланомы [21]. Суперсемейство ядерных рецепторов также включает рецептор андрогенов, состоящий из α - и β -изоформ, кодируемых геном, расположенным на X-хромосоме [22]. RA реагирует на андрогенные гормоны, используя те же геномный и негеномный пути, что и RE, и вызывая аналогичные эффекты [23]. Хотя экспрессия RA является менее изученной, чем экспрессия RE, она была оценена в нескольких клеточных линиях меланомы и в образцах метастазов человека, где были обнаружены высокие уровни рецепторов [24]. Что касается прогестерона, то на сегодняшний день идентифицированы различные

рецепторы, которые способны активировать как геномные, так и негеномные пути [22].

В исследовании нами установлено, что при самостоятельном росте меланомы B16/F10 и карциномы Льюиса у самок иммунодефицитных мышей BALB/c Nude перифокальные зоны содержали более высокие концентрации E1, ПРЛ и рецепторов всех изученных стероидных гормонов по сравнению с соответствующими им тканями опухолей. Это отличалось от ранее полученных нами результатов в эксперименте с мышами линии Black без нарушений в работе иммунной системы, когда у животных с перевивной меланомой B16/F10 именно опухоль содержала максимальные уровни E1 и рецепторов стероидных гормонов [13]. Предполагается, что эстрон может неблагоприятно воздействовать на организм человека как «эндокринный разрушитель», оказывая пролиферативное действие на клетки рака [25].

Снижение уровня эстрогена при ПМЗО может быть обусловлено высоким уровнем метаболизма данного эстрогена, а бурный рост опухоли предполагает метаболизм по направлению образования 16-OHE [26]. В этом случае повышение уровня рецепторов эстрогенов в коже и отсутствие изменения их концентрации в образцах меланомы (в отличие от снижения их уровня в опухолевой ткани карциномы Льюиса в основной группе) может сви-

детельствовать о длительной ковалентной связи, стимулирующей пролиферацию клеток [27].

Непораженная кожа при ПМЗО у самок мышей оказалась наиболее метаболически активной тканью, в которой поддерживалось наиболее высокое содержание не только эстрогена, тестостерона и пролактина, но и рецепторов стероидных гормонов, что, очевидно, благоприятствовало бурному росту меланомы.

Заключение. В настоящем исследовании показано, что в результате одновременного развития перевитых подкожно меланомы B16/F10 и карциномы Льюиса у самок мышей BALB/c Nude сокращалась продолжительность жизни на фоне увеличения объемов меланомы и сокращения первичных узлов карциномы. При этом у животных с ПМЗО в образцах опухолей резко снижался уровень эстрогена, но повышалось содержание тестостерона. Возможно, существенное увеличение объема меланомы связано с высоким содержанием пролактина и рецепторов половых стероидов в непораженной коже как источнике меланоцитов – клеток, из которых развивается данная опухоль. Малые размеры карциномы Льюиса у самок основной группы сопровождались снижением как в опухоли, так и в ее перифокальной зоне практически всех исследованных рецепторов и гормонов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Xu L.L., Gu K.S. Clinical retrospective analysis of cases with multiple primary malignant neoplasms. *Genet. Mol. Res.* 2014; 13 (4): 9271–9284.
2. Nyqvist J., Parris T.Z., Helou K., Sarenmalm E.K., Einbeigi Z., Karlsson P., Nasic S., Kovács A. Previously diagnosed multiple primary malignancies in patients with breast carcinoma in Western Sweden between 2007 and 2018. *Breast Cancer Res Treat.* 2020; 184 (1): 221–228.
3. De Luca A., Frusone F., Vergine M., Cocchiara R., La Torre G., Ballesio L., Monti M., Amabile M.I. Breast cancer and multiple primary malignant tumors: case report and review of the literature. *In vivo.* 2019; 33 (4): 1313–1324.
4. Zhong Y., Sun Y., Kuai Y., Fu G., An H., Chen J., Zhu J., Wo Y., Wu Y., Song K., Xu Q., Wu D., Huang D., Wang Q., Pan H. Gene expression profiling for the diagnosis of multiple primary malignant tumors. *Cancer Cell Int.* 2021; 21 (1): 47.
5. Ly M., Zhang X., Shen Y., Wang F., Yang J., Wang B., Yang J. Clinical analysis and prognosis of synchronous and metachronous multiple primary malignant tumors. *Medicine.* 2017; 96 (17): e6799.
6. Thaventhiran J., Lango Allen H., Burren O.S., Rae W., Greene D., Staples E., Zhang Z., Farmery J., Simeoni I., Rivers E., Maimaris J., Penkett C.J., Stephens J., Deevi S., Sanchis-Juan A., Gleadall N.S., Thomas M.J., Sargur R.B., Gordins P., Baxendale H.E., Smith K. Whole-genome sequencing of a sporadic primary immunodeficiency cohort. *Nature.* 2020; 583 (7814): 90–95.

7. Bousfiha A., Jeddane L., Picard C., Ailal F., Bobby Gaspar H., Al-Herz W., Chatila T., Crow Y.J., Cunningham-Rundles C., Etzioni A., Franco J.L., Holland S.M., Klein C., Morio T., Ochs H.D., Oksenhendler E., Puck J., Tang M.L.K., Tangye S.G., Torgerson T.R., Casanova J.L., Sullivan K.E. The 2017 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J. Clin. Immunol.* 2018; 38: 129–143.
8. Mastio J., Saeed M.B., Wurzer H., Krecke M., Westerber L.S., Thomas C. Higher Incidence of B Cell Malignancies in Primary Immunodeficiencies: A Combination of Intrinsic Genomic Instability and Exocytosis Defects at the Immunological Synapse. *Frontiers in immunology.* 2020; 11: 581119.
9. Mayor P.C., Eng K.H., Singel K.L., Abrams S., Odunsi K., Moysich K.B., Fuleihan R., Garabedian E., Lugar P., Ochs H.D., Bonilla F.A., Buckley R.H., Sullivan K.E., Ballas Z.K., Cunningham-Rundles C., Segal B.H. Cancer in primary immunodeficiency diseases: Cancer incidence in the United States Immune Deficiency Network Registry. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018; 141 (3): 1028–1035.
10. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К., Андропова Н.В., Гарин А.М. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. Москва: Гриф и К; 2012: 642–657.
11. Kelland L.R. «Of mice and men»: values and liabilities of the athymic nude mouse model in anticancer drug development. *Eur. J. Cancer.* 2004; 40 (6): 827–836.
12. Кит О.И. Нейроэндокринные, клинические и морфологические аспекты рака желудка. Новочеркасск; 2014.
13. Бандовкина В.А., Франциянц Е.М., Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д. Особенности стероидогенеза в опухоли и окружающих тканях при экспериментальной меланоме В16. *Молекулярная медицина.* 2015; 5: 47–51.
14. Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Бандовкина В.А., Сурикова Е.И., Нескубина И.В., Трпятаки Л.К., Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д., Шейко Е.А., Котиева И.М., Шумарин К.А. Моделирование первично-множественных злокачественных опухолей в эксперименте. *Южно-Российский онкологический журнал.* 2022; 3 (2): 14–21.
15. Сидоренко Ю.С., Франциянц Е.М., Комарова Е.Ф., Погорелова Ю.А., Шихлярова А.И. Патент РФ № 2375758 С1; 2009.
16. Кит О.И., Котиева И.М., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трпятаки Л.К., Бандовкина В.А., Нескубина И.В., Сурикова Е.И., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А., Немашкалова Л.А. Влияние хронической нейропатической боли на течение злокачественного процесса меланомы в16/f10 у самцов мышей. *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки.* 2019; 1 (201): 106–111.
17. Auriemma R.S., Del Vecchio G Scairati R., Pirchio R., Liccardi A., Verde N., Cristina de Angelis, Davide Menafra, Claudia Pivonello, Alessandro Conforti, Carlo Alviggi, Rosario Pivonello, Annamaria Colao. The Interplay Between Prolactin and Reproductive System: Focus on Uterine Pathophysiology. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020; 11: 594370.
18. Yang H., Lin J., Li H., Liu Z., Chen X., Chen Q. Prolactin Is Associated With Insulin Resistance and Beta-Cell Dysfunction in Infertile Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021; 12: 571229.
19. Studerus E., Ittig S., Beck K., Del Cacho N., Vila-Badia R., Butjosa A., Usall J., Riecher-Rössler A. Relation between self-perceived stress, psychopathological symptoms and the stress hormone prolactin in emerging psychosis. *J. Psychiatr. Res.* 2021; 136: 428–434.
20. Bellenghi M., Puglisi R., Pontecorvi G., De Feo A., Carè A., Mattia G. Sex and Gender Disparities in Melanoma. *Cancers.* 2020; 12 (7): 1819.
21. De Giorgi V., Gori A., Gandini S., Papi F., Grazzini M., Rossari S., Simoni A., Maio V., Massi D. Oestrogen receptor beta and melanoma: A comparative study. *Br. J. Dermatol.* 2013; 168: 513–519.
22. Contrò V., Basile J.R., Proia P. Sex steroid hormone receptors, their ligands, and nuclear and non-nuclear pathways. *AIMS Mol. Sci.* 2015; 2: 294–310.
23. Mitkov M., Joseph R., Copland J. III Steroid hormone influence on melanomagenesis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2015; 417: 94–102.
24. Morvillo V., Lüthy I.A., Bravo A.I., Capurro M.I., Portela P., Calandra R.S., Mordoh J. Androgen receptors in human melanoma cell lines IIB-MEL-LES and IIB-MEL-IAN and in human melanoma metastases. *Melanoma Res.* 2002; 12: 529–538.

25. Xu S., Sun J., Zhang Y., Ji J., Sun X. Opposite estrogen effects of estrone and 2-hydroxyestrone on MCF-7 sensitivity to the cytotoxic action of cell growth, oxidative stress and inflammation activity. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2021; 209: 111754.
26. Sawicka E., Saczko J., Roik J., Kulbacka J., Piwowar A. Effect of Interaction between 17 β -Estradiol, 2-Methoxyestradiol and 16 α -Hydroxyestrone with Chromium (VI) on Ovary Cancer Line SKOV-3. *Preliminary Study Molecules.* 2020; 25 (21): 5214.
27. Xu Q., Chen J., Wei Z., Brandon T., Zava D., Shi Y., Cao Y. Sex Hormone Metabolism and Threatened. *Abortion Med. Sci. Monit.* 2017; 23: 5041–5048.

Поступила в редакцию 06.07.2022; принята 13.08.2022.

Авторский коллектив

Франциянц Елена Михайловна – доктор биологических наук, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63; e-mail: super.gormon@ya.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>.

Бандовкина Валерия Ахтямовна – доктор биологических наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63; e-mail: valeryana@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>.

Каплиева Ирина Викторовна – доктор медицинских наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63; e-mail: kaplirina@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>.

Сурикова Екатерина Игоревна – кандидат биологических наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63; e-mail: sunsur2000@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>.

Шлык Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 344022, Россия, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29; e-mail: shlyk_sw@rostgmu.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3070-8424>.

Нескубина Ирина Валерьевна – кандидат биологических наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63; e-mail: neskubina.irina@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>.

Погорелова Юлия Александровна – кандидат биологических наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63; e-mail: flora-73@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2674-9832>.

Трепитаки Лидия Константиновна – младший научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63; e-mail: legolab69@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>.

Котиева Инга Мовлиевна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 344022, Россия, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29; e-mail: kukulik70@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2796-9466>.

Шумарин Константин Александрович – аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63; e-mail: super.gormon@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4362-9303>.

Образец цитирования

Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Сурикова Е.И., Шлык С.В., Нескубина И.В., Погорелова Ю.А., Трепитакки Л.К., Котиева И.М., Шумарин К.А. Особенности содержания некоторых гормонов и рецепторов в опухоли и перитуморальной зоне у самок мышей BALB/c Nude с первично-множественным злокачественным процессом, развивающимся на фоне первичного иммунодефицита. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 129–141. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-129-141.

LEVELS OF CERTAIN HORMONES AND RECEPTORS IN TUMOR AND PERITUMORAL AREA IN BALB/C NUDE FEMALE MICE WITH MULTIPLE PRIMARY MALIGNANT PROCESS DEVELOPING ON THE BACKGROUND OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCY

Е.М. Frantsiyants¹, В.А. Bandovkina¹, И.В. Kaplieva¹, Е.И. Surikova¹, С.В. Shlyk², И.В. Neskubina¹, Ю.А. Pogorelova¹, Л.К. Trepitaki¹, И.М. Kotieva², К.А. Shumarin¹

¹ National Medical Research Center for Oncology, Rostov-on-Don, Russia;

² Rostov State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, Russia

Primary immunodeficiency is one of the reasons for the development of primary multiple malignant tumors. The aim of the study is to examine the levels of certain hormones and their receptors in the tissue and peritumoral area of B16/F10 melanoma and Lewis lung carcinoma (LLC) in case of isolated and combined subcutaneous growth in female mice with T-cell immunodeficiency.

Materials and Methods. BALB/c Nude mice were divided into groups: intact group; 2 control groups (Group 1 with B16/F10 subcutaneous inoculation, Group 2 with LLC subcutaneous inoculation); main group (animals with LLC+B16/F10 inoculation). The ELISA method was used to determine the levels of free testosterone (Tf), estrone (E1), prolactin (PRL), estrogen receptors (RE α and RE β), androgen receptors (RA) and progesterone receptors (RP4) (Cassabio, China). Statistical processing of the obtained results was carried out on a personal computer using STATISTICA 10.0, parametric Student's test and nonparametric Wilcoxon-Mann-Whitney test.

Results. In the main group, life expectancy reduced due to melanoma growth by 1.8 times and LLC decrease by 2.3 times. In animals with LLC+B16/F10, compared to those with an only one tumor growth variant, estrone level in tumors decreased, but free testosterone level increased. Melanoma growth in animals with LLC+B16/F10 was accompanied by an increase in prolactin level and some sex steroid receptors in the tumor tissue, its peritumoral area, and skin not affected by the malignant process. A decrease of Lewis carcinoma in females of the main group was accompanied by a decrease of all the studied receptors and hormones both in the tumor and its peritumoral area.

Conclusions. Melanoma growth is probably associated with a high prolactin level and sex steroid receptors in unaffected skin, being a source of melanocytes, the cells from which this tumor develops.

Key words: B16/F10 melanoma, Lewis lung carcinoma (LLC), multiple primary malignant tumors (MPMT), BALB/c Nude mice.

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

References

1. Xu L.L., Gu K.S. Clinical retrospective analysis of cases with multiple primary malignant neoplasms. *Genet. Mol. Res.* 2014; 13 (4): 9271–9284.
2. Nyqvist J., Parris T.Z., Helou K., Sarenmalm E.K., Einbeigi Z., Karlsson P., Nasic S., Kovács A. Previously diagnosed multiple primary malignancies in patients with breast carcinoma in Western Sweden between 2007 and 2018. *Breast Cancer Res Treat.* 2020; 184 (1): 221–228.
3. De Luca A., Frusone F., Vergine M., Cocchiara R., La Torre G., Ballesio L., Monti M., Amabile M.I. Breast cancer and multiple primary malignant tumors: case report and review of the literature. *In vivo.* 2019; 33 (4): 1313–1324.

4. Zheng Y., Sun Y., Kuai Y., Fu G., An H., Chen J., Zhu J., Wo Y., Wu Y., Song K., Xu Q., Wu D., Huang D., Wang Q., Pan H. Gene expression profiling for the diagnosis of multiple primary malignant tumors. *Cancer Cell Int.* 2021; 21 (1): 47.
5. Ly M., Zhang X., Shen Y., Wang F., Yang J., Wang B., Yang J. Clinical analysis and prognosis of synchronous and metachronous multiple primary malignant tumors. *Medicine.* 2017; 96 (17): e6799.
6. Thaventhiran J., Lango Allen H., Burren O.S., Rae W., Greene D., Staples E., Zhang Z., Farmery J., Simeoni I., Rivers E., Maimaris J., Penkett C.J., Stephens J., Deevi S., Sanchis-Juan A., Gleadall N.S., Thomas M.J., Sargur R.B., Gordins P., Baxendale H.E., Smith K. Whole-genome sequencing of a sporadic primary immunodeficiency cohort. *Nature.* 2020; 583 (7814): 90–95.
7. Bousfiha A., Jeddane L., Picard C., Ailal F., Bobby Gaspar H., Al-Herz W., Chatila T., Crow Y.J., Cunningham-Rundles C., Etzioni A., Franco J.L., Holland S.M., Klein C., Morio T., Ochs H.D., Oksenhendler E., Puck J., Tang M.L.K., Tangye S.G., Torgerson T.R., Casanova J.L., Sullivan K.E. The 2017 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J. Clin. Immunol.* 2018; 38: 129–143.
8. Mastio J., Saeed M.B., Wurzer H., Krecke M., Westerber L.S., Thomas C. Higher Incidence of B Cell Malignancies in Primary Immunodeficiencies: A Combination of Intrinsic Genomic Instability and Exocytosis Defects at the Immunological Synapse. *Frontiers in immunology.* 2020; 11: 581119.
9. Mayor P.C., Eng K.H., Singel K.L., Abrams S., Odunsi K., Moysich K.B., Fuleihan R., Garabedian E., Lugar P., Ochs H.D., Bonilla F.A., Buckley R.H., Sullivan K.E., Ballas Z.K., Cunningham-Rundles C., Segal B.H. Cancer in primary immunodeficiency diseases: Cancer incidence in the United States Immune Deficiency Network Registry. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018; 141 (3): 1028–1035.
10. Treshchalina E.M., Zhukova O.S., Gerasimova G.K., Andronova N.V., Garin A.M. Metodicheskie rekomendatsii po doklinicheskomu izucheniyu protivopukhlevoy aktivnosti lekarstvennykh sredstv [Guidelines for preclinical study of drug antitumor activity]. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv.* Ch. 1. Moscow: Grif i K; 2012: 642–657 (in Russian).
11. Kelland L.R. «Of mice and men»: values and liabilities of the athymic nude mouse model in anticancer drug development. *Eur. J. Cancer.* 2004; 40 (6): 827–836.
12. Kit O.I. *Neyroendokrinnye, klinicheskie i morfologicheskie aspekty raka zheludka* [Neuroendocrinal, clinical and morphological aspects of stomach cancer]. Novocherkassk; 2014 (in Russian).
13. Bandovkina V.A., Frantsiyants E.M., Pogorelova Yu.A., Cheryarina N.D. Osobennosti steroidogeneza v opukholi i okruzhayushchikh tkanyakh pri eksperimental'noy melanome B16 [Characteristics of steroidogenesis in the tumor and surrounding tissues in experimental B16 melanoma]. *Molekulyarnaya meditsina.* 2015; 5: 47–51 (in Russian).
14. Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Bandovkina V.A., Surikova E.I., Neskubina I.V., Tripitaki L.K., Pogorelova Yu.A., Cheryarina N.D., Sheyko E.A., Kotieva I.M., Shumarin K.A. Modelirovanie pervichno-mnozhestvennykh zlokachestvennykh opukhley v eksperimente [Modeling of multiple primary malignant tumors in experiment]. *Yuzhno-Rossiyskiy onkologicheskii zhurnal.* 2022; 3 (2): 14–21 (in Russian).
15. Sidorenko Yu.S., Frantsiyants E.M., Komarova E.F., Pogorelova Yu.A., Shikhlyarova A.I. *Patent RF № 2375758 C1*; 2009 (in Russian).
16. Kit O.I., Kotieva I.M., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Bandovkina V.A., Neskubina I.V., Surikova E.I., Cheryarina N.D., Pogorelova Yu.A., Nemashkalova L.A. Vliyanie khronicheskoy neyropaticheskoy boli na techenie zlokachestvennogo protsesssa melanomy B16/f10 u samtsov myshey [Influence of chronic neuropathic pain on the course of malignant B16/f10 melanoma in male mice]. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Severo-Kavkazskiy region. Seriya: Estestvennyye nauki.* 2019; 1 (201): 106–111 (in Russian).
17. Auriemma R.S., Del Vecchio G Sciarati R., Pirchio R., Liccardi A., Verde N., Cristina de Angelis, Davide Menafrà, Claudia Pivonello, Alessandro Conforti, Carlo Alviggi, Rosario Pivonello, Annamaria Colao. The Interplay Between Prolactin and Reproductive System: Focus on Uterine Pathophysiology. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020; 11: 594370.
18. Yang H., Lin J., Li H., Liu Z., Chen X., Chen Q. Prolactin Is Associated With Insulin Resistance and Beta-Cell Dysfunction in Infertile Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021; 12: 571229.
19. Studerus E., Ittig S., Beck K., Del Cacho N., Vila-Badia R., Butjosa A., Usall J., Riecher-Rössler A. Relation between self-perceived stress, psychopathological symptoms and the stress hormone prolactin in emerging psychosis. *J. Psychiatr. Res.* 2021; 136: 428–434.

20. Bellenghi M., Puglisi R., Pontecorvi G., De Feo A., Carè A., Mattia G. Sex and Gender Disparities in Melanoma. *Cancers*. 2020; 12 (7): 1819.
21. De Giorgi V., Gori A., Gandini S., Papi F., Grazzini M., Rossari S., Simoni A., Maio V., Massi D. Oestrogen receptor beta and melanoma: A comparative study. *Br. J. Dermatol.* 2013; 168: 513–519.
22. Contrò V., Basile J.R., Proia P. Sex steroid hormone receptors, their ligands, and nuclear and non-nuclear pathways. *AIMS Mol. Sci.* 2015; 2: 294–310.
23. Mitkov M., Joseph R., Copland J. III Steroid hormone influence on melanomagenesis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2015; 417: 94–102.
24. Morvillo V., Lüthy I.A., Bravo A.I., Capurro M.I., Portela P., Calandra R.S., Mordoh J. Androgen receptors in human melanoma cell lines IIB-MEL-LES and IIB-MEL-IAN and in human melanoma metastases. *Melanoma Res.* 2002; 12: 529–538.
25. Xu S., Sun J., Zhang Y., Ji J., Sun X. Opposite estrogen effects of estrone and 2-hydroxyestrone on MCF-7 sensitivity to the cytotoxic action of cell growth, oxidative stress and inflammation activity. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2021; 209: 111754.
26. Sawicka E., Saczko J., Roik J., Kulbacka J., Piwowar A. Effect of Interaction between 17 β -Estradiol, 2-Methoxyestradiol and 16 α -Hydroxyestrone with Chromium (VI) on Ovary Cancer Line SKOV-3. *Preliminary Study Molecules*. 2020; 25 (21): 5214.
27. Xu Q., Chen J., Wei Z., Brandon T., Zava D., Shi Y., Cao Y. Sex Hormone Metabolism and Threatened. *Abortion Med. Sci. Monit.* 2017; 23: 5041–5048.

Received 6 July 2022; accepted 13 August 2022.

Information about the authors

Frantsiyants Elena Mikhaylovna, Doctor of Sciences (Biology), Professor, National Medical Research Center for Oncology. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14 Liniya St., 63; e-mail: super.gormon@ya.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>.

Bandovkina Valeriya Akhtyamovna, Doctor of Sciences (Biology), National Medical Research Center for Oncology. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14 Liniya St., 63; e-mail: valerryana@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>.

Kaplieva Irina Viktorovna, Doctor of Sciences (Medicine), National Medical Research Center for Oncology. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14 Liniya St., 63; e-mail: kaplirina@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>.

Surikova Ekaterina Igorevna, Candidate of Sciences (Biology), National Medical Research Center for Oncology. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14 Liniya St., 63; e-mail: sunsur2000@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>.

Shlyk Sergey Vladimirovich, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Rostov State Medical University. 344022, Russia, Rostov-on-Don, Nakhichevansky LN, 29; e-mail: shlyk_sw@rostgmu.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3070-8424>.

Neskubina Irina Valer'evna, Candidate of Sciences (Biology), National Medical Research Center for Oncology. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14 Liniya St., 63; e-mail: neskubina.irina@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-7395-3086>.

Pogorelova Yuliya Aleksandrovna, Candidate of Sciences (Biology), National Medical Research Center for Oncology. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14 Liniya St., 63; e-mail: flora-73@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2674-9832>.

Trepitaki Lidiya Konstantinovna, Junior Researcher, National Medical Research Center for Oncology. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14 Liniya St., 63; e-mail: legolab69@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>.

Kotieva Inga Movlievna, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Rostov State Medical University. 344022, Russia, Rostov-on-Don, Nakhichevansky LN, 29; e-mail: kukulik70@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2796-9466>.

Shumarin Konstantin Aleksandrovich, Post-graduate Student, National Medical Research Center for Oncology. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 63 Liniya St., 14; e-mail: super.gormon@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4362-9303>.

For citation

Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Surikova E.I., Shlyk S.V., Neskubina I.V., Pogorelova Yu.A., Trepitaki L.K., Kotieva I.M., Shumarin K.A. Osobennosti sodержaniya nekotorykh gormonov i retseptorov v opukholy i perifokal'noy zone u samok myshey BALB/c Nude s pervichno-mnozhestvennym zlokachestvennym protsessom, razvivayushchimsya na fone pervichnogo immunodefitsita [Levels of certain hormones and receptors in tumor and peritumoral area in BALB/C Nude female mice with multiple primary malignant process developing on the background of primary immunodeficiency]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskiy zhurnal*. 2022; 3: 129–141. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-129-141 (in Russian).

УДК 616-006.6:615.849.015.46:577.21
DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-142-155

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ И СЕТЕЙ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ НА РАЗВИТИЕ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Е.С. Погодина, Е.В. Расторгуева, Е.В. Юрова, Е.А. Белобородов, Д.Е. Сугак,
Ю.В. Саенко, А.Н. Фомин, М.А. Волков, Б.М. Костишко

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

Несмотря на свои успехи радиационная терапия сталкивается с проблемами ускоренной репродукции опухолевых клеток и радиорезистентности злокачественных новообразований.

Цель исследования заключалась в анализе влияния уровня экспрессии генов и сетей межмолекулярных взаимодействий на развитие радиорезистентности опухолевых клеток.

Материалы и методы. Использовали 4 опухолевые клеточные линии: K562, НСТ-116р53 (+/+), НСТ-116р53 (-/-) и Me45. Для исследования транскриптома выбранных клеточных линий применяли гибридационные ДНК-чипы высокой плотности Affymetrix серии HGU133A. Биоинформационный анализ динамики экспрессии генов проводили с помощью оригинальной программы Gene Selector. Изучение сетей межмолекулярных взаимодействий выполняли с использованием онлайн-системы STRING.

Результаты. Установлено, что уровень экспрессии генов DAAM1, IFNAR2, PALLD и STK17A после воздействия ионизирующего излучения в дозе 4 Гр возрастает в клеточной линии K562 и снижается в НСТ-116р53 (+/+), НСТ-116р53 (-/-) и Me45. При использовании онлайн-системы STRING обнаружены многочисленные комплексы белков исследуемых генов. Из этого следует, что гены DAAM1, IFNAR2, PALLD и STK17A способны оказывать воздействие на деятельность некоторых участников сети межмолекулярных взаимодействий. Отобранные гены DAAM1, IFNAR2, PALLD и STK17A и белок-белковые комплексы, кодируемые данными генами: DAAM1, TNK2, PTBP2 и DVL2; IFNAR2, STAT2, IRF9, JAK1, GNB2L1 и IFNAR1; PALLD, LPP и ACTN2 – можно использовать в качестве потенциальных мишеней, модуляция которых позволит увеличить ответ клеток злокачественных новообразований на воздействие ионизирующего излучения.

Ключевые слова: злокачественная опухоль, экспрессия генов, радиорезистентность опухолевых клеток, ионизирующее излучение, белок-белковое взаимодействие.

Введение. Ежегодно в мире насчитывают более 14 млн случаев заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований, и в последующие десятилетия их количество предположительно увеличится до 22 млн [1]. Доказано, что из всех методов терапии злокачественных опухолей менее тяжелыми последствиями характеризуется радиационная терапия. В радиационной терапии используется ионизирующее излучение (ИИ) для преобразования молекул воды опухолевых клеток в пероксид-радикалы, способные разрушать внутриклеточные структуры, главным образом ДНК клетки [2]. Низкая выживаемость опухолевых клеток также связана с мутациями, которые возникают под влиянием ИИ. Однако, несмотря на успехи, радиацион-

ная терапия сталкивается с проблемами ускоренной репродукции опухолевых клеток и радиорезистентности злокачественных новообразований [3].

Доказано, что радиостойчивость клеток злокачественных опухолей формируется на разных уровнях воздействия на клетку и на каждом из них активируются различные молекулы [4]. Такой процесс, как правило, приводит к блокированию некоторых внутриклеточных процессов, нарушению контроля клеточного цикла и апоптозу [5]. В связи с этим некоторые специалисты представляют канцерогенез как хронический стресс, а радиостойчивость клеток опухолей связывают с гиперэкспрессией стрессовых белков, которая является реакцией клеток на стрессовое воз-

действие. Подтверждение этому обнаружено в исследованиях, проведенных на опухолевых клетках мышей: ИИ в дозе 6 Гр оказывало влияние на клетки опухоли и усиливало экспрессию стрессовых белков [6]. В других исследованиях показано, что увеличение количества некоторых белков позволяет защитить злокачественную опухоль от воздействия ИИ. Таким образом, одной из главных причин формирования радиорезистентности опухолевых клеток является измененная экспрессия генов [7].

Доказано [8], что на воздействие ИИ радиоустойчивые опухолевые клетки реагируют не напрямую. Между внешним стимулом и особым ответом опухолевых клеток имеется особый каскад сигнальных молекул. Его описывают как биохимический путь, который способен усилить или ослабить внутриклеточный сигнал и превратить его в форму, реализующую ответные реакции. Соответственно, важным условием развития устойчивости опухолевых клеток к ИИ, кроме активности некоторых генов, является изменение свойств и внутриклеточной концентрации белков. В данном случае имеется в виду их биохимическое взаимодействие и взаимосвязи, на основе которых осуществляется передача сигналов в клетке.

Таким образом, для понимания процесса развития резистентности опухолевых клеток к ИИ важно учитывать степень интенсивности экспрессии генов. Ее изучение имеет фундаментальное значение с точки зрения выявления определенных генов и практическое значение, которое заключается в увеличении ответа радиоустойчивых клеток опухоли на воздействие ИИ.

Цель исследования. Провести анализ влияния уровня экспрессии генов и сетей межмолекулярных взаимодействий на развитие радиорезистентности опухолевых клеток.

Материалы и методы. Использовали 4 линии опухолевых клеток: K562 – суспензионную линию человеческих эритролейкемических лимфобластоидных клеток; НСТ-116p53 (+/+) и НСТ-116p53 (-/-) – клеточные линии рака прямой кишки человека с нормальным и мутантным геном *TP53*; Me45 – клеточную линию меланомы человека. Культивирование клеток исследуемых линий проводили при стандартных условиях: в CO₂-инкубаторе

МСО-18AIC CO₂ (Helicon, Япония) при постоянной температуре 37 °С, 5 % CO₂ и 98 % влажности. Для поддержания жизнедеятельности использовали питательную среду DMEM/F12 («ПанЭко», Россия) без L-глутамина, с 10 % эмбриональной бычьей сывороткой и 5 мкг/мл гентамицина для линий НСТ-116p53 (+/+), НСТ-116p53 (-/-) и Me45 и среду RPMI-1640 («ПанЭко», Россия), содержащую L-глутамин, 10 % эмбриональную бычью сыворотку и 5 мкг/мл гентамицина, для линии K562. Через каждые 4 дня проводили замену питательной среды. В качестве источника излучения использовали цифровой линейный ускоритель Elekta Synergy (ELEKTA, Швеция). Облучение клеток ИИ проводили однократно в дозе 4 Гр. Клеточные линии подвергались облучению в ГУЗ Областной клинической онкологической диспансер г. Ульяновска.

Дифференцирование клетки с признаками апоптоза и некроза проводили с использованием комплекта V-FITC Apoptosis Kit (Invitrogen, США) методом проточной цитометрии. РНК выделяли с помощью набора для выделения РНК в соответствии с инструкцией производителя. Целостность выделенной РНК анализировали биоанализатором Agilent 2100 (Agilent Technologies, США). Библиотеку клонированных ДНК готовили с использованием комплекта Gene Chip Expression 3'-Amplification One – Cycle cDNA Synthesis Kit. Мечение биотином антисмысловых библиотек клонированных РНК и очистку выполняли с помощью набора Gene Chip Expression 3'-Amplification Reagents for IVT Labeling в соответствии с протоколом производителя. Общее число полученных РНК и ДНК устанавливали с использованием спектрофотометра NanoDrop. Гибридизацию кРНК выполняли с матрицей HGU133A. Окрашенную матрицу отмывали от несвязавшегося белка. После чего ее сканировали на специальном сканере GeneArray G2500A. Выбор генов по уровню интенсивности их экспрессии и поиск общих в исследуемых опухолевых клеточных линиях осуществляли с помощью оригинальной программы Gene Selector. Анализ сети межмолекулярных взаимодействий проводили на основе базы данных STRING 9.0 (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins).

Определение уровня чувствительности исследуемых линий опухолевых клеток к ИИ осуществляли методом проточной цитофлуориметрии с использованием Annexin-V-FITC и иодида пропидия.

В качестве контроля использовали аналогичные клеточные линии, которые не подвергались воздействию ИИ.

Результаты и обсуждение. После облучения в дозе 4 Гр в радиочувствительных клеточных линиях рака прямой кишки человека НСТ-116р53 (–/–) и НСТ-116р (+/+) выявлено соответственно 24,9 % и 20 % клеток с призна-

ками апоптоза и некроза; в радиочувствительной клеточной линии меланомы человека Ме45 у 28,4 % клеток обнаружены признаки деградации. Менее радиочувствительной оказалась линия человеческих эритролейкемических лимфобластоидных клеток К562, в которой после ее облучения только у 12,8 % клеток выявлены признаки апоптоза и некроза. Таким образом, опухолевые клетки линии К562 являются более радиорезистентными к воздействию ИИ, чем клетки линий НСТ-116р (+/+), НСТ-116р (–/–) и Ме45 (рис. 1).

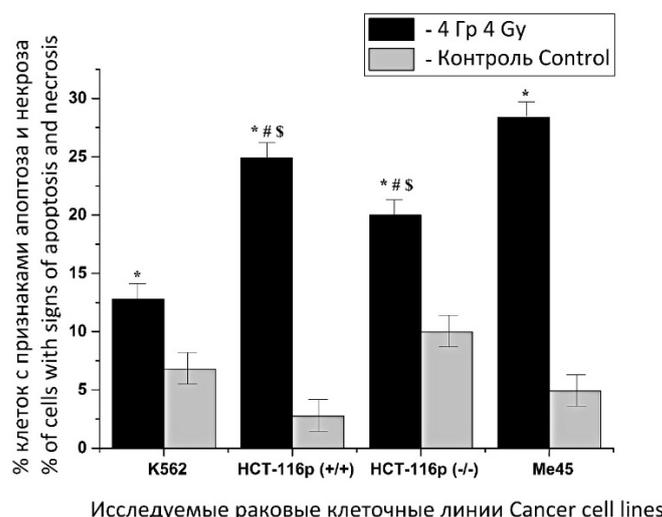


Рис. 1. Общее число клеток с признаками апоптоза и некроза в исследуемых линиях опухолевых клеток через 24 ч после воздействия ИИ в дозе 4 Гр (достоверные различия при $p \leq 0,05$: * – с контрольной группой, # – с клеточной линией К562, \$ – с клеточной линией Ме45)

Fig. 1. The total number of cells with signs of apoptosis and necrosis in the studied tumor cell lines (K562, НСТ-116р (+/+), НСТ-116р (–/–) and Ме45) 24 hours after irradiation with ionizing radiation at a dose of 4 Gy. (* – the differences are significant compared with the control group ($p \leq 0.05$), # – the differences are significant compared with K562 cell line ($p \leq 0.05$), \$ – the differences are significant compared with Ме45 cell line ($p \leq 0.05$))

Поиск потенциальных генов-мишеней в исследуемых клеточных линиях осуществляли с помощью ДНК-микрочипа на основе ответа генов на воздействие ИИ. В клеточной линии К562 были отобраны гены, отвечающие ростом экспрессии в ответ на облучение, в линиях НСТ-116р (+/+), НСТ-116р (–/–) и Ме45 – ее спадом. Уровень экспрессии генов измеряли с помощью матрицы HGU133A. В радиорезистентной клеточной линии выявлено 109 генов, уровень экспрессии которых неизменно увеличивался. В линиях опухолевых

клеток НСТ-116р53 (+/+) и НСТ-116р53 (–/–) обнаружен 231 ген, а в Ме45 – 63 гена, у которых в рамках эксперимента зафиксирован постоянный спад уровня экспрессии. В числе найденных отобраны четыре гена, которые являются общими для исследуемых клеточных линий: *DAAMI* (Disheveled-associated activator of morphogenesis 1), *IFNAR2* (Interferon Alpha And Beta Receptor Subunit 2), *PALLD* (Palladin, Cytoskeletal Associated Protein) и *STK17A* (Serine/threonine-protein kinase 17A) (рис. 2).

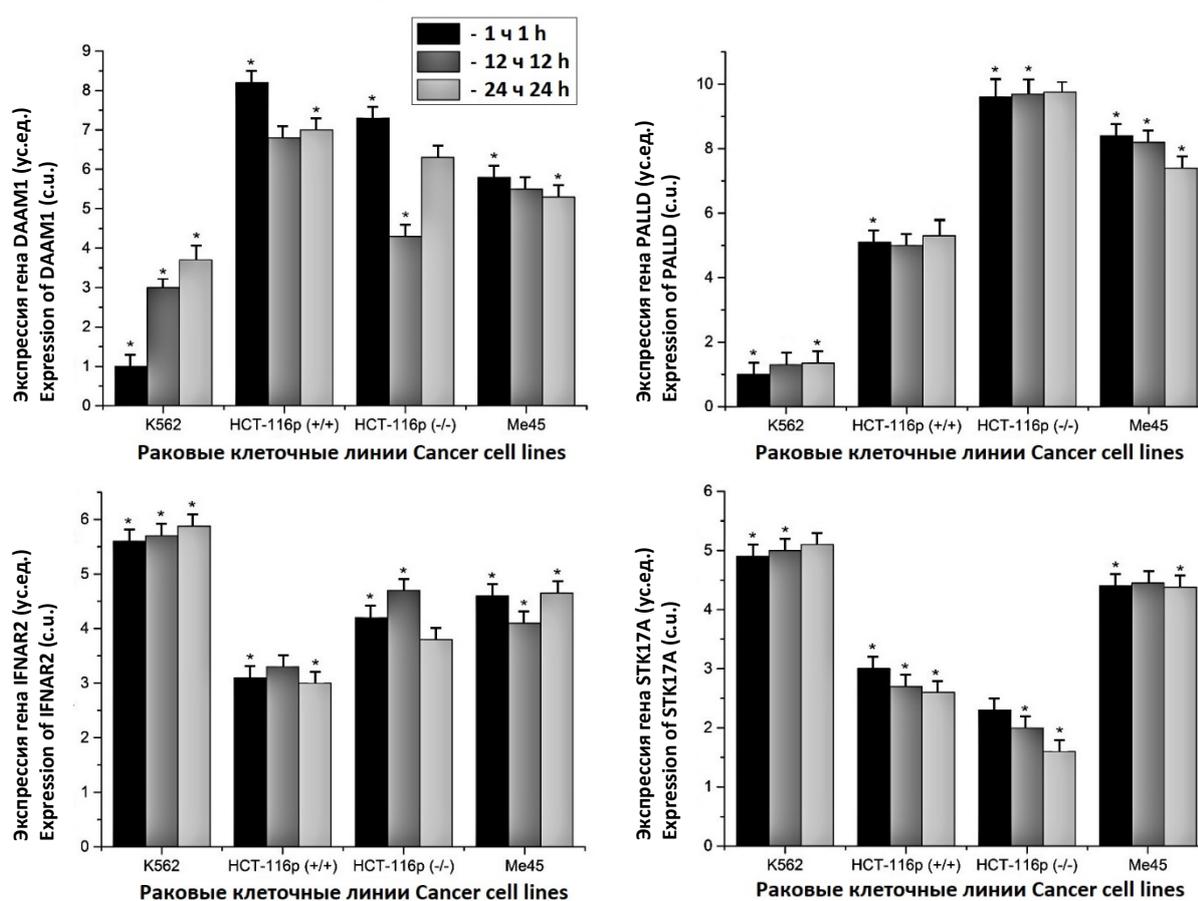


Рис. 2. Динамика экспрессии генов *DAAMI*, *PALLD*, *IFNAR2* и *STK17A* в опухолевых клеточных линиях K562, HCT-116p (+/+), HCT-116p (-/-) и Me45 в течение 1, 12 и 24 ч с момента облучения в дозе 4 Гр (* – достоверные различия ($p \leq 0,05$) с контрольной группой)

Fig 2. Dynamics of *DAAMI*, *PALLD*, *IFNAR2*, *STK17A* gene expression in the studied tumor cell lines (K562, HCT-116p (+/+), HCT-116p (-/-) and Me45) during 1, 12 and 24 hours after irradiation at a dose of 4 Gy (* – the difference is significant in comparison with the control group ($p \leq 0.05$))

Высокий уровень экспрессии отмечен в клеточной линии K562 у генов *IFNAR2* (5,88) и *STK17A* (5,07) через 24 ч после облучения. У генов *DAAMI* и *PALLD* в K562 уровень экспрессии имеет относительно небольшие значения (рис. 2 а, б), однако, в отличие от уровня экспрессии данных генов в клетках линий HCT-116p (-/-), HCT-116p (+/+) и ME45, для него характерен постоянный рост. Из этого следует, что под воздействием ИИ увеличение уровня экспрессии генов *DAAMI*, *IFNAR2*, *PALLD* и *STK17A* в радиоустойчивой клеточной линии может быть связано с развитием радиорезистентности опухолевых клеток.

При изучении взаимодействий между белками отобранных генов было выявлено,

что продукт гена *DAAMI* напрямую взаимодействует с белками генов *FNBPI* (Formin Binding Protein 1), *TRIP10* (Thyroid Hormone Receptor Interactor 10), *ARHGAP1* (Rho GTPase activating protein 1), *DVL1* (Dishevelled Segment Polarity Protein 1), *DVL2* (Dishevelled Segment Polarity Protein 2), *DVL3* (Dishevelled Segment Polarity Protein 3), *PTBP2* (Polypyrimidine Tract Binding Protein 2), *RHOA* (Ras Homolog Family Member A), *SRRM4* (Serine/Arginine Repetitive Matrix 4), через которые оказывает влияние на деятельность белков генов *ARHG-DIA* (Rho GDP Dissociation Inhibitor Alpha), *BAIAP2* (BAR/IMD Domain Containing Adaptor Protein 2), *CDC42* (Cell Division Cycle 42), *PAK1* (P21 (RAC1) Activated Kinase 1), *PAK2*

(P21 (RAC1) Activated Kinase 2), *PARD6A* (Par-6 Family Cell Polarity Regulator Alpha), *PTBP2* (Polypyrimidine Tract Binding Protein 2), *TNK2* (Tyrosine kinase non receptor 2), *TRIP10* (Thyroid Hormone Receptor Interactor 10), *WAS* (WASP Actin Nucleation Promoting Factor),

WASL (WASP Like Actin Nucleation Promoting Factor). Непрерывно увеличивающаяся экспрессия гена *DAAMI* могла повлиять на экспрессию генов *TNK2* и *DVL2* (табл. 1), которая постоянно увеличивалась во всех исследуемых клеточных линиях.

Таблица 1
Table 1

Уровень экспрессии генов, функционально связанных с геном *DAAMI*, через 1, 12 и 24 ч с момента облучения в дозе 4 Гр в опухолевых клеточных линиях K562, НСТ-116р (+/+), НСТ-116р (-/-), Me45

The expression level of genes functionally related to the *DAAMI* gene 1, 12 and 24 hours after irradiation at a dose of 4 Gy in the studied tumor cell lines (K562, НСТ-116р (+/+), НСТ-116р (-/-) and Me45) *

Название гена Gene	Радиорезистентная клеточная линия Radioresistant cell line			Радиочувствительные клеточные линии Radiosensitive cell lines								
	K562			НСТ-116р (+/+)			НСТ-116р (-/-)			Me45		
	1 ч 1 hour	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours	1 ч 1 hour	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours	1 ч 1 hour	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours	1 ч 1 hour	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours
DVL2	-0,010	0,163	-0,048	-0,127	-0,043	0,058	0,002	0,016	0,154	-0,082	-0,075	-0,011
PTBP2	0,018	0,137	-0,044	0,131	0,059	0,008	0,451	0,271	0,240	0,044	0,015	-0,042
TNK2	-0,006	0,034	0,144	-0,217	-0,179	-0,068	-0,139	-0,103	-0,068	-0,070	-0,044	0,000

Примечание. Данные в таблице представлены как отношение уровня экспрессии гена к уровню экспрессии гена в контроле.

Note. The data are presented as the ratio of the gene expression level to the gene expression level in the control. Similar cell lines not exposed to IR were used as controls.

Основное различие заключается в том, что уровень экспрессии гена *TNK2* в клеточной линии K562 намного выше, чем в НСТ-116р (-/-), НСТ-116р (+/+) и Me45. Экспрессия гена *DVL2* в радиорезистентной клеточной линии через 12 ч после облучения резко снижается и имеет минимальное значение по отношению к значениям экспрессии в клеточных линиях НСТ-116р (-/-), НСТ-116р (+/+) и Me45, в которых ее уровень продолжает увеличиваться (рис. 3).

Уровень экспрессии гена *PTBP2* (Polypyrimidine Tract Binding Protein 2) во всех ис-

следуемых клеточных линиях достигает своего минимального значения через 24 ч после облучения. Однако в радиорезистентной клеточной линии отмечается резкий рост показателя через 12 ч после облучения, что, возможно, обусловлено влиянием работы гена *DAAMI*.

Ген *IFNAR2* непосредственно взаимодействует с генами *TYK2* (Tyrosine Kinase 2), *GNB2L1* (Receptor For Activated C Kinase 1), *STAT1* (Signal Transducer And Activator Of Transcription 1), *IFNA8* (Interferon Alpha 8), *JAK1* (Janus Kinase 1), *IFNWI* (interferon omega 1), *STAT2* (Signal Transducer And Activator Of

Transcription 2), *IFNAR1* (Interferon alpha and beta receptor subunit 1 (human)), *JAK2* (Janus kinase 2), *STAT3* (Signal Transducer And Activator Of Transcription 3) и *IFNA5* (Interferon alpha 5), через которые оказывает влияние на гены *IL2RB* (Interleukin 2 receptor subunit beta), *IRS1* (Insulin Receptor Substrate 1), *EGFR* (Epidermal Growth Factor Receptor), *IFNGR1* (Interferon

Gamma Receptor 1), *CREBBP* (CREB Binding Protein), *IRF1* (Interferon Regulatory Factor 1), *EP300* (E1A Binding Protein P300) и *IRF9* (Interferon Regulatory Factor 9). Значения уровня экспрессии генов в исследуемых клеточных линиях, на интенсивность которых оказала влияние работа гена *IFNAR2*, представлены в табл. 2.

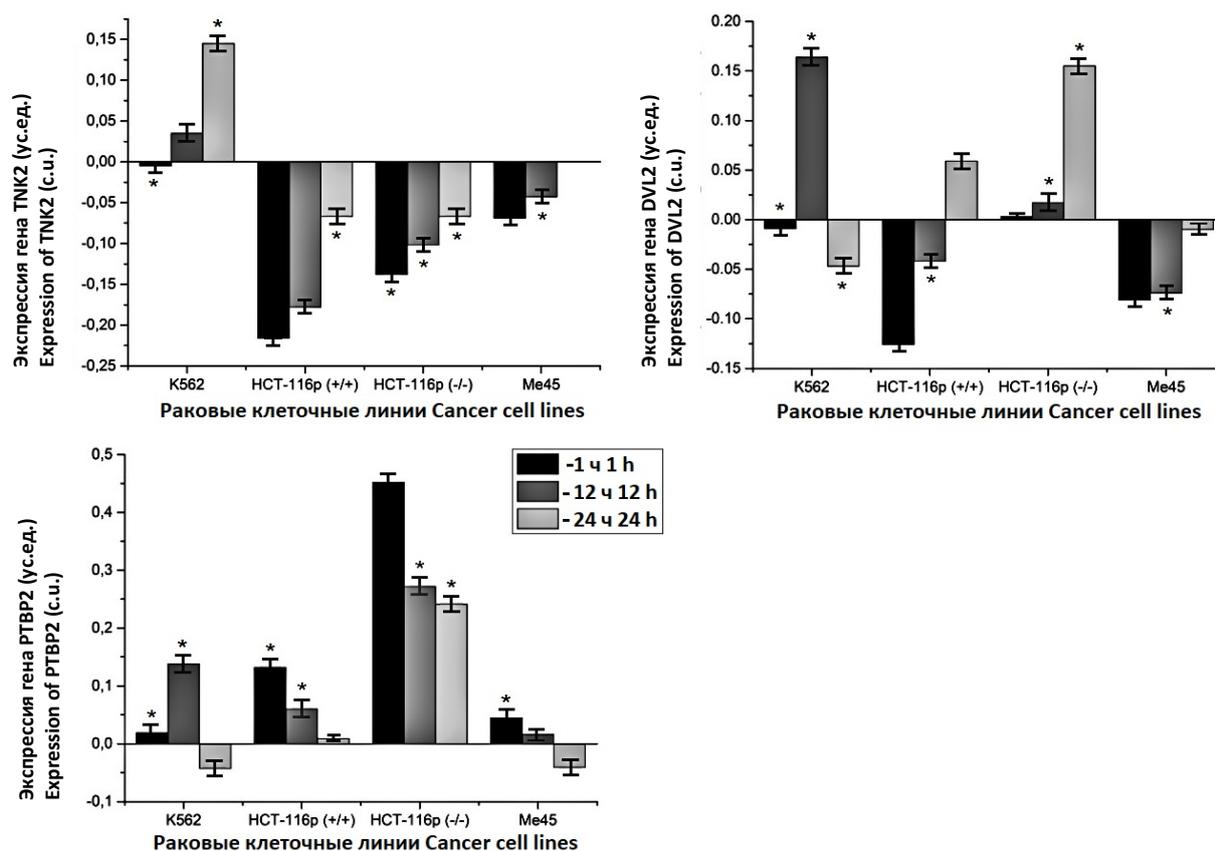


Рис. 3. Динамика экспрессии генов *TNK2*, *DVL2* и *PTBP2* в опухолевых клеточных линиях K562, HCT-116p (+/+), HCT-116p (-/-) и Me45 через 1, 12 и 24 ч после облучения в дозе 4 Гр

Fig. 3. Dynamics of *TNK2*, *DVL2*, *PTBP2* gene expression in the studied tumor cell lines (K562, HCT-116p (+/+), HCT-116p (-/-) and Me45) during 1, 12 and 24 hours after irradiation at a dose of 4 Gy

Таблица 2
Table 2

Уровень экспрессии генов, функционально связанных с геном *IFNAR2*, через 1, 12 и 24 ч с момента облучения в дозе 4 Гр в опухолевых клеточных линиях K562, НСТ-116р (+/+), НСТ-116р (-/-) и Me45

The expression level of genes functionally related to the *IFNAR2* gene 1, 12 and 24 hours after irradiation at a dose of 4 Gy in the studied tumor cell lines (K562, НСТ-116р (+/+), НСТ-116р (-/-) and Me45)

Название гена Gene	Радиорезистентная клеточная линия Radioresistant cell line			Радиочувствительные клеточные линии Radiosensitive cell lines								
	K562			НСТ-116р (+/+)			НСТ-116р (-/-)			Me45		
	1 ч 1 hour	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours	1 ч 1 hour	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours	1 ч 1 hour	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours	1 ч 1 hour	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours
<i>GNB2L1</i>	-0,012	-0,014	-0,023	0,017	0,024	0,009	-0,006	0,001	-0,008	-0,013	0,008	0,019
<i>IFNAR1</i>	-0,216	-0,028	0,155	0,258	0,449	0,315	-0,026	0,195	0,078	-0,071	-0,063	-0,109
<i>IRF9</i>	0,025	-0,051	-0,125	-0,060	-0,242	-0,206	-0,031	-0,257	-0,161	-0,094	-0,030	-0,049
<i>JAK1</i>	-0,066	-0,012	0,008	0,007	-0,106	-0,069	-0,014	-0,095	-0,069	0,100	0,149	0,057
<i>STAT2</i>	-0,107	-0,101	0,071	-0,197	-0,234	-0,194	0,127	-0,030	-0,127	-0,144	-0,148	-0,078

Примечание. Данные в таблице представлены как отношение уровня экспрессии гена к уровню экспрессии гена в контроле.

Note. The data are presented as the ratio of the gene expression level to the gene expression level in the control. Similar cell lines not exposed to IR were used as controls.

Установлено, что уровень экспрессии генов *STAT2*, *GNB2L1*, *IRF9*, *IFNAR1* и *JAK1* в клеточной линии K562 существенно отличается от аналогичных показателей в клеточных линиях НСТ-116р (-/-), НСТ-116р (+/+) и Me45 (рис. 4). Гиперэкспрессия гена *IFNAR2* провоцирует спад уровня экспрессии генов *GNB2L1* и *IRF9* в клеточной линии K562. В клеточных линиях НСТ-116р (-/-), НСТ-116р (+/+) и

Me45 экспрессия генов *GNB2L1* и *IRF9* не обладает четкой динамикой развития. Вместе с тем непрерывный рост уровня экспрессии генов *STAT2*, *Jak1* и *IFNAR1* отмечен в радиорезистентной клеточной линии. В радиочувствительных клеточных линиях НСТ-116р (-/-), НСТ-116р (+/+) и Me45 динамика экспрессии данных генов не имеет четкой направленности.

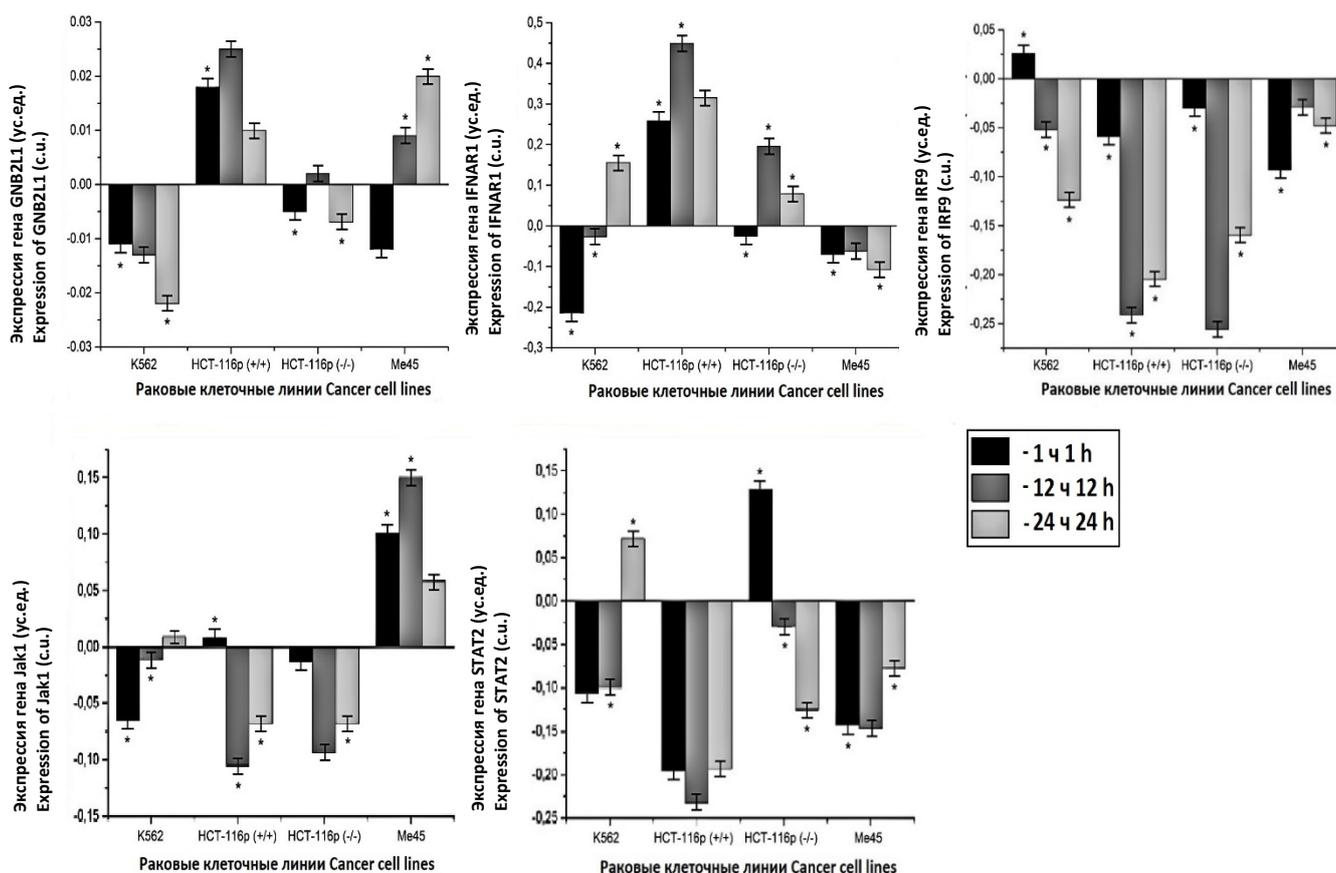


Рис. 4. Динамика экспрессии генов *GNB2L1*, *IFNAR1*, *IRF9*, *Jak1* и *STAT2* в опухолевых клеточных линиях K562, HCT-116p (+/+), HCT-116p (-/-) и Me45 в течение 1, 12 и 24 ч после облучения в дозе 4 Гр

Fig. 4. Dynamics of *GNB2L1*, *IFNAR1*, *IRF9*, *Jak1*, *STAT2* gene expression in the studied tumor cell lines (K562, HCT-116p (+/+), HCT-116p (-/-) and Me45) during 1, 12 and 24 hours after irradiation at a dose of 4 Gy

Отмечено, что экспрессия генов *STAT2*, *Jak1* и *IFNAR1* в радиочувствительных клеточных линиях в рамках проведенного эксперимента была непостоянна. Такие колебания уровня экспрессии могут быть связаны с влиянием сверхэкспрессии гена *IFNAR2*.

Продукт гена *PALLD* взаимодействует с белками генов *TGFB1* (Transforming Growth Factor Beta 1), *AKT1* (AKT Serine/Threonine Kinase 1), *EPS8* (Epidermal Growth Factor Receptor Pathway Substrate 8), *LPP* (Lipoma-Preferred Partner), *ACTN1* (Actinin alpha 1), *ACTN2* (Ac-

tinin alpha 2), *EZR* (Ezrin), *SRC* (SRC Proto-Oncogene, Non-Receptor Tyrosine Kinase). Данные о динамике уровня экспрессии генов, на который оказывает влияние ген *PALLD*, представлены в табл. 3.

Вероятно, влияние гена *PALLD* способствовало росту экспрессии генов *LPP* и *ACTN2* (рис. 5) в радиорезистентной клеточной линии. Значения уровня экспрессии в клеточной линии K562 после окончания эксперимента были выше, чем в радиочувствительных клеточных линиях HCT-116p (-/-), HCT-116p (+/+) и Me45.

Таблица 3
Table 3

Уровень экспрессии генов, функционально связанных с геном *PALLD*,
через 1, 12 и 24 ч после облучения в дозе 4 Гр в опухолевых клеточных линиях
K562, НСТ-116р (+/+), НСТ-116р (-/-) и Me45

The expression level of genes functionally related to the *PALLD* gene
1, 12 and 24 hours after irradiation at a dose of 4 Gy in the studied tumor cell lines
(K562, НСТ-116р (+/+), НСТ-116р (-/-) and Me45)

Название гена Gene	Радиорезистентная клеточная линия Radioresistant cell line			Радиочувствительные клеточные линии Radiosensitive cell lines								
	K562			НСТ-116р (+/+)			НСТ-116р (-/-)			Me45		
	1 ч 1 hour	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours	1 ч 1 hour	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours	1 ч 1 hour	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours	1 ч 1 hour	12 ч 12 hours	24 ч 24 hours
<i>ACTN2</i>	-0,072	0,025	0,129	0,025	-0,132	-0,071	-0,065	-0,122	-0,082	-0,030	-0,003	-0,003
<i>LPP</i>	-0,029	0,019	0,036	-0,041	0,011	-0,048	-0,123	-0,018	-0,062	-0,105	-0,061	-0,040

Примечание. Данные в таблице представлены как отношение уровня экспрессии гена к уровню экспрессии гена в контроле.

Note. The data are presented as the ratio of the gene expression level to the gene expression level in the control. Similar cell lines that exposed to IR were used as controls.

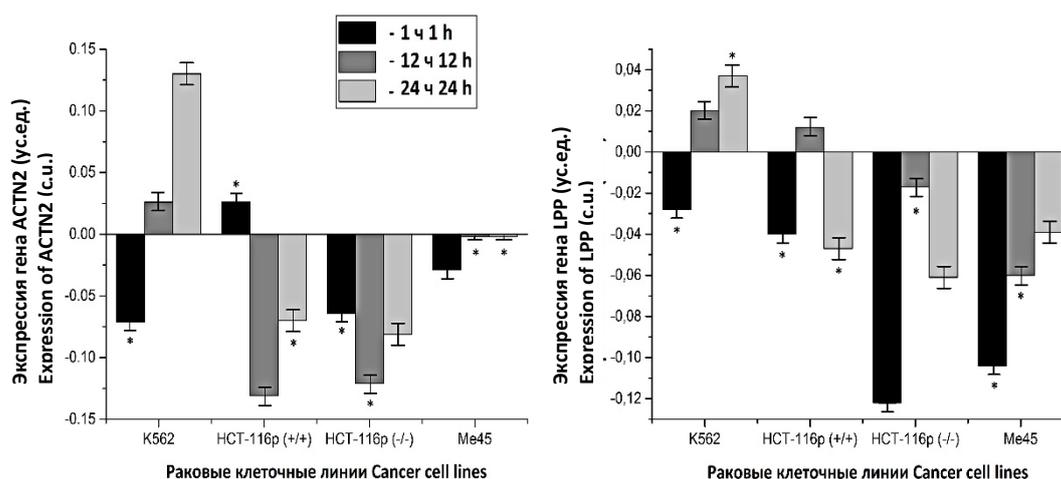


Рис. 5. Динамика экспрессии генов *ACTN2* и *LPP* в опухолевых клеточных линиях K562, НСТ-116р (+/+), НСТ-116р (-/-) и Me45 в течение 1, 12 и 24 ч с момента облучения в дозе 4 Гр

Fig. 5. Dynamics of *ACTN2* and *LPP* gene expression in the studied tumor cell lines (K562, НСТ-116р (+/+), НСТ-116р (-/-) and Me45) during 1, 12 and 24 hours after irradiation at a dose of 4 Gy

При анализе взаимодействия гена *STK17A* было установлено, что данный ген не оказывает прямого воздействия на другие гены. Из этого следует, что ген *STK17A* практически не изучен, поэтому база данных STRING не содержит информации о его функциональной взаимосвязи с другими генами.

Обсуждение. На основе полученных данных можно предположить, что гены *IFNAR2*, *DAAMI*, *STK17A* и *PALLD* способны оказывать влияние на интенсивность работы некоторых компонентов белковой сети. К примеру, на наш взгляд, интенсивность динамики экспрессии гена *TNK2* (рис. 3) может быть результатом его взаимодействия с геном-мишенью *DAAMI*. Показано, что функциональная активность гена *TNK2* в клетках злокачественной опухоли формирует ее устойчивость к воздействию ИИ. Кроме того, данный ген принимает участие в регуляции гена *ATM* (Ataxia Telangiectasia Mutated) [9]. Его гиперэкспрессия играет основную роль в процессе становления радиорезистентности опухолевых клеток и осложняет процесс радиотерапии [10].

Также мы считаем, что рост уровня экспрессии гена *IFNAR2*, который был спровоцирован воздействием ИИ, является причиной

гиперэкспрессии гена *GNB2L1* (рис. 4) в радиоустойчивой клеточной линии K562. Доказано, что данный ген играет ключевую роль в адгезии и миграции клеток злокачественных опухолей [11]. Кроме того, ген *GNB2L1* контролирует стабильность HIF-1 (Hypoxia-inducible factor 1) [12]. Ошибка в данном процессе приводит к высокому уровню экспрессии HIF-1, что является следствием плохого ответа определенных злокачественных новообразований на радиационную терапию [13]. Показано, что если HIF-1 не активен в клетках опухоли, то их уровень радиорезистентности снижается [14–16]. Более того, в радиочувствительных клеточных линиях активность гена *IFNAR2* не приводит к спаду экспрессии гена *GNB2L1*, в Me45 она растет, а в HCT-116p (–/–) и HCT-116p (+/+) у нее отсутствует четкая динамика.

Заключение. Таким образом, отобранные гены-мишени и комплексы белков, кодируемых данными генами: *DAAMI*, *TNK2*, *PTBP2* и *DVL2*; *IFNAR2*, *STAT2*, *IRF9*, *JAK1*, *GNB2L1* и *IFNAR1*; *PALLD*, *LPP* и *ACTN2* – можно использовать в роли потенциальных мишеней, модуляция которых позволит увеличить ответ клеток злокачественных новообразований на воздействие ионизирующего излучения.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках государственного задания № 0830-2020-0008.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Stewart B.W., Bray F., Forman D. Cancer prevention as part of precision medicine: 'plenty to be done'. *Carcinogenesis*. 2016; 37 (1): 2–9.
2. Srinivas U.S., Tan B.W.Q., Vellayappan B.A., Jeyasekharan A.D. ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biol*. 2019; 25.
3. Arnold C.R., Mangesius J., Skvortsova I.I., Ganswindt U. The Role of Cancer Stem Cells in Radiation Resistance. *Front Oncol*. 2020; 10: 164.
4. Galeaz C., Totis C., Bisio A. Radiation Resistance: A Matter of Transcription Factors. *Front Oncol*. 2021; 11.
5. Tang L., Wei F., Wu Y. Role of metabolism in cancer cell radioresistance and radiosensitization methods. *J. Exp. Clin. Cancer Res*. 2018; 37 (1): 87.
6. Schwab M., Thunborg K., Azimzadeh O. Targeting Cancer Metabolism Breaks Radioresistance by Impairing the Stress Response. *Cancers (Basel)*. 2021; 13 (15): 3762.
7. Zhang M.X., Wang L., Zeng L., Tu Z.W. LCN2 Is a Potential Biomarker for Radioresistance and Recurrence in Nasopharyngeal Carcinoma. *Front Oncol*. 2021; 2: 10.
8. Lewis J.E., Forshaw T.E., Boothman D.A., Furdui C.M., Kemp M.L. Personalized Genome-Scale Metabolic Models Identify Targets of Redox Metabolism in Radiation-Resistant Tumors. *Cell Syst*. 2021; 12 (1): 68–81.
9. Liu X., Wang X., Li L., Han B. Research Progress of the Functional Role of ACK1 in Breast Cancer. *Biomed Res Int*. 2019; 1-6.

10. Foy J.P., Bazire L., Ortiz-Cuaran S. A 13-gene expression-based radioresistance score highlights the heterogeneity in the response to radiation therapy across HPV-negative HNSCC molecular subtypes. *BMC Med.* 2017; 15 (1): 165.
11. Zhou C., Chen T., Xie Z., Qin Y., Ou Y., Zhang J., Li S., Chen R., Zhong N. RACK1 forms a complex with FGFR1 and PKM2, and stimulates the growth and migration of squamous lung cancer cells. *Mol Carcinog.* 2017; 56 (11): 2391–2399.
12. Wang J., Chen X., Hu H. PCAT-1 facilitates breast cancer progression via binding to RACK1 and enhancing oxygen-independent stability of HIF-1 α . *Mol. Ther Nucleic Acids.* 2021; 24: 310–324.
13. Byun J.Y., Huang K., Lee J.S., Huang W., Hu L. Targeting HIF-1 α /NOTCH1 pathway eliminates CD44+ cancer stem-like cell phenotypes, malignancy, and resistance to therapy in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncogene.* 2022; 41 (9): 1352–1363.
14. Moreno R.E., Groot A.J., Yaromina A. HIF-1 α and HIF-2 α Differently Regulate the Radiation Sensitivity of NSCLC Cells. *Cells.* 2019; 8 (1): 45.
15. Wang G., Xiao L., Wang F., Yang J., Yang L., Zhao Y., Jin W. Hypoxia inducible factor-1 α /B-cell lymphoma 2 signaling impacts radiosensitivity of H1299 non-small cell lung cancer cells in a normoxic environment. *Radiat Environ Biophys.* 2019; 58 (3): 439–448.
16. Zhang J., Zhang Y., Mo F., Patel G., Butterworth K., Shao C., Prise K.M. The Roles of HIF-1 α in Radiosensitivity and Radiation-Induced Bystander Effects Under Hypoxia. *Frontiers in Cell and Developmental Biology.* 2021; 9.

Поступила в редакцию 25.05.2022; принята 15.06.2022.

Авторский коллектив

Погодина Евгения Сергеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: janeg1411@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8183-5103>.

Расторгуева Евгения Владимировна – старший преподаватель кафедры общей и клинической фармакологии с курсом микробиологии, младший научный сотрудник НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: rastorgueva.e.v@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1518-4677>.

Юрова Елена Валерьевна – аспирант, младший научный сотрудник НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: urovaev523@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7484-2671>.

Белобородов Евгений Алексеевич – аспирант, младший научный сотрудник НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: beloborodov.evgeniy.a@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5666-5154>.

Сугак Дмитрий Евгеньевич – инженер-исследователь НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: dmitriysugak@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3276-8976>.

Саенко Юрий Владимирович – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: saenkoym@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4402-1482>.

Фомин Александр Николаевич – кандидат технических наук, директор, старший научный сотрудник НИТИ им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: mr.fominan@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0826-1857>.

Волков Максим Анатольевич – кандидат физико-математических наук, доцент, декан факультета математики, информационных и авиационных технологий, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: volkovmax1977@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8143-8917>.

Костишко Борис Михайлович – доктор физико-математических наук, профессор, ректор, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: contact@ulsu.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1112-0740>.

Образец цитирования

Погодина Е.С., Расторгуева Е.В., Юрова Е.В., Белобородов Е.А., Сугак Д.Е., Саенко Ю.В., Фомин А.Н., Волков М.А., Костишко Б.М. Анализ влияния уровня экспрессии генов и сетей межмолекулярных взаимодействий на развитие радиорезистентности опухолевых клеток. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 142–155. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-142-155.

IMPACT OF THE GENE EXPRESSION LEVEL AND INTERMOLECULAR INTERACTION NETWORKS ON RADIORESISTANCE OF TUMOR CELLS

E.S. Pogodina, E.V. Rastorgueva, E.V. Yurova, E.A. Beloborodov, D.E. Sugak,
Yu.V. Saenko, A.N. Fomin, M.A. Volkov, B.M. Kostishko

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia

Despite its efficacy, radiation therapy faces the challenges connected with accelerated reproduction of tumor cells and radioresistance of malignant neoplasms.

The aim of the study was to analyze the impact of the gene expression level and intermolecular interaction networks on the development of tumor cell radioresistance.

Materials and Methods. The authors used 4 tumor cell lines: (K562, HCT-116p53 (+/+), HCT-116p53 (-/-), and Me45. To study the cell line transcriptome. Affymetrix high-density hybridization DNA chips (HG133A series) were used. Bioinformatic analysis of gene expression dynamics was performed using the original Gene Selector program. Intermolecular interaction networks were studied using the STRING online system.

Results. After exposure to ionizing radiation at a dose of 4 Gy, the expression level of DAAM1, IFNAR2, PALLD, and STK17A genes increases in K562 cell line and decreases in HCT-116p53 (+/+), HCT-116p53 (-/-) and Me45. Numerous protein complexes of the studied genes were found with STRING online system. Thus, DAAM1, IFNAR2, PALLD, and STK17A genes influence the activity of some particles in the network of intermolecular interactions. Selected DAAM1, IFNAR2, PALLD and STK17A genes and protein-protein complexes encoded by DAAM1, TNK2, PTBP2 and DVL2; IFNAR2, STAT2, IRF9, JAK1, GNB2L1 and IFNAR1; PALLD, LPP and ACTN2 genes can be used as potential targets. Their modulation can increase the response of malignant neoplasm cells to ionizing radiation.

Key words: malignant tumor, gene expression, tumor cell radioresistance, ionizing radiation, protein-protein interaction.

The work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, state assignment No. 0830-2020-0008.

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

References

1. Stewart B.W., Bray F., Forman D. Cancer prevention as part of precision medicine: 'plenty to be done'. *Carcinogenesis*. 2016; 37 (1): 2–9.
2. Srinivas U.S., Tan B.W.Q., Vellayappan B.A., Jeyasekharan A.D. ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biol*. 2019; 25.
3. Arnold C.R., Mangesius J., Skvortsova I.I., Ganswindt U. The Role of Cancer Stem Cells in Radiation Resistance. *Front Oncol*. 2020; 10: 164.
4. Galeaz C., Totis C., Bisio A. Radiation Resistance: A Matter of Transcription Factors. *Front Oncol*. 2021; 11.
5. Tang L., Wei F., Wu Y. Role of metabolism in cancer cell radioresistance and radiosensitization methods. *J. Exp. Clin. Cancer Res*. 2018; 37 (1): 87.
6. Schwab M., Thunborg K., Azimzadeh O. Targeting Cancer Metabolism Breaks Radioresistance by Impairing the Stress Response. *Cancers (Basel)*. 2021; 13 (15): 3762.

7. Zhang M.X., Wang L., Zeng L., Tu Z.W. LCN2 Is a Potential Biomarker for Radioresistance and Recurrence in Nasopharyngeal Carcinoma. *Front Oncol.* 2021; 2: 10.
8. Lewis J.E., Forshaw T.E., Boothman D.A., Furdui C.M., Kemp M.L. Personalized Genome-Scale Metabolic Models Identify Targets of Redox Metabolism in Radiation-Resistant Tumors. *Cell Syst.* 2021; 12 (1): 68–81.
9. Liu X., Wang X., Li L., Han B. Research Progress of the Functional Role of ACK1 in Breast Cancer. *Biomed Res Int.* 2019; 1-6.
10. Foy J.P., Bazire L., Ortiz-Cuaran S. A 13-gene expression-based radioresistance score highlights the heterogeneity in the response to radiation therapy across HPV-negative HNSCC molecular subtypes. *BMC Med.* 2017; 15 (1): 165.
11. Zhou C., Chen T., Xie Z., Qin Y., Ou Y., Zhang J., Li S., Chen R., Zhong N. RACK1 forms a complex with FGFR1 and PKM2, and stimulates the growth and migration of squamous lung cancer cells. *Mol Carcinog.* 2017; 56 (11): 2391–2399.
12. Wang J., Chen X., Hu H. PCAT-1 facilitates breast cancer progression via binding to RACK1 and enhancing oxygen-independent stability of HIF-1 α . *Mol. Ther Nucleic Acids.* 2021; 24: 310–324.
13. Byun J.Y., Huang K., Lee J.S., Huang W., Hu L. Targeting HIF-1 α /NOTCH1 pathway eliminates CD44+ cancer stem-like cell phenotypes, malignancy, and resistance to therapy in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncogene.* 2022; 41 (9): 1352–1363.
14. Moreno R.E., Groot A.J., Yaromina A. HIF-1 α and HIF-2 α Differently Regulate the Radiation Sensitivity of NSCLC Cells. *Cells.* 2019; 8 (1): 45.
15. Wang G., Xiao L., Wang F., Yang J., Yang L., Zhao Y., Jin W. Hypoxia inducible factor-1 α /B-cell lymphoma 2 signaling impacts radiosensitivity of H1299 non-small cell lung cancer cells in a normoxic environment. *Radiat Environ Biophys.* 2019; 58 (3): 439–448.
16. Zhang J., Zhang Y., Mo F., Patel G., Butterworth K., Shao C., Prise K.M. The Roles of HIF-1 α in Radiosensitivity and Radiation-Induced Bystander Effects Under Hypoxia. *Frontiers in Cell and Developmental Biology.* 2021; 9.

Received 25 May 2022; accepted 15 June 2022.

Information about the authors

Pogodina Evgeniya Sergeevna, Candidate of Sciences (Biology), Researcher, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: janeg1411@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8183-5103>.

Rastorgueva Evgeniya Vladimirovna, Senior Lecturer, Chair of General and Clinical Pharmacology with a Course in Microbiology, Junior Researcher, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: rastorgueva.e.v@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1518-4677>.

Yurova Elena Valer'evna, Post-graduate Student, Junior Researcher, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: urovaev523@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7484-2671>.

Beloborodov Evgeniy Alekseevich, Post-graduate Student, Junior Researcher, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: beloborodov.evgeniy.a@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5666-5154>.

Sugak Dmitriy Evgen'evich, Research Engineer, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: dmitriysugak@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3276-8976>.

Saenko Yuriy Vladimirovich, Doctor of Sciences (Biology), Professor, Leading Researcher, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: saenkoyv@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4402-1482>.

Fomin Aleksandr Nikolaevich, Candidate of Sciences (Technical Sciences), Director, Senior Researcher, S.P. Kapitsa Technology Research Institute, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: mr.fominan@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0826-1857>.

Volkov Maksim Anatol'evich, Candidate of Sciences (Physics and Mathematics), Associate Professor, Dean of the Department of Mathematics, Information and Aviation Technologies, Ulyanovsk State University. 432017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: volkovmax1977@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8143-8917>.

Kostishko Boris Mikhaylovich, Doctor of Sciences (Physics and Mathematics), Professor, Rector, Ulyanovsk State University. 4321017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: contact@ulsu.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1112-0740>.

For citation

Pogodina E.S., Rastorgueva E.V., Yurova E.V., Beloborodov E.A., Sugak D.E., Saenko Yu.V., Fomin A.N., Volkov M.A., Kostishko B.M. Analiz vliyaniya urovnya ekspressii genov i setey mezhmolekulyarnykh vzaimodeystviy na razvitie radiorezistentnosti opukholevykh kletok [Impact of the gene expression level and intermolecular interaction networks on radioresistance of tumor cells]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskiy zhurnal*. 2022; 3: 142–155. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-142-155 (in Russian).

ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 574.24:615.322

DOI 10.34014/2227-1848-2022-3-156-165

ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ПОЛЫНИ ГОРЬКОЙ ЕСТЕСТВЕННОГО ФИТОЦЕНОЗА ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

Н.А. Дьякова

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», г. Воронеж, Россия

Исследования элементного состава дикорастущего сырья являются актуальными и значимыми в силу высокой эффективности и биологической доступности содержащихся в растениях металлоорганических форм. Имеющиеся сведения о содержании элементов в лекарственном растительном сырье Воронежской области показали, что исследования проводятся в основном по нескольким элементам, что не позволяет определить полный химический состав растений и описать специфику накопления в них всего комплекса минеральных веществ.

Цель исследования – изучение особенностей накопления макро- и микроэлементов в полыни горькой естественного фитоценоза Воронежской области.

Материалы и методы. Заготовку сырья осуществляли в период цветения растения в Воронежском биосферном заповеднике. Микроэлементный состав образцов изучали масс-спектрометрически на приборе ELAN-DRC.

Результаты. Выявлено, что содержание микроэлементного комплекса составляет 4,4 %, определено 59 элементов. Макроэлементы составляют 96,03 % всего элементного состава травы полыни горькой. Основу макроэлементов составляет калий (более 25 мг/г), а также кальций (более 10 мг/г). Эссенциальные микроэлементы составляют 3,49 % общего минерального комплекса травы полыни горькой. Среди них наибольшее содержание отмечено для кремния (более 1,2 мг/г) и железа (более 0,1 мг/г). Содержание нормируемых тяжелых металлов и мышьяка в траве полыни горькой соответствует требованиям нормативной документации. На долю свинца, ртути, кадмия и мышьяка приходится 0,0017 % общего минерального комплекса сырья. Доля токсичных и малоизученных элементов в общем минеральном комплексе травы полыни горькой составляет 0,48 %. Наибольшее содержание отмечено для алюминия (135,6 мкг/г), рубидия (27,66 мкг/г), стронция (24,95 мкг/г), бария (11,98 мкг/г), титана (9,52 мкг/г). Показана высокая способность травы полыни горькой к накоплению из почвы фосфора, калия, меди, цинка, кадмия и молибдена, а также к аккумуляции кальция, магния, никеля, мышьяка, рубидия, олова и стронция.

Ключевые слова: *полынь горькая, микроэлементы, макроэлементы, лекарственное растительное сырье, коэффициенты накопления, Воронежская область.*

Введение. В настоящее время актуальным является изучение биологической активности различных веществ органической природы и веществ минерального происхождения, оказывающих влияние на жизненно важные процессы в организме. Описано участие макро- и микроэлементов в потенцировании фармакологического действия лекарственных растительных препаратов и стимуляции биосинтеза вторичных метаболитов в растительном орга-

низме [1–3]. Содержащиеся в растениях микроэлементы образуют с биологически активными веществами комплексы органической природы, которые эффективнее усваиваются в организме человека, чем препараты на основе неорганических соединений. При изучении элементного состава лекарственного растительного сырья (ЛРС) особый интерес представляют те виды, которые используются для производства комплексных фитопрепаратов [4–6].

Известно, что лекарственные растения содержат не только эссенциальные элементы, но и различные соединения антропогенного происхождения, среди которых наиболее распространенными являются тяжелые металлы [7–9].

Анализ литературных данных показал, что элементный комплекс лекарственных растений Центрального Черноземья изучен мало [10–12]. Сведения о содержании элементов в ЛРС региона касаются лишь нескольких элементов, что не позволяет определить полный химический состав растений и описать специфику накопления в них, как отдельно существующей геосфере, различных элементов [13–17].

Полынь горькая (*Artemisia absinthium* L.) – многолетнее, повсеместно встречающееся травянистое, издревле используемое в медицине растение с выраженным желчегонным и противовоспалительным эффектом, рефлекторно усиливающее секрецию желудочного сока, способствующее повышению аппетита. Широкое фармацевтическое и медицинское применение данного сырья обусловлено не только высоким содержанием органических биологически активных веществ, основу которых составляют флавоноиды, эфирное масло, дубильные вещества, каротин, органические кислоты, горькие гликозиды, витамины, но и богатым макро- и микроэлементным комплексом [14, 18].

Цель исследования. Изучение особенностей накопления макро- и микроэлементов в траве полыни горькой естественного фитоценоза Воронежской области.

Материалы и методы. Заготовку ЛРС осуществляли по фармакопейным правилам

[19] в экологически чистом месте – Воронежском государственном заповеднике имени В.М. Пескова (Рамонский район Воронежской области) в естественной заросли в период цветения растения (в июле 2020 г.). Траву полыни горькой срезали ножницами, сушили теневым способом. Также отбирали пробы почв с места произрастания объекта исследования. Образцы для анализа подвергали разложению смесью азотной и плавиковой кислот с использованием систем микроволновой пробоподготовки. Растворенную пробу количественно переносили в пробирку объемом 15 мл, троекратно встряхивая вкладыш с крышкой с 1 мл деионизированной воды и перенося каждый смыв в пробирку, доводили объем до 10 мл деионизированной водой, закрывали и перемешивали. Автоматическим дозатором со сменным наконечником отбирали аликвотную часть 1 мл и доводили до 10 мл 0,5 % азотной кислотой, закрывали защитной лабораторной пленкой. Элементный состав ЛРС определяли методом масс-спектропии с индуктивно связанной плазмой на приборе ELAN-DRC (Perkin Elmer Life And Analytical Sciences, США) в соответствии с МУК 4.1.1483-03 «Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, препаратах и биологически активных добавках методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной аргонной плазмой». Для оценки особенностей накопления элементов из почв рассчитывали коэффициенты накопления [11, 12].

Результаты. Результаты, полученные при изучении элементного состава исследуемых образцов, приведены в табл. 1.

Таблица 1
Table 1

Результаты исследования образцов лекарственного растительного сырья и почв

Results of the sample study of medicinal plant raw material and soils

Элемент Element	Содержание в ЛРС, мкг/г Element concentration in medicinal plant raw material, µg/g	Доля элемента в общей сумме минерального комплекса, % Element concentration in total mineral complex, %	Содержание в почве, мкг/г Element concentration in soil, µg/g	Коэффициент накопления элемента в ЛРС Element accumulation ratio in medicinal plant raw material
Макроэлементы Macro elements				
Калий Potassium	25932,7	58,97	10500	2,47

Элемент Element	Содержание в ЛРС, мкг/г Element concentration in medicinal plant raw material, µg/g	Доля элемента в общей сумме минерального комплекса, % Element concentration in total mineral complex, %	Содержание в почве, мкг/г Element concentration in soil, µg/g	Коэффициент накопления элемента в ЛРС Element accumulation ratio in medicinal plant raw material
Кальций Calcium	10008,7	22,76	19660	0,51
Натрий Sodium	40,6	0,09	3300	0,01
Магний Magnesium	1982,9	4,51	4400	0,45
Фосфор Phosphorus	4267,3	9,70	730	5,85
Всего Total	42232,2	96,03	38590	-
Эссенциальные микроэлементы Essential trace elements				
Ванадий Vanadium	0,25	0,00057	78	<0,01
Железо Iron	185	0,42066	19100	0,01
Кобальт Cobalt	0,2	0,00045	3,3	0,06
Кремний Silicon	1262,4	2,87048	347000	<0,01
Литий Lithium	0,074	0,00017	8,5	0,01
Никель Nickel	1,09	0,00248	2,3	0,47
Марганец Manganese	45,67	0,10385	370	0,12
Медь Copper	12,54	0,02851	3,1	4,05
Молибден Molybdenum	0,925	0,00210	0,87	1,06
Селен Selenium	0,041	0,00009	8,5	<0,01
Хром Chrome	0,59	0,00134	4,2	0,14
Цинк Zinc	25,27	0,05746	12	2,11
Всего Total	1534,05	3,49	366590,77	-
Нормируемые токсичные микроэлементы Normalized toxic trace elements				
Кадмий Cadmium	0,025	0,00006	0,023	1,09

Элемент Element	Содержание в ЛРС, мкг/г Element concentration in medicinal plant raw material, µg/g	Доля элемента в общей сумме минерального комплекса, % Element concentration in total mineral complex, %	Содержание в почве, мкг/г Element concentration in soil, µg/g	Коэффициент накопления элемента в ЛРС Element accumulation ratio in medicinal plant raw material
Мышьяк Arsenic	0,364	0,00083	0,9	0,40
Ртуть Mercury	0,0045	0,000010	0,05	0,09
Свинец Lead	0,35	0,000796	4,0	0,09
Всего Total	0,74	0,00169	4,97	
Другие малоизученные и токсичные элементы Other understudied and toxic elements				
Алюминий Aluminum	135,6	0,308331	31100	<0,01
Барий Barium	11,98	0,027240	290	0,04
Бериллий Beryllium	0,001	0,000002	2,0	<0,01
Вольфрам Tungsten	0,15	0,000341	0,78	0,19
Висмут Bismuth	0,004	0,000009	0,11	0,04
Гадолиний Gadolinium	0,012	0,000027	3,0	<0,01
Галлий Gallium	0,065	0,000148	8,8	0,01
Гафний Hafnium	0,006	0,000014	1,6	<0,01
Германий Germanium	0,003	0,000007	1,1	<0,01
Гольмий Holmium	0,002	0,000005	0,36	0,01
Диспрозий Dysprosium	0,01	0,000023	2,0	0,01
Европий Europium	0,003	0,000007	0,65	<0,01
Золото Gold	0,0055	0,000013	0,06	0,09
Иттербий Ytterbium	0,005	0,000011	1,1	<0,01
Иттрий Yttrium	0,054	0,000123	9,9	0,01
Лантан Lanthanum	0,07	0,000159	18	<0,01

Элемент Element	Содержание в ЛРС, мкг/г Element concentration in medicinal plant raw material, µg/g	Доля элемента в общей сумме минерального комплекса, % Element concentration in total mineral complex, %	Содержание в почве, мкг/г Element concentration in soil, µg/g	Коэффициент накопления элемента в ЛРС Element accumulation ratio in medicinal plant raw material
Лютеций Lutetium	0,001	0,000002	0,16	0,01
Неодим Neodymium	0,061	0,000139	15,0	<0,01
Ниобий Niobium	0,024	0,000055	6,7	<0,01
Олово Tin	0,46	0,001046	1,2	0,38
Празеодим Praseodymium	0,016	0,000036	4,1	<0,01
Рубидий Rubidium	27,66	0,062894	63	0,44
Самарий Samarium	0,011	0,000025	3,2	<0,01
Серебро Silver	0,014	0,000032	0,19	0,07
Скандий Scandium	0,54	0,001228	50,0	0,01
Стронций Strontium	24,95	0,056732	73,0	0,34
Сурьма Antimony	0,061	0,000139	0,41	0,15
Таллий Thallium	0,0016	0,000004	0,23	0,01
Тантал Tantalum	0,002	0,000005	0,5	<0,01
Теллур Tellurium	0,004	0,000009	0,1	0,04
Тербий Terbium	0,002	0,000005	0,44	<0,01
Титан Titan	9,52	0,021647	2400,0	<0,01
Торий Thorium	0,021	0,000048	5,4	<0,01
Тулий Thulium	0,001	0,000002	0,16	0,01
Уран Uranium	0,016	0,000036	1,2	0,01
Цезий Caesium	0,04	0,000091	2,3	0,02
Церий Cerium	0,15	0,000341	38	<0,01

Элемент Element	Содержание в ЛРС, мкг/г Element concentration in medicinal plant raw material, µg/g	Доля элемента в общей сумме минерального комплекса, % Element concentration in total mineral complex, %	Содержание в почве, мкг/г Element concentration in soil, µg/g	Коэффициент накопления элемента в ЛРС Element accumulation ratio in medicinal plant raw material
Цирконий Zirconium	0,257	0,000584	78	<0,01
Эрбий Erbium	0,005	0,000011	1,2	<0,01
Всего Total	211,79	0,48	34183,95	-

Обсуждение. Содержание микроэлементного комплекса составляет 4,4 % в пересчете на абсолютно сухое сырье. Масс-спектрометрически определено 59 элементов, условно разделенных на макроэлементы, содержащиеся в значительных количествах (более 0,1 % массы тела), и микроэлементы, содержание которых варьирует в пределах от 0,001 до 0,00001 %. Среди микроэлементов особую группу составляют эссенциальные микроэлементы, участвующие в обеспечении жизнедеятельности. К группе токсичных и малоизученных отнесены те микроэлементы, биологическая роль которых изучена недостаточно, многие из них обладают значительной токсичностью [16, 17, 20].

Макроэлементы составляют 96,03 % всего элементного состава травы полыни горькой. Основными являются калий (более 25 мг/г) и кальций (более 10 мг/г). В целом по содержанию макроэлементов можно выстроить следующий ряд убывания: калий > кальций > фосфор > магний > натрий. Рассчитанные коэффициенты накопления элементов из почв показали высокую способность травы полыни горькой к аккумуляции фосфора, а также калия, содержание которых в ЛРС значительно превышает их концентрацию в почвах. Эффективно, однако менее 100 % от содержания в грунте, накапливаются в изучаемом сырье магний и кальций. При этом натрий практически не накапливается (около 1 % от содержания в почве переходит в траву полыни горькой).

Эссенциальные микроэлементы составляют 3,49 % общего минерального комплекса травы полыни горькой. Среди них наибольшее содержание отмечено для кремния (более

1,2 мг/г) и железа (более 0,1 мг/г). Ряд убывания содержания эссенциальных микроэлементов в сырье выглядит следующим образом: кремний > железо > марганец > цинк > медь > никель > молибден > хром > ванадий > кобальт > литий > селен. При этом показана высокая способность травы полыни горькой к аккумуляции из почв меди, цинка и молибдена (коэффициенты накопления больше 1,0). Эффективно переходит в состав ЛРС также никель. Кремний, отличающийся высокой концентрацией в составе ЛРС, накапливается в количестве менее 1 % от содержания в почве произрастания вида. Остальные эссенциальные элементы имеют также низкие коэффициенты накопления (не более 0,14).

Содержание нормируемых тяжелых металлов и мышьяка в траве полыни горькой соответствует требованиям нормативной документации [10]. На долю свинца, ртути, кадмия и мышьяка приходится 0,0017 % общего минерального комплекса сырья. Из данной группы элементов в ЛРС в наибольшей степени аккумулируются кадмий и мышьяк (коэффициенты накопления 1,09 и 0,40 соответственно), остальные накапливаются из почв неактивно – рассчитанные показатели не превышают 0,09.

Доля токсичных и малоизученных элементов в общем минеральном комплексе травы полыни горькой составляет 0,48 %. Наибольшее содержание отмечено для алюминия (135,6 мкг/г), рубидия (27,66 мкг/г), стронция (24,95 мкг/г), бария (11,98 мкг/г) и титана (9,52 мкг/г). Выявлена способность травы полыни горькой к аккумуляции из почв рубидия, олова и стронция (коэффициенты накопления 0,44, 0,38, 0,34 соответственно).

Остальные элементы аккумулируются в изучаемом ЛРС неактивно (коэффициенты накопления не более 0,2).

Заключение. Результаты исследования показали богатый макро- и микроэлементный состав травы полыни горькой, заготовленной в Воронежской области. Выявлено, что содержание нормируемых токсичных тяжелых металлов и мышьяка не превышает предельно допустимых концентраций, установленных для оценки качества ЛРС. Отмечено относительно высокое содержание, наряду с макроэлементами, кремния, железа, алюминия. По-

казана высокая способность травы полыни горькой к накоплению из почвы фосфора, калия, меди, цинка, кадмия и молибдена, а также кальция, магния, никеля, мышьяка, рубидия, олова и стронция. Полученные данные представляют интерес и могут служить основой для проведения дальнейших исследований с целью использования их результатов в медицинской и фармацевтической практике при создании лекарственных препаратов и биологически активных добавок для коррекции физиологических норм содержания элементов в организме человека.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. *Austenfeld F.A.* Zur Phytotoxizität von Nickel und Kobaltsalzen in Hydrokultur bei Phaseolum vulgaris L. Z. Pflanzenernähr. und Bodenkunde. 1979; 142 (6): 769–777.
2. *Sharma D.S., Chatterjee C., Sharma C.P.* Chromium accumulation and its effects on wheat (*Triticum aestivum* L. cv. HD 2204) metabolism. Plant. Sci. 1995; 2: 145–151.
3. *Buszewski B., Jastrzebska A., Kowalkowski T.* Monitoring of Selected Heavy Metals Uptake by Plants and Soils in the Area of Torun. Poland Polish Journal of Environmental Studies. 2000; 6: 511–515.
4. *Cataldo D.A., Wildung R.E.* Soil and plant factors influencing the accumulation of heavy metals by plants. Environ Health Perspect. 1978; 27: 149–159.
5. *Castanheiro A., DeWael K., Samson R.* Urban green as indicator of metal pollution. 15th Castle Meeting New trends on Paleo, Rock and Environmental Magnetism. Dinant; 2016: 15–17.
6. *Castanheiro A., Samson R., DeWael K.* Magnetic- and particle-based techniques to investigate metal deposition on urban green. Science of the Total Environment. 2016; 571: 594–602.
7. *Семенова И.Н., Сингизова Г.Ш., Зулкарнаев А.Б., Ильбулова Г.Ш.* Влияние меди и свинца на рост и развитие растений на примере *Anethum graveolens* L. Современные проблемы науки и образования. 2015; 3. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=19568> (дата обращения: 10.11.2019).
8. *Немерешина О.Н., Гусев Н.Ф., Петрова Г.В., Шайхутдинова А.А.* Некоторые аспекты адаптации *Polygonum aviculare* L. к загрязнению почвы тяжелыми металлами. Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2012; 1 (33): 230–234.
9. *Зайцева М.В., Кравченко А.Л., Стекольников Ю.А., Сотников В.А.* Тяжелые металлы в системе почва-растение в условиях загрязнения. Ученые записки Орловского государственного университета. Сер. Естественные, технические и медицинские науки. 2013; 3: 190–192.
10. *Дьякова Н.А.* Эффективность и радиационная безопасность лекарственного растительного сырья подорожника большого, собранного в Центральном Черноземье. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2018; 3 (24): 140–143.
11. *Дьякова Н.А., Сливкин А.И., Гапонов С.П.* Оценка эффективности и безопасности лекарственного растительного сырья подорожника большого, собранного в Центральном Черноземье. Вестник ВГУ. Сер. Химия, биология, фармация. 2018; 1: 124–131.
12. *Дьякова Н.А., Самылина И.А., Сливкин А.И., Гапонов С.П., Кукуева Л.Л., Мындра А.А., Шушуннова Т.Г.* Оценка экологического состояния образцов верхних слоев почв и корней одуванчика лекарственного, отобранных на территории Воронежской области. Вестник ВГУ. Сер. Химия, биология, фармация. 2016; 2: 119–126.
13. *Дьякова Н.А., Сливкин А.И., Гапонов С.П.* Сравнение особенностей накопления основных токсических элементов цветками липы сердцевидной и пижмы обыкновенной. Вестник ВГУ. Сер. Химия, биология, фармация. 2017; 1: 148–154.
14. *Дьякова Н.А.* Накопление тяжелых металлов и мышьяка травой полыни горькой. Известия Саратовского университета. Сер. Химия. Биология. Экология. 2020; 4: 445–453.

15. Dyakova N., Gaponov S., Slivkin A.I., Chupandina E.I. Accumulation of artificial and natural radionuclides in medicinal plant material in the Central Black Soil Region of Russia. *Advances in Biological Sciences Research*. 2019; 7: 94–96.
16. Тринева О.В., Сливкин А.И. Исследование микроэлементного состава листьев крапивы двудомной. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Сер. Медицина. Фармация*. 2015; 22 (219): 169–174.
17. Сливкин А.И., Тринева О.В. Исследования элементного состава лекарственного растительного сырья методом масс-спектрометрии (на примере листьев крапивы двудомной и плодов облепихи крушиновидной). *Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация*. 2016; 1: 152–156.
18. Куркин В.А. Фармакогнозия. Самара: Офорт; 2004. 1180.
19. Государственная фармакопея Российской Федерации. Издание XIV. Т. 2. Москва: ФЭМБ; 2018. 1423.
20. Великанова Н.А., Гапонов С.П., Сливкин А.И. Экооценка лекарственного растительного сырья в урбоусловиях г. Воронежа. LAMBERT Academic Publishing; 2013.

Поступила в редакцию 01.07.2022; принята 05.08.2022.

Автор

Дьякова Нина Алексеевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет». 394007, Россия, г. Воронеж, Университетская пл., 1; e-mail: Ninochka_V89@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0766-3881>.

Образец цитирования

Дьякова Н.А. Изучение элементного состава полыни горькой естественного фитоценоза Воронежской области. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022; 3: 156–165. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-156-165.

ULTIMATE COMPOSITION OF NATURAL WORMWOOD IN VORONEZH REGION

N.A. D'yakova

Voronezh State University, Voronezh, Russia

Studies of the ultimate composition of wild-growing raw material are relevant due to the high efficacy and bioavailability of organometallic forms contained in plants. The available information on the abundance of elements in the medicinal plant raw material (Voronezh region) showed that studies were carried out mainly on several elements. It prevented from determining the complete chemical composition of plants and describing the accumulation of the entire mineral elements complex.

The purpose of the paper is to study how macro and trace elements are accumulated in natural wormwood in Voronezh region.

Materials and Methods. Raw material procurement was carried out during the blooming in the Voronezh State Nature Biosphere Reserve. The method of mass spectrometry was used to study the trace element composition of the samples, ELAN-DRC mass spectrometer.

Results. The authors revealed that the trace element content was 4.4 %, 59 elements were determined. Macro elements made up 96.03 % of the total elemental composition of wormwood. Potassium (>25 mg/g) and calcium (>10 mg/g) were the main macro elements. Essential trace elements made up 3.49 % of the total wormwood complex. Among them, silicon (>1.2 mg/g) and iron (>0.1 mg/g) ranked the largest. The content of normalized heavy metals and arsenic in wormwood satisfied the regulatory requirements. Lead, mercury, cadmium and arsenic accounted for 0.0017 % of the total raw material mineral complex. The proportion of toxic and understudied elements in the total mineral wormwood complex was 0.48 %. The highest content was noted for aluminum (135.6 µg/g), rubidium (27.66 µg/g), strontium (24.95 µg/g), barium (11.98 µg/g), and titanium (9.52 µg/g). It was noted that wormwood also accumulated phosphorus, potassium, copper, zinc, cadmium, molybdenum, calcium, magnesium, nickel, arsenic, rubidium, tin and strontium from the soil.

Key words: wormwood, trace elements, macro elements, medicinal plant raw material, accumulation factors, Voronezh region.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

References

1. Austenfeld F.A. Zur Phytotoxizität von Nickel und Kobaltsalzen in Hydrokultur bei *Phaseolus vulgaris* L. *Z. Pflanzenernähr. und Bodenkunde*. 1979; 142 (6): 769–777.
2. Sharma D.S., Chatterjee C., Sharma C.P. Chromium accumulation and its effects on wheat (*Triticum aestivum* L. cv. HD 2204) metabolism. *Plant. Sci*. 1995; 2: 145–151.
3. Buszewski B., Jastrzebska A., Kowalkowski T. Monitoring of Selected Heavy Metals Uptake by Plants and Soils in the Area of Torun. *Poland Polish Journal of Environmental Studies*. 2000; 6: 511–515.
4. Cataldo D.A., Wildung R.E. Soil and plant factors influencing the accumulation of heavy metals by plants. *Environ Health Perspect*. 1978; 27: 149–159.
5. Castanheiro A., DeWael K., Samson R. *Urban green as indicator of metal pollution. 15th Castle Meeting New trends on Paleo, Rock and Environmental Magnetism*. Dinant; 2016: 15–17.
6. Castanheiro A., Samson R., DeWael K. Magnetic- and particle-based techniques to investigate metal deposition on urban green. *Science of the Total Environment*. 2016; 571: 594 – 602.
7. Semenova I.N., Singizova G.Sh., Zulkaranaev A.B., Il'bulova G.Sh. Vliyanie medi i svintsa na rost i razvitiye rasteniy na primere *Anethum graveolens* L. [The influence of copper and lead on the growth and development of plants on the example of *Anethum graveolens* L.]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; 3. Available at: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=19568> (accessed: November 10, 2019) (in Russian).
8. Nemereshina O.N., Gusev N.F., Petrova G.V., Shaykhutdinova A.A. Nekotorye aspekty adaptatsii *Polygonum aviculare* L. k zagryazneniyu pochvy tyazhelymi metallami [Some aspects of *Polygonum aviculare* L. adaptation to soil contamination with heavy metals]. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2012; 1 (33): 230–234 (in Russian).
9. Zaytseva M.V., Kravchenko A.L., Stekol'nikov Yu.A., Sotnikov V.A. Tyazhelye metally v sisteme pochva-rastenie v usloviyakh zagryazneniya [Heavy metals in soil plant in pollution]. *Uchenye zapiski Orlovskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Estestvennye, tekhnicheskie i meditsinskie nauki*. 2013; 3: 190–192 (in Russian).
10. D'yakova N.A. Effektivnost' i radiatsionnaya bezopasnost' lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya podorozhnika bol'shogo, sobrannogo v Tsentral'nom Chernozem'e [Efficiency and radiative safety of medicinal plant raw materials of the plantain big, collected in the Central Black Earth Region]. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*. 2018; 3 (24): 140–143 (in Russian).
11. D'yakova N.A., Slivkin A.I., Gaponov S.P. Otsenka effektivnosti i bezopasnosti lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya podorozhnika bol'shogo, sobrannogo v Tsentral'nom Chernozem'e [Assessment of the efficiency and safety of medicinal plant raw materials of the waybread, collected in the Central Black Earth Region]. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya, Biologiya, Farmatsiya*. 2018; 1: 124–131 (in Russian).
12. D'yakova N.A., Samylina I.A., Slivkin A.I., Gaponov S.P., Kukueva L.L., Myndra A.A., Shushunova T.G. Otsenka ekologicheskogo sostoyaniya obraztsov verkhnikh sloev pochv i korney oduvanchika lekarstvennogo, otobrannykh na territorii Voronezhskoy oblasti [Assessment of the ecological condition of samples of the top layers of soils and roots of the dandelion medicinal, selected in the territory of the Voronezh region]. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya, Biologiya, Farmatsiya*. 2016; 2: 119–126 (in Russian).
13. D'yakova N.A., Slivkin A.I., Gaponov S.P. Sravnenie osobennostey nakopleniya osnovnykh toksicheskikh elementov tsvetkami lipy serdtsevidnoy i pizhmy obyknovennoy [Comparison of features of accumulation of the basic toxic elements in the flowers of *Tilia Cordata* and *Tanacetum Vulgare*]. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya, Biologiya, Farmatsiya*. 2017; 1: 148–154 (in Russian).
14. D'yakova N.A. Nakoplenie tyazhelykh metallov i mysh'yaka travoy polyni gor'koy [Accumulation of heavy metals and arsenic by wormwood]. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya*. 2020; 4: 445–453 (in Russian).
15. Dyakova N., Gaponov S., Slivkin A.I., Chupandina E.I. Accumulation of artificial and natural radionuclides in medicinal plant material in the Central Black Soil Region of Russia. *Advances in Biological Sciences Research*. 2019; 7: 94–96.
16. Trineeva O.V., Slivkin A.I. Issledovanie mikroelementnogo sostava list'ev krapivy dvudomnoy [Study of trace element composition in great nettle leaves]. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya*. 2015; 22 (219): 169–174 (in Russian).

17. Slivkin A.I., Trineeva O.V. Issledovaniya elementnogo sostava lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya metodom mass-spektrometrii (na primere list'ev krapivy dvudomnoy i plodov oblepikhi krushinovidnoy) [Studies of the elemental composition of medicinal plants by mass spectrometry (for example, nettle leaves and fruits of sea buckthorn)]. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. 2016; 1: 152–156 (in Russian).
18. Kurkin V.A. *Farmakognosiya* [Pharmacognosy]. Samara: Ofort; 2004. 1180 (in Russian).
19. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii* [State pharmacopoeia in the Russian Federation]. Izdanie XIV. Tom 2. Moscow: FEMB; 2018. 1423 (in Russian).
20. Velikanova N.A., Gaponov S.P., Slivkin A.I. *Ekootsenka lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya v urbousloviyakh g. Voronezha* [Ecological assessment of medicinal plant raw materials of Voronezh]. LAMBERT Academic Publishing; 2013: 211 (in Russian).

Received 1 July 2022; accepted 5 August 2022.

Information about the author

D'yakova Nina Alekseevna, Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Chair of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology, Department of Pharmacy, Voronezh State University. 394007, Russia, Voronezh, Universitetskaya Sq., 1; e-mail: Ninochka_V89@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0766-3881>.

For citation

D'yakova N.A. Izuchenie elementnogo sostava polyni gor'koy estestvennogo fitotsenoza voronezhskoy oblasti [Ultimate composition of natural wormwood in Voronezh region]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskiy zhurnal*. 2022; 3: 156–165. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-3-156-165 (in Russian).

ИНФОРМАЦИЯ О ЖУРНАЛЕ

1. В журнале публикуются результаты научных исследований в области медицины, биологии, экологии и здоровьесберегающих технологий. Редакцией принимаются научные обзоры, статьи, оригинальные научные сообщения, методические статьи, рецензии и хроника научных событий.

В журнале публикуются материалы по следующим научным специальностям: 1.5.5. Физиология человека и животных (медицинские науки), 1.5.15. Экология (биологические науки), 1.5.15. Экология (медицинские науки), 1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки), 1.5.24. Нейробиология (медицинские науки), 3.1.4. Акушерство и гинекология (медицинские науки), 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (биологические науки), 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (медицинские науки), 3.1.9. Хирургия (медицинские науки), 3.1.18. Внутренние болезни (медицинские науки), 3.1.20. Кардиология (медицинские науки), 3.1.21. Педиатрия (медицинские науки), 3.1.24. Неврология (медицинские науки).

2. Публикация материалов для аспирантов осуществляется бесплатно.

3. Поступление статьи в редакцию подтверждает полное согласие автора с правилами журнала.

4. Материалы проходят рецензирование специалистов, отбираемых редакционной коллегией, и публикуются после получения положительного отзыва рецензентов и членов редакционной коллегии. Редакция оставляет за собой право производить сокращения или стилистические изменения текста, не затрагивающие содержательной стороны статьи, без согласования с автором(ами).

5. Представляемые в редакцию рукописи не могут быть опубликованы ранее в других изданиях (издательствах) или одновременно направлены в другие издания (издательства) для опубликования. Ставя свою подпись под статьей, автор тем самым передает права на издание статьи редакции, гарантирует, что статья оригинальная.

6. Редакция оставляет за собой право отклонить материалы, не отвечающие тематике журнала и оформленные не по правилам.

ПРАВИЛА ПРЕДСТАВЛЕНИЯ И ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ СТАТЕЙ АВТОРАМИ ИЗЛОЖЕНЫ НА САЙТЕ

<http://www.ulsu.ru/com/institutes/imephc/ulmedbio/>

Рукописи направлять в адрес редакции:
432017, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, д. 42,
Ульяновский государственный университет,
Институт медицины, экологии и физической культуры,
профессор М.В. Балыкин.

Телефон: 8 (8422) 27-24-51 (добавочный – 1);
e-mail: ulsubook@yandex.ru