

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

---

# ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

---

*Ежемесячный научно-теоретический журнал  
Основан в 1946 г.*

Входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК  
Учредитель — Российская академия медицинских наук

**Главный редактор И.И. ДЕДОВ**

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:**

Э.К. АЙЛАМАЗЯН, А.И. АРЧАКОВ, Л.И. АФТАНАС, А.А. БАРАНОВ, В.В. БЕРЕГОВЫХ (зам. гл. редактора), Л.А. БОКЕРИЯ, Н.Н. ВОЛОДИН, Н.Ф. ГЕРАСИМЕНКО, Е.К. ГИНТЕР, П.В. ГЛЫБОЧКО, Е.З. ГОЛУХОВА, В.В. ЗВЕРЕВ, Р.С. КАРПОВ, С.И. КОЛЕСНИКОВ, В.В. КУХАРЧУК, Е.В. ЛУГИНИНА (отв. секретарь), Г.А. МЕЛЬНИЧЕНКО, Н.А. МУХИН, Е.Л. НАСОНОВ, Г.Г. ОНИЩЕНКО, В.И. ПЕТРОВ, В.И. ПОКРОВСКИЙ, В.П. ПУЗЫРЕВ, В.С. САВЕЛЬЕВ, В.Г. САВЧЕНКО, В.И. СЕРГИЕНКО, Г.А. СОФРОНОВ, В.И. СТАРОДУБОВ, З.А. СУСЛИНА (зам. гл. редактора), Г.Т. СУХИХ, В.А. ТУТЕЛЬЯН (зам. гл. редактора), И.Б. УШАКОВ, Р.М. ХАИТОВ, Е.И. ЧАЗОВ, В.П. ЧЕХОНИН, В.И. ЧИССОВ, Е.В. ШЛЯХТО

**НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР: Д.А. НАПАЛКОВ**

---

# 1/2013

---

Журнал «Вестник Российской академии медицинских наук» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 16.09.1992 г. Регистрационный номер №01574.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов.  
Воспроизведение или использование другим способом любой части издания без согласия редакции является незаконным и влечет за собой ответственность, установленную действующим законодательством РФ

Подписные индексы: в агентстве Роспечать — 71488, в агентстве «Пресса России» — 38814

Издательство «ПедиатрЪ»: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2/62, тел./факс: (499) 132-30-43, e-mail: www.spr-journal.ru  
Адрес редакции: 109240, Москва, ул. Солянка, 14, тел.: (495) 698-52-59, e-mail: luginina@ramn.ru, vestramn@mail.ru  
Отпечатано ООО «Ларго», 117342, Москва, Севастопольский проспект, 56/40

THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

---

# ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

---

*Published monthly  
Founded in 1946*

The Journal is in the List of the leading scientific journals and publications  
of the Supreme Examination Board (VAK)  
Founder – The Russian Academy Of Medical Sciences

Editor-in-chief I.I. Dedov

**EDITORIAL BOARD:**

E.K. AILAMAZYAN, A.I. ARCHAKOV, L.I. AFTANAS, A.A. BARANOV, V.V. BEREGOVYKH (deputy editors-in-chief),  
L.A. BOKERIYA, N.N. VOLODIN, N.F. GERASIMENKO, E.K. GINTHER, P.V. GLYBOCHKO, L.Z. GOLUKHOVA,  
V.V. ZVEREV, R.S. KARPOV, S.I. KOLESNIKOV, V.V. KUKHARCHUK, E.V. LUGININA (editorial secretary),  
G.A. MELNICHENKO, N.A. MUKHIN, E.L. NASONOV, I.I. ONISHCHENKO, V.I. PETROV, V.I. POKROVSKII,  
V.P. PUZYREV, V.S. SAVELIEV, V.G. SAVCHENKO, V.I. SERGIENKO, G.A. SOFRONOV, V.I. STARODUBOV,  
Z.A. SUSLINA (deputy editors-in-chief), G.T. SUKHIKH, V.A. TUTELYAN (deputy editors-in-chief), I.B. USHAKOV,  
R.M. KHAITOV, E.I. CHAZOV, V.P. CHEKHONIN, V.I. CHISSOV, E.V. SHLYAKHTO

**RESEARCH EDITOR:** D.A. NAPALCOV

---

# 1/2013

---

Mass media registration certificate dated September, 16, 1992. Series № 01574 Federal service for surveillance over non-violation  
of the legislation in the sphere of mass communications and protection of cultural heritage.

Editorial office takes no responsibility for the contents of advertising material.  
No part of this issue may be reproduced without permission from the publisher. While reprinting publications one must make reference  
to the journal « Annals Of The Russian Academy Of Medical Sciences »

Subscription indices are in the catalogue «Rospechat» 71488

Publisher «PEDIATR»: 2/62, Lomonosov avenue, Moscow, 119991, tel./fax: (499) 132-30-43, e-mail: [www.spr-journal.ru](http://www.spr-journal.ru)  
Correspondence address: 14, Solyanka, Moscow, 109240, tel.: (495) 698-52-59, e-mail: [luginina@ramn.ru](mailto:luginina@ramn.ru); [vestramn@mail.ru](mailto:vestramn@mail.ru)  
Printed in the printing-office «Largo», 56/40, Sevastopolsky prospect, Moscow, 117342

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КАРДИОЛОГИИ

- В.Ф. Максимов, И.М. Коростышевская, А.Л. Маркель, Е.Е. Филюшина, Г.С. Якобсон* Натрийуретические пептиды сердца и артериальная гипертензия: экспериментальное исследование **4**
- Л.Н. Маслов, А.Г. Мрочек, И.Г. Халиулин, Л. Хануш, Ж.-М. Пей, И. Жанг* Адаптивный феномен ишемического посткондиционирования сердца. Перспективы клинического применения **10**

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ НЕВРОЛОГИИ И ПСИХИАТРИИ

- Л.Е. Зиганшина, Т.Р. Абакумова* Церебролизин в лечении острого ишемического инсульта **21**
- А.А. Скрипников, Т.И. Долганова, А.М. Аранович* Особенности функционального состояния церебральных структур у подростков с ахондроплазией **30**
- Ю.Е. Шилов, М.В. Безруков* Кинуренины в патогенезе эндогенных психических заболеваний **35**

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ФАРМАКОЛОГИИ

- В.Г. Кукес, Н.И. Жернакова, Т.В. Горбач, О.В. Ромащенко, В.В. Румбешт* Эффективность милдроната при экспериментальной ишемии миокарда у крыс разного возраста **42**

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ФИЗИОЛОГИИ

- М.А. Афанасьев, С.Л. Кузнецов* Эффекты реальной и моделируемой микрогравитации на некоторые структурно-метаболические параметры скелетных мышц **47**
- Д.В. Гарбузенко* Механизмы адаптации сосудистого русла к гемодинамическим нарушениям при портальной гипертензии **52**

## НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

- Т.А. Бодрова, Д.С. Костюшев, Е.Н. Антонова, Д.А. Гнатенко, М.О. Бочарова, Ю.М. Лопухин, М.А. Пальцев, С.В. Сучков* Введение в предиктивно-превентивную медицину: опыт прошлого и реалии дня завтрашнего **58**
- С.В. Сучков, Д.А. Гнатенко, Д.С. Костюшев, С.А. Крынский, М.А. Пальцев* Протеомика как фундаментальный инструмент доклинического скрининга, верификации анализов и оценки применяемой терапии **65**
- А.В. Павлышин, В.А. Шидловский, П.А. Герасимчук* Пластическое закрытие ран и трофических язв рельефным аутодермотрансплантатом у больных с синдромом диабетической стопы **72**

## ЮБИЛЕИ, ПОЗДРАВЛЕНИЯ

*Николай Александрович Агаджанян*  
*Владимир Игоревич Злобин*  
*Лев Владимирович Кактурский*

## CARDIOLOGY: CURRENT ISSUES

- V.F. Maksimov, I.M. Korostyshevskaya, A.L. Markel, E.E. Filyushina, G.S. Jakobson* Cardiac natriuretic peptides and hypertension: experimental STUDY **4**
- L.N. Maslov, A.G. Mrochek, I. Khaliulin, L. Hanus, J.-M. Pei, Y. Zhang* Adaptive phenomenon of ischemic post-conditioning of the heart. Perspectives of clinical use **10**

## NEUROLOGY AND PSYCHIATRY: CURRENT ISSUES

- L.E. Ziganshina, T.R. Abakumova* Cerebrolysin for acute ischemic stroke **21**
- A.A. Skripnikov, T.I. Dolganova, A.M. Aranovich* Peculiarities of cerebral structures functioning in adolescents with achondroplasia **30**
- Y.E. Shilov, M.V. Bezrukov* Kynurenines in pathogenesis of endogenous psychiatric disorders **35**

## PHARMACOLOGY: CURRENT ISSUES

- V.G. Kukes, N.I. Zernakova, T.V. Gorbach, O.V. Romashenko, V.V. Rumbesht* Efficiency of mildronate in rats of different age with experimental-induced myocardial ischemia **42**

## PHYSIOLOGY: CURRENT ISSUES

- M.A. Afanasyev, S.L. Kuznetsov* Effects of a real and modeled microgravity influencing on some structural and metabolic parameters of skeletal muscles **47**
- D.V. Garbuzenko* The mechanisms of adaptation of the vascular bed to hemodynamic changes in portal hypertension **52**

## SCIENTIFIC REPORTS

- T. Bodrova, D. Kostushev, E. Antonova, D. Gnatenko, M. Bocharova, Y. Lopukhin, M. Paltsev, S. Suchkov* Introduction into PPPM: experience of the past and tomorrow's reality **58**
- S.V. Suchkov, D.S. Kostushev, S.A. Krynskiy, D.A. Gnatenko, M.A. Paltsev* Proteomics as a fundamental tool for subclinical screening, tests verification and assessment of applied therapy **65**
- A.V. Pavlyshyn, V.O. Shidlovskiy, P.O. Herasimchuk* Plastic closure of wounds and trophic ulcers in patients with diabetic foot syndrome by relief autoshred **72**

## ANNIVERSARIES, CONGRATULATIONS

**76** *Nikolai Aleksandrovich Agadzhanian*  
**77** *Vladimir Igorevich Zlobin*  
**78** *Lev Vladimirovich Kakturskii*

В.Ф. Максимов<sup>1</sup>, И.М. Коростышевская<sup>1</sup>, А.Л. Маркель<sup>2</sup>, Е.Е. Филошина<sup>1</sup>, Г.С. Якобсон<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ физиологии Сибирского отделения РАМН, Новосибирск, Российская Федерация

<sup>2</sup> Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Российская Федерация

## Натрийуретические пептиды сердца и артериальная гипертензия: экспериментальное исследование

*Особенности секреции сердечных натрийуретических пептидов изучали на модели гипертонической болезни у крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией по ходу онтогенеза (линии НИСАГ). Ультраструктурные качественные и количественные исследования миокарда правого предсердия показали, что активность синтеза и секреции сердечных гормонов у крыс линии НИСАГ выше, чем у нормотензивных одновозрастных животных. Секреторная гиперактивность предсердных миоцитов у крыс линии НИСАГ на ранних этапах онтогенеза предшествует проявлению наследственной гипертензии. Натрийуретические пептиды служат гипотензивным контуром в регуляции гемодинамики на всех этапах онтогенеза и дополнительным к другим гормональным системам регуляторным звеном формирования гипертензии.*

**Ключевые слова:** натрийуретические пептиды, сердце, гипертензия, эксперимент.

4

### Введение

Несмотря на многолетние усилия клиницистов и исследователей, этиопатогенез эссенциальной артериальной гипертензии (АГ) в основных аспектах остается неизвестным, что существенно снижает эффективность борьбы с этим «бичом» современного общества. В общепринятой схеме ведущие факторы — генетическая предрасположенность и длительный психоэмоциональный стресс — вызывают каскад нейрогуморальных сдвигов, приводящих к повышению периферического сопротивления. Пока в этой концепции нет места новой антипрессорной системе натрийуретических пептидов. На то есть объективные причины: они были открыты только 30 лет назад, по поводу их физиологических эффектов и механизмов действия ведутся активные дискуссии, еще меньше ясности касательно их участия в патологических процессах.

Сердечные гормоны — небольшие пептиды с кольцевой структурой — получили название «натрийуретические» благодаря своей способности снижать артериальное давление (АД) и поддерживать водно-солевое равновесие путем стимуляции натрийуреза, диуреза и уменьшения периферического сопротивления [1]. Кроме того, было показано, что сердечные пептиды вызывают повышение проницаемости капилляров, расслабляют мускулатуру бронхов, увеличивают кровоток в почках и легких и благоприятно воздействуют на сердце, замедляя развитие гипертрофии миокарда и кардиосклероза [2]. В совокупности их основные и опосредованные эффекты сводятся к антагонизму с ренин-ангиотензин-альдостероновой системой.

Натрийуретические пептиды синтезируются в мышечных клетках предсердий, накапливаются в секреторных гранулах и выделяются в кровь при механическом растяжении полостей избыточным объемом или дав-

V.F. Maksimov<sup>1</sup>, I.M. Korostyshevskaya<sup>1</sup>, A.L. Markel<sup>2</sup>, E.E. Filyushina<sup>1</sup>, G.S. Jakobson<sup>1</sup>

<sup>1</sup> State Research Institute of Physiology, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

### Cardiac natriuretic peptides and hypertension: experimental STUDY

*The peculiarities of cardiac natriuretic peptide secretion have been investigated during ontogenesis using the hypertonic disease model in ISIAH rat line (with inherited stress induced arterial hypertension). The qualitative and quantitative ultrastructural investigations of right atrium myocardium revealed that the cardiac hormonal synthetic and secretory activities in ISIAH rats are higher as compared with normotensive even-aged rats from control group. Secretory hyperactivity of atrial myocytes in ISIAH rats during early ontogeny precedes the manifestations of hereditary hypertension. Natriuretic peptides present the hypotensive circuit of hemodynamic regulation during the whole ontogeny and the complementary chain in hypertension development.*

**Key words:** cardiac natriuretic peptides, heart, hypertension, experiment.

лением крови. Секретию стимулируют также многочисленные воздействия, опосредованные растяжением предсердий: увеличение объема циркулирующей крови, АГ и солевые нагрузки, гипоксия, ишемия миокарда, сосудосуживающие гормоны и лекарственные средства.

Представляется логичным, что система натрийуретической регуляции должна быть задействована при развитии АГ и других нарушениях гемодинамики. Накопленные в клинической и экспериментальной практике факты подтверждают, что концентрация пептидов в крови значительно повышена при всех формах АГ и сердечной дисфункции. Однако причинно-следственные отношения остаются совершенно не ясными ввиду скудности знаний об этих пептидах в норме и при развитии патологии. До сих пор не разработаны точные, чувствительные и специфические способы определения содержания натрийуретических пептидов из-за их структурных, метаболических и физиологических особенностей. Пиколярные концентрации усугубляют проблему: внутриклеточные механизмы синтеза, накопления и выведения гормонов изучены весьма поверхностно из-за методических трудностей их идентификации и визуализации [3]. Практически ничего не известно о функционировании натрийуретических гормонов на ранних этапах онтогенеза и в эмбриональном периоде, когда закладываются основы многих патологических состояний [4, 5]. Особенности становления эндокринной функции миокарда предсердий при генетической предрасположенности к АГ и повышенной стресс-чувствительности организма представляют особый интерес и для фундаментальной науки, и для клинической практики. Для решения подобных задач во всем мире давно и достаточно эффективно используют экспериментальные модели.

Цель исследования: оценить особенности секреции натрийуретических пептидов в предсердиях в ходе онтогенеза и обосновать их участие в развитии и поддержании АГ на модели гипертонической болезни у крыс.

### Материалы и методы

Крыс линии НИСАГ (ISIAN) с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией [6] и линии ВАГ (WAG, нормотензивный контроль) содержали в стандартных условиях вивария с водой и пищей без ограничения. Ультроструктуру миокарда правого предсердия изучали у эмбрионов на 18-е сут развития, у крысят — на 12-е и 21-е сут после рождения, у самцов — на 6-м мес жизни. У половозрелых животных измеряли систолическое базальное АД сфигмографическим методом на хвосте (tail-cuff method) на фоне кратковременного эфирного рауш-наркоза, что позволило минимизировать влияние психического стресса, связанного с процедурой измерения. Животных умерщвляли под эфирным наркозом гильотинированием согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» и директиве Европейского Сообщества (86/609/ЕС).

Для электронно-микроскопического исследования правое предсердие (от 5–6 животных в каждой группе) фиксировали в растворе 2,5% глутарового альдегида и 2% параформа, дофиксировали в 1,5% растворе OsO<sub>4</sub>, заливали в смесь эпона с аралдитом. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, просматривали под электронным микроскопом «JEM-1400» (Jeol, Япония), фотографировали камерой «Velela 4 Mpxl» (Olympus, Япония). В пакете «iTEM 5.1» (Olympus,

Япония) измеряли кардиомициты в области ядра и диаметры секреторных гранул в них. Не менее чем на 15 случайных полях зрения каждого образца при увеличении  $\times 10\,000$  с помощью квадратной тестовой решетки с шагом 1 мкм определяли относительные объемы органоидов в цитоплазме кардиомицитов, подсчитывали численную плотность секреторных гранул.

Статистическую обработку вариационных рядов и проверку их на нормальность распределения проводили в пакете программ Statistica 6.0. Результаты представлены в виде среднего и ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Достоверность различий с контролем определяли при помощи *t*-критерия Стьюдента для  $p < 0,05$ .

### Результаты

Ультроструктурное исследование миокарда правого предсердия у 6-месячных крыс-гипертоников показало, что в цитоплазме многих кардиомицитов накапливается огромное число секреторных гранул, содержащих натрийуретические пептиды. В некоторых клетках они образуют крупные скопления возле ядра, располагаются между миофибриллами и на периферии клетки. Их число на срезе клетки может достигать нескольких сотен (рис. 1). Такие клетки удобнее определять как миоэндокринные, в отличие от сократительных, в срезе которых попадаются единичные гранулы, или же они вовсе отсутствуют.

Количественное ультроструктурное исследование продемонстрировало, что миоэндокринные клетки гипертонических животных значительно крупнее (диаметр в зоне ядра  $11,8 \pm 0,40$  мкм против  $7,8 \pm 0,11$  мкм в контроле). В их цитоплазме достоверно больший объем занимают органоиды, отвечающие за секреторный процесс, в первую очередь комплекс Гольджи, где формируются гранулы с запасами пептидов. При одинаковом размере гранул (252–255 нм в диаметре) их суммарный объем

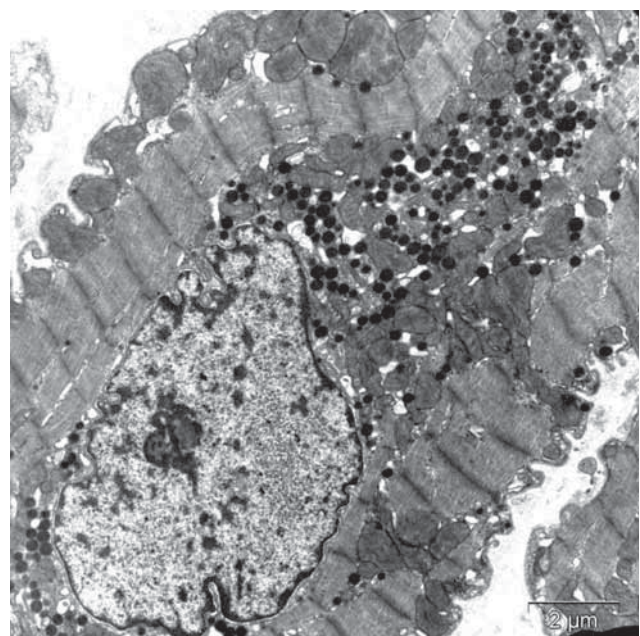
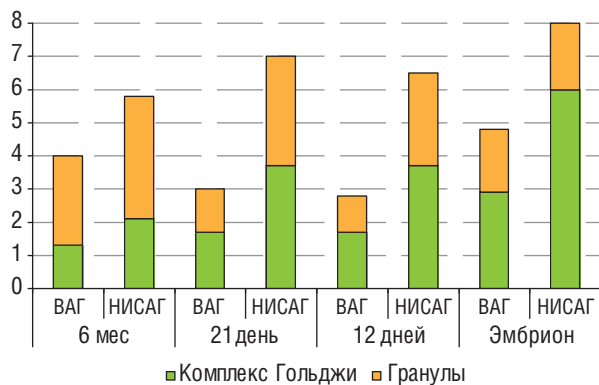


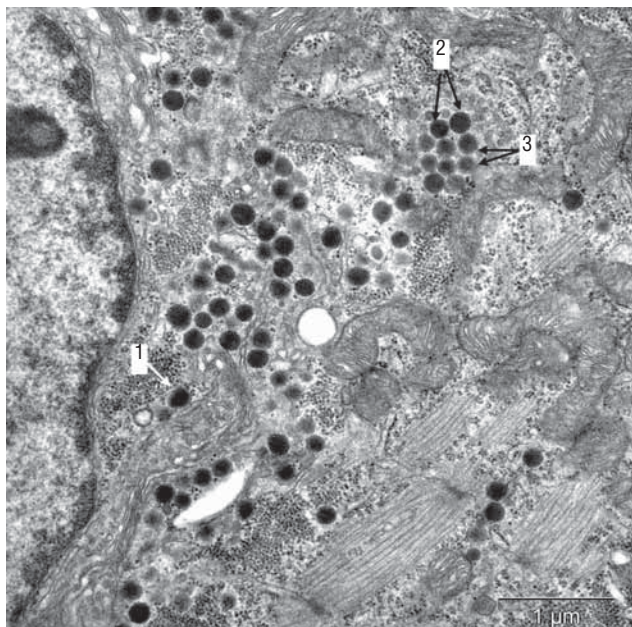
Рис. 1. Многочисленные крупные секреторные гранулы в миоэндокринной клетке правого предсердия у 6-месячной крысы с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией. Электронограмма. Масштаб 2 мкм.



**Рис. 2.** Объемная доля (%) секреторных гранул и комплекса Гольджи в миоэндокринных клетках предсердий у крыс в онтогенезе.

у гипертензивных животных намного превышает таковой у одновозрастных животных из контрольной группы (рис. 2).

Для удобства анализа было выделено 3 основные морфологические формы гранул: формирующиеся, зрелые и растворяющиеся. Секреторные гранулы, представляющие собой на срезах округлые тельца с электронно-плотной сердцевиной, окруженной одинарной мембраной, принято обозначать как зрелые формы. Гранулы, имеющие сердцевины неравномерной и сниженной плотности без четкой ограничительной мембраны, края которых на срезе выглядели размытыми и неровными, относили к растворяющимся формам. Мелкие гранулы с четким светлым ободком под мембраной, располагающиеся в зоне Гольджи, считали формирующимися (рис. 3). Такая классификация достаточно информативна и успешно используется в морфологических исследованиях подобного рода.

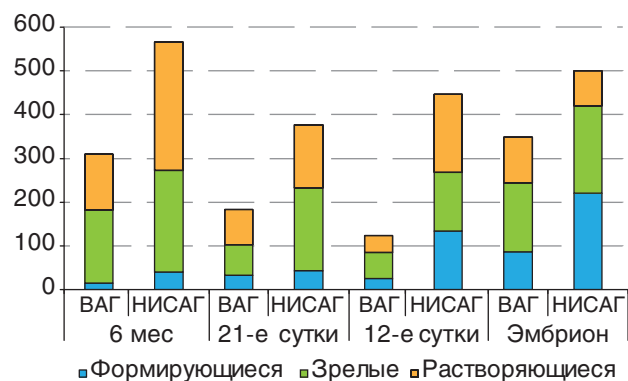


**Рис. 3.** Разнообразие секреторных гранул в миоэндокринных клетках правого предсердия у крыс. Электронограмма. Масштаб 1 мкм.

*Примечание.* 1 — формирующиеся, 2 — зрелые, 3 — растворяющиеся формы.

При помощи указанного методического приема удалось доказать, что клетки гипертензивных животных отличаются от таковых в контрольной группе не только по числу, но и по качественному составу гранул. Если у нормотензивных крыс преобладают зрелые формы, то у крыс линии НИСАГ достоверно больше формирующихся и растворяющихся разновидностей (рис. 4). Число зрелых гранул отражает объем секреторного депо как баланс между синтезом и выделением. Этот баланс у крыс с гипертонией явно нарушен. Наличие большой доли (52%) растворяющихся гранул в общем внутриклеточном пуле у гипертензивных животных можно интерпретировать как острую реакцию секреторного аппарата на внешние стимулы: повышенную стресс-чувствительность на манипуляции, связанные с проведением эксперимента (перемещение в другое помещение, взвешивание, наркоз и др.).

У крысят гипертензивной линии на 1-м мес жизни в период молочного вскармливания, когда АД еще не повышено, предсердные миоциты уже гипертрофированы, причем значительно (на 12-е сут жизни средний диаметр составил  $7,3 \pm 0,1$  против  $6,0 \pm 0,09$  мкм в группе контроля). В них уже имеются все достоверные морфологические признаки гиперактивного синтеза и секреции натрийуретических пептидов. Секреторный аппарат у них развит намного сильнее, чем у одновозрастного контроля, причем с разницей по относительному объему в 2–2,5 раза, т.е. значительно нагляднее, чем у взрослых животных с высоким давлением (в 1,5 раза) (см. рис. 2). По мере роста крысят на 1-м мес жизни в миоэндокринных клетках наблюдается определенная динамика в соотношении гранул разного типа. К 21-м сут постнатальной жизни, когда детеныши переходят на самостоятельное питание, секреторные гранулы у крысят НИСАГ по размеру сравнимы с таковыми у взрослых крыс-гипертоников и значительно крупнее, чем у одновозрастных животных из группы контроля (средний диаметр —  $251 \pm 3,2$  и  $227 \pm 3,0$  нм, соответственно). Их число в клетке превышает контрольное в 2 раза при значительном преобладании зрелых и растворяющихся форм (см. рис. 4). Эти качественные и количественные характеристики секреторного процесса сближают их с таковыми в миоэндокринных клетках у взрослых гипертензивных животных. У маленьких крысят на 12-е сут постнатальной жизни, когда только прорезываются глаза, гранулы мелкие (диаметр  $211 \pm 4,4$  против  $229 \pm 5,9$  нм в контроле), но их почти



**Рис. 4.** Численная плотность (на  $1000 \mu\text{м}^2$ ) и состав секреторных гранул в миоэндокринных клетках предсердий у крыс в онтогенезе.

в 4 раза больше при приблизительно равном соотношении формирующихся, зрелых и растворяющихся форм.

В миоэндокринных клетках 18-суточных эмбрионов были обнаружены очень высокие показатели объемной доли многочисленных секреторных гранул всех типов и комплексов Гольджи (рис. 2, 5). Анализ показал, что у эмбрионов НИСАГ гранулы мельче (диаметр  $143 \pm 1,9$  против  $180 \pm 2,3$  нм в контроле), зато число гранул в 1,5 раза больше, чем в контроле, и почти 1/2 (44%) из них составляют формирующиеся (см. рис. 4). У одновозрастных эмбрионов контрольной линии ВАГ в составе гранул 1/2 зрелых и приблизительно по 1/4 формирующихся и растворяющихся разновидностей (см. рис. 4). Отметим, что баланс синтеза и выделения секрета у 18-суточных эмбрионов линии НИСАГ нарушен в пользу активного формирования гранул, что сближает их с клетками 12-суточных крысят, но категорически отличает от взрослых крыс-гипертоников с сильным преобладанием процессов выделения накопленного продукта (см. рис. 4). Можно заключить, что у крыс гипертензивной и стресс-чувствительной линии на самых ранних стадиях онтогенеза имеется повышенная потребность в натрийуретических пептидах, поэтому они активно синтезируются и выделяются в кровь. Это может быть вызвано генетически запрограммированными особенностями развития, но нельзя исключить и воздействия внешних факторов на эмбрион (высокое давление и гормональные дисбалансы беременной крысы) и на крысят при молочном вскармливании (повышенная стресс-чувствительность кормящих самок линии НИСАГ).

### Обсуждение

Линия крыс НИСАГ была выведена как модель гипертонической болезни в Институте цитологии и генетики СО РАН на основе аутбредной линии Вистар. Базальное АД у взрослых самцов этой линии колеблется в среднем на уровне 180 мм рт.ст., а в условиях эмоционального стресса достигает 220 мм рт.ст. (рис. 6). Стойкое достоверное повышение АД у крыс этой линии регистрируется на 2-м мес жизни и сопровождается изменениями гипофизарно-надпочечниковой, ренин-ангиотензин-альдостероновой и инсулин-адреналовой системы, а также развитием соответствующих структурных изменений в органах [7]. У 6-месячных крыс на фоне высокого АД в левом желудочке сердца развиваются соответствующие морфологические изменения: кардиомегалия, гипертрофия кардиомиоцитов, кардиосклероз, утолщение стенок и уменьшение просвета коронарных артерий по сравнению с таковыми у одновозрастных нормотензивных крыс. Это свидетельствует об адекватности модели и на внутриорганном уровне. Следует отметить, что признаки гипертрофии левого желудочка и все остальные изменения в нем также появляются на 2-м мес жизни, когда генетически закрепленная гиперчувствительность к стрессу выражается в стойком повышении АД. В более раннем возрасте (на 21-й день жизни) при еще нормальном АД большинство показателей не отличаются или даже отстают от таковых у одновозрастных животных группы контроля [8]. Это говорит о том, что структурные изменения миокарда левого желудочка у взрослых крыс являются ответной компенсаторной реакцией на гемодинамические нарушения, обусловленные повышением периферического сопротивления.

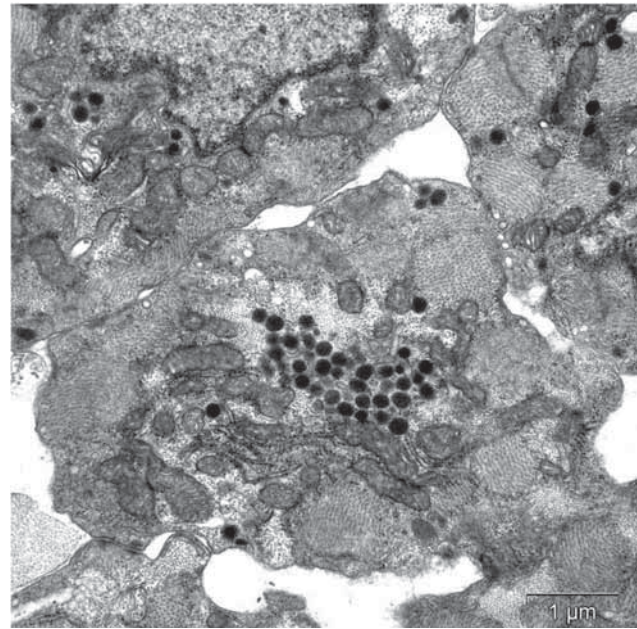


Рис. 5. Многочисленные секреторные гранулы в миоэндокринных клетках правого предсердия у эмбриона крысы с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией (линии НИСАГ) на 18-е сут развития. Электронограмма. Масштаб 1 мкм.

Продемонстрированная в работе усиленная экспрессия натрийуретических пептидов в предсердиях взрослых гипертензивных крыс НИСАГ — факт малоизвестный, но не уникальный. В литературе подобные наблюдения зафиксированы у спонтанно гипертензивных крыс линии SHR, у SHR-SP с экспериментальной злокачественной гипертензией, у крыс с реноваскулярной гипертензией, с сердечной декомпенсацией после аортокавального шунтирования [9]. Известно также, что и у больных с сердечно-сосудистой патологией концентрация сердечных гормонов в крови значительно повышена, что может

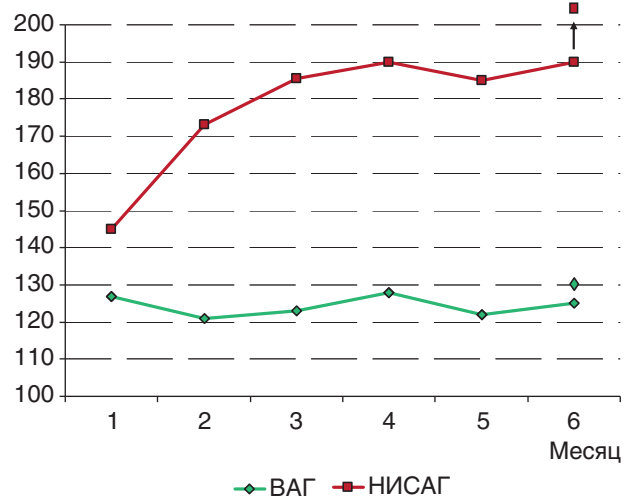


Рис. 6. Динамика базального артериального давления (мм рт.ст.) у крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией (линии НИСАГ) и нормотензивных одновозрастных животных (ВАГ) в онтогенезе и повышение его при стрессе.

служить важным диагностическим и прогностическим критерием [10, 11].

Однако если внимательно анализировать представленный материал, должно возникнуть естественное недоумение. Если сердечные натрийуретические пептиды оказывают столь благотворное антигипертензивное и органосохраняющее действие на сердце, почки, гемодинамику и другие системы, то логично предположить, что при АГ именно это звено должно быть подавлено, а прессорная регуляция усилена. Однако в реальности картина другая. Почему у наших животных на фоне высокой миоэндокринной активности давление с возрастом неуклонно повышается, они хуже размножаются и рано гибнут? Почему у больных со злокачественной гипертензией концентрация гормонов в крови зашкаливает, а они страдают от отеков? Исследователи безуспешно пытаются найти объяснение «гормональному парадоксу»: почему при патологии натрийуретических пептидов много, а эффекта нет. Объяснение этому пока не найдено. Высказывают предположение о том, что происходит снижение чувствительности почек и уменьшение числа специфических рецепторов к гормону, следствием чего является задержка воды, и развивается т.н. неэффективная компенсация [12]. По мнению других авторов [13], «эндокринный парадокс» связан с недостаточностью внутриклеточного созревания (процессинга) прогормона в гормон.

Большое число исследований было проведено с целью использования показателей содержания сердечных пептидов в крови для прогнозирования смертности и/или выживаемости больных с сердечной патологией. Накопленный клинический опыт показал, что больные с сердечной недостаточностью хорошо отвечают на внутривенное введение синтетических гормонов. К сожалению, разработанный препарат на основе натрийуретических пептидов Nesiritide/Natrecor (SCIOS, Sunnyvale, CA, USA) пока обладает достаточно серьезными побочными эффектами [14].

В настоящем исследовании была сделана попытка обосновать тезис, что наличие натрийуретической секреции в предсердных кардиомиоцитах кардинальным образом отличает их от миокарда желудочков по отношению к гипертензии: их изменения предшествуют, а не следуют за повышением АД. Попытка объяснить гиперфункцию натрийуретической системы как неэффективную компенсаторную реакцию на высокое АД не согласуется с данными, полученными нами при изучении ранних этапов онтогенеза.

Показано, что у эмбрионов и у крысят линии НИСАГ на 1-м мес жизни, когда давление еще не повышено, в предсердных миоцитах уже имеются достоверные морфологические признаки гиперактивного синтеза и секреции натрийуретических пептидов. У одновозрастного контроля мы обнаружили меньшее число и более сбалансированный по составу гранулярный пул на всем протяжении раннего онтогенеза. Кроме того, у 12-суточных крысят гипертензивной линии уже имеются признаки гипертрофии миоэндокринных клеток, что принципиально отличает их от сократительных миоцитов левого желудочка.

Тщательный анализ числа и состава секреторных гранул миоэндокринных клеток на этапах онтогенеза у крыс линии НИСАГ позволил установить, что в период между 12-м и 21-м днем жизни крысят происходит изменение характера секреторного процесса в клетках. У эмбрионов и маленьких крысят гранул много, они мелкие, и преобладают формирующиеся формы. У более зрелых

крысят и взрослых крыс с высоким АД гранулы крупные, и подавляющее большинство из них — зрелые и растворяющиеся формы. Другими словами, на 3-й нед жизни у крыс линии НИСАГ происходит изменение характера секреции натрийуретических пептидов: условно говоря, с «транзитного» базального на «накопительный» регулируемый тип секреции [15]. С одной стороны, это может быть стадией перехода от «эффективной» адаптации к «неэффективной» компенсации, которая предшествует фенотипическому проявлению генетически запрограммированных нарушений в виде стойкой гипертензии. С другой — подтверждает хорошо известный тезис о том, что «корни» многих сердечно-сосудистых заболеваний нужно искать в эмбриогенезе и/или в раннем детстве.

Существуют лишь разрозненные указания на то, что в ответ на те же, что и у взрослых особей, стимулы, у эмбрионов концентрация пептидов в крови повышается, и они демонстрируют аналогичные физиологические эффекты. Разница состоит в том, что у эмбрионов существенный вклад в секрецию вносят еще и желудочки, а сами пептиды оказывают выраженное местное влияние на рост миоцитов и сердца в целом. Кроме того, они, расширяя сосуды плаценты, влияют на кровоснабжение плода [16].

Следует учесть, что у эмбрионов обеих изученных линий в миокарде предсердий встречались клетки на разных стадиях дифференцировки. Секреторные гранулы обнаруживали преимущественно в миоцитах со средним диаметром около 6 мкм, содержанием миофибрилл 36–37%, митохондрий — 17–19% и гликогена — 22–23%. Такая внутриклеточная композиция свидетельствует о незавершенности морфогенеза миокарда предсердий на этой стадии эмбриогенеза. Установленное высокое содержание секрета в этих миоэндокринных клетках (см. рис. 2) может не вполне соответствовать содержанию пептидов в крови эмбрионов, поскольку число таких клеток в миокарде на данной стадии онтогенеза доподлинно неизвестно. После завершения дифференцировки в постнатальном периоде секреторная активность клеток лучше отражает уровень пептидов в крови.

Из вышесказанного следует, что отношение к сердцу как к механическому насосу следует применять, в первую очередь, к «рабочему» миокарду желудочков, а предсердия рассматривать как одно из звеньев регуляции гемодинамики на всех этапах онтогенеза.

## Заключение

Активность синтеза и секреции натрийуретических пептидов в предсердиях у крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией (НИСАГ) выше, чем у нормотензивных одновозрастных животных. Наиболее существенная разница наблюдается на ранних этапах онтогенеза, когда наследственная патология (гипертензия) еще не проявляется.

Секреторная гиперактивность предсердных миоцитов у крыс линии НИСАГ на ранних этапах онтогенеза предшествует проявлению наследственной гипертензии и участвует в ее развитии, а изменения миокарда желудочков отражают компенсаторную реакцию на повышение сосудистого сопротивления и артериального давления.

Натрийуретические пептиды — гипотензивный контур в регуляции гемодинамики на всех этапах онтогенеза и дополнительное к другим гормональным системам регуляторное звено формирования гипертензии.



ЛИТЕРАТУРА

- de Bold A.J., Bruneau B.G., de Bold M.L. Mechanical and neuro-endocrine regulation of the endocrine heart. *Cardiovasc. Res.* 1996; 31: 7–18.
- D'Souza S.P., Davis M., Baxter G.F. Autocrine and paracrine actions of natriuretic peptides in the heart. *Pharmacol. Ther.* 2004; 101 (2): 113–129.
- Clerico A., Ry S.D., Giannessi D. Measurement of cardiac natriuretic hormones (atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and related peptides) in clinical practice: the need for a new generation of immunoassay methods. *Clin. Chemistry.* 2000; 46: 1529–1534.
- Максимов В.Ф., Коростышевская И.М. Гормональная система сердца как звено регуляции гемодинамики и водно-солевого гомеостаза. *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2011; 97 (3): 263–275.
- Коростышевская И.М., Максимов В.Ф. Где и когда в сердце секретируются натрийуретические пептиды. *Онтогенез.* 2012; 43 (3): 217–228.
- Маркель А.Л. Генетическая модель индуцированной стрессом артериальной гипертензии. *Изв. АН СССР. Сер. биол.* 1985; 3: 466–469.
- Маслова Л.Н., Шишкина Г.Н., Булыгина В.В. и др. Катехоламины мозга и гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система при наследственной артериальной гипертензии. *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 1996; 82 (4): 30–38.
- Шмерлинг М.Д., Бузуева И.И., Коростышевская И.М. и др. Стереоморфометрическое исследование органов-мишеней у крыс с наследственной артериальной гипертензией в разные периоды постнатального онтогенеза при изменении условий вскармливания. *Морфология.* 2005; 128 (4): 85–90.
- Kawakami H., Okayama H., Hamada M. et al. Alteration of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide gene expression associated with progression and regression of cardiac hypertrophy in renovascular hypertensive rats. *Clin. Sci.* 1996; 90: 197–204.
- Clerico A., Emdin M. Diagnostic accuracy and prognostic relevance of the measurement of cardiac natriuretic peptides: a review. *Clin. Chem.* 2004; 50: 33–50.
- Goetze J.P. Biosynthesis of cardiac natriuretic peptides. *Results Probl. Cell Differ.* 2010; 50: 97–120.
- Qing G., Garcia R. Characterisation of plasma and tissue atrial natriuretic factor during development of moderate high output heart failure in the rat. *Cardiovasc. Res.* 1993; 27 (3): 464–470.
- Goetze J.P., Kastrup J., Rehfeld J.F. The paradox of increased natriuretic hormones in congestive heart failure patients: does the endocrine heart also fail in heart failure? *Eur. Heart. J.* 2003; 24: 1471–1472.
- Vesely D.L. Discovery of new cardiovascular hormones for the treatment of congestive heart failure. *Cardiovasc. Hematol. Disord. Targets.* 2007; 7 (1): 47–62.
- Ogawa T., Vatta M., Bruneau B.G. et al. Characterization of natriuretic peptide production by adult heart atria. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 1999; 276 (Issue 6): 1977–1986.
- Cameron V.A., Ellmers L.J. Minireview: natriuretic peptides during development of the fetal heart and circulation. *Endocrinology.* 2003; 144 (6): 2191–2194.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Якобсон Григорий Семенович**, академик РАН, главный научный сотрудник ФГБУ «НИИ физиологии» СО РАН  
**Адрес:** 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 4; **тел.:** (383) 334-89-61; **E-mail:** jakobsongs@ngs.ru

**Максимов Валерий Федорович**, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник ФГБУ «НИИ физиологии» СО РАН  
**Адрес:** 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 4; **тел.:** (383) 334-89-70; **E-mail:** kor@physiol.ru

**Коростышевская Ирина Марковна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «НИИ физиологии» СО РАН  
**Адрес:** 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 4; **тел.:** (383) 334-89-70; **E-mail:** kor@physiol.ru

**Филошина Елена Евгеньевна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «НИИ физиологии» СО РАН  
**Адрес:** 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 4; **тел.:** (383) 334-89-61; **E-mail:** eefil@physiol.ru

**Маркель Аркадий Львович**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник ФГБУ «Институт цитологии и генетики» СО РАН  
**Адрес:** 630090, Новосибирск, пр-т акад. Лаврентьева, д. 10; **тел.:** (383) 363-49-35; **E-mail:** markel@bionet.nsc.ru

Л.Н. Маслов<sup>1</sup>, А.Г. Мрочек<sup>2</sup>, И.Г. Халиулин<sup>3</sup>, Л. Хануш<sup>4</sup>, Ж.-М. Пей<sup>5</sup>, И. Жанг<sup>6</sup>

<sup>1</sup> НИИ кардиологии СО РАМН, Томск, Российская Федерация

<sup>2</sup> Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup> Университет Бристоля, Великобритания

<sup>4</sup> Институт исследований лекарств, Еврейский университет Иерусалима, Израиль

<sup>5</sup> Четвертый военный-медицинский университет, Ксиань, провинция Шаанкси, Китай

<sup>6</sup> Медицинский университет Хебея, Шиджиажуанг, провинция Хебей, Китай

## Адаптивный феномен ишемического посткондиционирования сердца. Перспективы клинического применения

Анализ экспериментальных данных свидетельствует о том, что старение и метаболический синдром могут быть серьезными препятствиями для реализации кардиопротекторного эффекта посткондиционирования. Умеренная гиперхолестеринемия, постинфарктный кардиосклероз и гипертрофия сердца не устраняют защитный эффект посткондиционирования у экспериментальных животных. Вопрос о том, влияют ли экспериментальный сахарный диабет и артериальная гипертензия на эффективность посткондиционирования, является предметом дискуссии. Клинические исследования свидетельствуют о кардиопротекторном действии посткондиционирования у больных острым инфарктом миокарда и кардиохирургических пациентов. Вместе с тем остается неясным, в какие сроки после появления коронарной окклюзии посткондиционирование оказывает кардиопротекторный эффект. Также остается неизвестным, как влияют старение, сахарный диабет, метаболический синдром, артериальная гипертензия, гипертрофия миокарда, постинфарктное ремоделирование сердца на эффективность посткондиционирования в клинической практике. Требуется дальнейшие клинические исследования, направленные на разработку фармакологических подходов к профилактике реперфузионных повреждений сердца.

**Ключевые слова:** сердце, ишемия, реперфузия, острый инфаркт миокарда, кардиохирургические вмешательства.

10

### Введение

Феноменом ишемического посткондиционирования принято называть повышение толерантности сердца к действию длительной ишемии и реперфузии с помощью нескольких циклов кратковременной реперфузии

и ишемии во время возобновления коронарного кровоснабжения [1]. Мы полагаем, что посткондиционирование можно рассматривать как пример срочной адаптации сердца к ишемии—реперфузии. С общей информацией о сути феномена можно ознакомиться в соответствующих обзорных и оригинальных статьях [1–8]. В экспери-

L.N. Maslov<sup>1</sup>, A.G. Mrochek<sup>2</sup>, I. Khaliulin<sup>3</sup>, L. Hanus<sup>4</sup>, J.-M. Pei<sup>5</sup>, Y. Zhang<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Institution «Research Institute for Cardiology» of Siberian Branch under the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, Russia

<sup>2</sup> Republic Scientific-Practical Center «Cardiology», Minsk, Belarus

<sup>3</sup> University of Bristol, Bristol, UK

<sup>4</sup> Institute for Drug Research, Faculty of Medicine, Hebrew University of Jerusalem, Israel

<sup>5</sup> Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi Province, China

<sup>6</sup> Hebei Medical University, Shijiazhuang, China

## Adaptive phenomenon of ischemic postconditioning of the heart. Perspectives of clinical use

Analysis of experimental data indicates that aging, metabolic syndrome may be serious obstacle against realization of cardioprotective effect of postconditioning. The moderate hypercholesterolemia, postinfarction cardiosclerosis and cardiac hypertrophy do not abolish protective effect of postconditioning in experimental animals. The issue whether diabetes mellitus and arterial hypertension affect an efficacy of postconditioning is a subject of discussion. Clinical investigations testify on cardioprotective impact of postconditioning in patients with acute myocardial infarction and cardiosurgery patients. At the same time, it is remained unclear when after coronary artery occlusion postconditioning exhibits cardioprotective effect. It is remained unknown how do affect aging, diabetes mellitus, metabolic syndrome, arterial hypertension, myocardial hypertrophy, cardiac postinfarction remodeling and efficacy postconditioning in clinical praxis. It is required a further clinical investigations turning the development pharmacological approaches to prophylaxis of reperfusion injury of the heart.

**Key words:** heart, ischemia, reperfusion, acute myocardial infarction, cardiosurgery intervention.

ментальных исследованиях феномен посткондиционирования обычно воспроизводят на здоровых животных. В реальной клинической ситуации чаще приходится иметь дело с пожилыми пациентами, у которых имеют место атеросклероз, дислипидемия, артериальная гипертензия, сахарный диабет. Вопрос о том, насколько посткондиционирование будет эффективно у этих больных, в настоящее время является предметом дискуссии.

В данном обзоре мы анализируем литературные источники, посвященные особенностям посткондиционирования у старых лабораторных животных, у особей с артериальной гипертензией, экспериментальным сахарным диабетом, дислипидемией, гипертрофией миокарда, постинфарктным кардиосклерозом. Кроме того, мы проанализировали результаты клинических наблюдений, посвященных посткондиционированию сердца. В отдельный раздел выделены результаты клинических испытаний аденозина и циклоспорина, способных имитировать посткондиционирование сердца.

### Данные экспериментальных исследований

**Возраст.** Известно, что средний возраст пациентов с острым инфарктом миокарда (ОИМ), по данным некоторых многоцентровых исследований, составляет 58–60 лет [9, 10], поэтому вопрос о том, как сказывается старение на эффективности посткондиционирования, актуален для современной кардиологии. В 2008 г. американские физиологи опубликовали результаты своих экспериментов на изолированных перфузируемых сердцах взрослых (3–4 мес) и старых (20–24 мес) мышшей, которые подвергали воздействию ишемии–реперфузии [11]. Оказалось, что инфаркт-лимитирующий эффект посткондиционирования удается воспроизвести только на сердцах взрослых животных. Отсутствие кардиопротекторного эффекта у старых особей исследователи связывают с нарушением фосфорилирования (активации) ERK1/2 (extracellular-signal regulated kinase), которая играет важную роль в сигнальном механизме посткондиционирования [2–4, 6–8]. Однако, как полагают авторы [11], решающую роль в исчезновении феномена посткондиционирования у старых животных играет усиление экспрессии кардиомиоцитами МКР-1 (mitogen-activated protein kinase-phosphatase-1), которая катализирует дефосфорилирование белков. Действительно, добавление в перфузат ортованадата натрия, являющегося ингибитором МКР-1, восстанавливает инфаркт-лимитирующий эффект посткондиционирования в экспериментах на сердцах старых особей [11].

В 2008 г. группа проф. R.A. Kloner [12] в опытах на молодых (3–4 мес) и старых (24–25 мес) крысах показала, что посткондиционирование оказывает антиаритмический эффект. В 2008 г. физиологи из Германии [13] опубликовали результаты своих опытов на мышах, у которых вызывали коронароокклюзию (30 мин) и реперфузию (2 ч). Для посткондиционирования использовали 2 протокола: 1) 3 цикла реперфузии (10 с) и ишемии (10 с); 2) 5 циклов реперфузии (5 с) и ишемии (5 с). Опыты проводили на молодых (3 мес) и старых (>13 мес) животных. У молодых животных инфаркт-лимитирующий эффект посткондиционирования удалось воспроизвести при использовании обоих протоколов, а у старых мышшей — только при применении второго. Авторы предположили, что различия между старыми и молодыми животными могут быть связаны с особенностями фосфорилирования (активации) транскрипционного фактора STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3). Последний,

как показано в недавних работах [14], может взаимодействовать не только с ДНК, но и с МРТ-порой (mitochondrial permeability transition pore), открытие которой вызывает гибель кардиомиоцитов в результате некроза и апоптоза [15]. У молодых животных при использовании первого протокола отмечалось увеличение количества фосфорилированного STAT3, а у старых мышшей подобного эффекта отмечено не было. Ингибитор JAK2 (Janus kinase 2) у молодых особей блокировал адаптивное фосфорилирование STAT3 и устранял инфаркт-лимитирующий эффект посткондиционирования [14]. Кардиопротекторный эффект срочной адаптации не удалось зафиксировать у трансгенных мышшей с делецией гена, кодирующего STAT3. На основании полученных данных авторы заключили, что снижение эффективности ишемического посткондиционирования связано с нарушением адапционного фосфорилирования STAT3 [14].

В 2011 г. S.J. Somers и соавт. [16], выполняя эксперименты на изолированных сердцах взрослых (4 мес) и старых (5 мес) животных, показали, что кардиопротекторный эффект посткондиционирования сохраняется в обеих группах. Кроме того, они установили, что защитный эффект посткондиционирования не удается обнаружить на изолированных сердцах животных, нокаутированных по гену *STAT3*, что согласуется с данными немецких коллег. Вместе с тем обращает на себя внимание тот факт, что S.J. Somers и соавт. [16] старыми называли мышшей в возрасте 5 мес, тогда как другие авторы считают старыми животных в возрасте 13 [13] или 20 мес [11]. Следовательно, нет оснований рассматривать эксперименты S.J. Somers и соавт. [16] как опыты, выполненные на старых особях.

Таким образом, в 2 работах было показано, что старение ведет к исчезновению кардиопротекторного эффекта ишемического посткондиционирования. Публикации, которые опровергали эту точку зрения, отсутствуют. Считается, что исчезновение инфаркт-лимитирующего эффекта срочной адаптации сердца связано с нарушением фосфорилирования STAT3 (или усилением дефосфорилирования этого белка) и повышением уровня экспрессии МКР-1. Тот факт, что антиаритмический эффект посткондиционирования сохраняется у старых животных, может свидетельствовать о том, что триггерный и сигнальный механизмы кардиопротекторного и антиаритмического эффекта посткондиционирования могут различаться.

**Гиперхолестеринемия.** В 2006 г. греческие кардиологи попытались оценить эффективность посткондиционирования у кроликов с гиперхолестеринемией [17]. Часть животных находилась на диете, обогащенной холестерином, в течение 6 нед, что обеспечивало увеличение содержания холестерина в сыворотке крови в 15 раз. У кроликов моделировали коронароокклюзию (30 мин) и реперфузию (3 ч). Авторы установили, что посткондиционирование оказывает инфаркт-лимитирующий эффект только у особей с нормальным уровнем холестерина. Эти данные были подтверждены в более поздней работе того же авторского коллектива [18].

В 2007 г. M. Donato и соавт. [19] опубликовали результаты своих экспериментов на изолированных перфузируемых сердцах обычных кроликов и животных, находившихся на гиперхолестериновой диете в течение 4 нед, что обеспечивало увеличение концентрации холестерина в сыворотке крови в 5 раз. *In vitro* моделировали глобальную ишемию (30 мин) и реперфузию (2 ч). Выяснилось, что посткондиционирование оказывает инфаркт-лимитирующий эффект в обеих группах животных [19]. Китай-

ские кардиологи выполняли эксперименты на обычных мини-свиньях и на животных, находившихся в течение 4 нед на диете, обогащенной холестерином, которая вызывала увеличение содержания холестерина в плазме крови в 6 раз [20]. У животных воспроизводили коронаро-окклюзию (3 ч) и реперфузию (24 ч). Посткондиционирование у обычных кроликов способствовало уменьшению зоны «no-reflow» (зона невосстановленного кровотока) почти в 2 раза и уменьшению размера очага некроза в 1,3 раза. У особей, находившихся на гиперхолестериновой диете, подобных защитных эффектов срочной адаптации зафиксировать не удалось [20].

В 2012 г. китайские физиологи опубликовали результаты своих экспериментов на кроликах с экспериментальным атеросклерозом [21]. У животных моделировали локальную ишемию (35 мин) и реперфузию (12 ч). Авторы установили, что посткондиционирование обеспечивает уменьшение реперфузионного выброса тропонина Т и способствует снижению интенсивности апоптоза кардиомиоцитов в зоне реперфузии у кроликов с атеросклерозом.

Таким образом, в 3 работах было показано, что гиперхолестеринемия ведет к исчезновению инфаркт-лимитирующего эффекта посткондиционирования. Однако в 2 исследованиях установили, что кардиопротекторный эффект срочной адаптации сохраняется у особей с повышенным уровнем холестерина. Необходимо отметить, что концентрация холестерина у подопытных животных в несколько раз превышала нормальные показатели. В связи с этим следует отметить, что уровень общего холестерина у пациентов с ОИМ только на 11–13% превышает верхнюю границу нормы [22, 23], поэтому представляется маловероятным, чтобы подобная гиперхолестеринемия снижала эффективность посткондиционирования у больных с ОИМ.

**Сахарный диабет и метаболический синдром.** Сахарный диабет, по данным ряда авторов [24–26], встречается у 17–34% больных с острым коронарным синдромом. Принято считать, что данное заболевание существенно усугубляет течение ОИМ [27]. Этот факт объясняет интерес исследователей к изучению влияния сахарного диабета на эффективность посткондиционирования при экспериментальном инфаркте миокарда.

Согласно данным W. Cai и соавт. [28], инфаркт-лимитирующий эффект посткондиционирования сохраняется у крыс со стрептозототин-индуцированным сахарным диабетом. Прямо противоположные результаты получили китайские кардиологи [29]. Они проводили эксперименты на сердцах крыс, изолированных у обычных животных и у особей с стрептозототин-индуцированным диабетом. Моделировали глобальную ишемию (30 мин) и реперфузию (45 мин). О кардиопротекторном эффекте посткондиционирования судили по снижению уровня креатинфосфокиназы (КФК) и тропонина I в перфузате, оттекающем от сердца. Оказалось, что посткондиционирование оказывает кардиопротекторный эффект только в опытах на сердцах обычных крыс [29].

В 2008 г. С. Wagner и соавт. [30] попытались выяснить, как повлияет метаболический синдром на эффективность посткондиционирования. Эксперименты выполняли на крысах линий Wistar, DA (Dark Agouti) и WOKW (Wistar–Ottawa–Karlsburg W) с метаболическим синдромом. В экспериментах на изолированных перфузируемых сердцах воспроизводили региональную ишемию (30 мин) и реперфузию (30 мин), а посткондиционирование моделировали с помощью 3 циклов реперфузии (30 с) и ишемии (30 с). Инфаркт-лимитирующий эффект

посткондиционирования удалось воспроизвести только у крыс линий Wistar и DA [30]. Авторы обнаружили, что у крыс этих линий посткондиционирование вызывает фосфорилирование GSK 3 $\beta$  (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ ), которая играет важную роль в сигнальном механизме посткондиционирования [31]. У крыс линии WOKW подобного повышения количества фосфорилированной GSK 3 $\beta$  после адаптивного воздействия кратковременной реперфузии-ишемии обнаружить не удалось. Посткондиционирование вызывало увеличение количества фосфорилированной ERK в миокарде животных линии DA, но не влияло на этот показатель у особей линии WOKW [30]. Как мы уже отмечали выше, данный фермент играет важную роль в сигнальном механизме посткондиционирования [2–4, 6–8]. Следовательно, у крыс с метаболическим синдромом нарушается внутриклеточный сигналинг, обеспечивающий кардиопротекторный эффект посткондиционирования.

Таким образом, авторы одной публикации утверждают, что стрептозототин-индуцированный диабет не влияет на кардиопротекторный эффект посткондиционирования. Другие исследователи убедительно доказывают, что экспериментальный диабет полностью устраняет защитный эффект срочной адаптации сердца. Вполне очевидно, что прояснить ситуацию в будущем помогут независимые исследования. Следует отметить и такой важный факт: в клинической практике на долю диабета 1-го типа, который удается воспроизвести в эксперименте с помощью стрептозототина, приходится около 10% от общего числа больных сахарным диабетом [32]. Адекватная экспериментальная модель диабета 2-го типа пока не разработана, поэтому, если в будущем ситуация со стрептозототин-индуцированным диабетом и посткондиционированием разъяснится, эти данные можно будет соотнести только к пациентам с диабетом 1-го типа. Данные С. Wagner и соавт. [30] свидетельствуют о том, что метаболический синдром препятствует формированию толерантности сердца к ишемии-реперфузии после посткондиционирования.

**Артериальная гипертензия.** Согласно данным литературы [24, 33, 34], артериальная гипертензия встречается у 49–85% больных с острым коронарным синдромом, поэтому было важно выяснить, как повлияет экспериментальная гипертензия на эффективность посткондиционирования у подопытных животных. Первыми попытались выяснить, как скажется артериальная гипертензия на эффективности срочной адаптации сердца к ишемии/реперфузии, швейцарские физиологи [31]. Они накладывали зажим на левую почечную артерию у крыс линии Wistar. Через 6 нед, когда формировалась стойкая артериальная гипертензия, сердца извлекали и помещали в аппарат Лангендорфа. Сердца подвергали воздействию глобальной ишемии (40 мин) и реперфузии (90 мин). Посткондиционирование воспроизводили с помощью 6 циклов реперфузии (10 с) и ишемии (10 с) [31]. Оказалось, что посткондиционирование оказывает инфаркт-лимитирующий эффект, улучшает насосную функцию сердца в реперфузионном периоде как в случае проведения экспериментов на сердцах здоровых животных, так и в опытах на сердцах особей с гипертензией.

В 2007 г. аргентинские физиологи опубликовали результаты своих экспериментов на изолированных перфузируемых сердцах крыс линий Wistar и SHR (spontaneously hypertensive rats) [35]. Сердца подвергали воздействию глобальной ишемии (20 мин) и реперфузии (30 мин). Посткондиционирование обеспечивали с помощью 3 циклов реперфузии (30 с) и ишемии (30 с). Авторами было

установлено, что посткондиционирование улучшает восстановление насосной функции сердца в реперфузионном периоде как в экспериментах на изолированных сердцах крыс линии Wistar, так и в опытах на сердцах животных линии SHR [35].

В 2010 г. С. Penna и соавт. [36] попытались определить, как повлияет артериальная гипертензия на эффективность посткондиционирования. Эксперименты проводили на изолированных перфузируемых сердцах крыс линий Wistar и SHR. Моделировали глобальную ишемию (30 мин) и реперфузию (2 ч). Посткондиционирование индуцировали с помощью 5 циклов реперфузии (10 с) и ишемии (10 с). Размер инфаркта оценивали как соотношение зоны инфаркта к области риска (ЗИ/ОР). Областью риска принято называть участок миокарда, подвергшийся воздействию ишемии и реперфузии. Физиологи установили, что посткондиционирование оказывает инфаркт-лимитирующий эффект только в опытах на сердцах линии Wistar. В экспериментах на сердцах особой линии SHR было показано, что индекс ЗИ/ОР у них выше, чем при использовании сердец животных с нормальным артериальным давлением, а посткондиционирование у них не оказывало достоверного эффекта на ЗИ/ОР [36]. В то же время было установлено, что посткондиционирование способствует восстановлению давления, развиваемого левым желудочком, в реперфузионном периоде в опытах на сердцах обеих линий.

Представленные данные свидетельствуют о том, что артериальная гипертензия не устраняет положительный инотропный эффект посткондиционирования в реперфузионном периоде. Вопрос о влиянии гипертензии на инфаркт-лимитирующий эффект посткондиционирования остается открытым.

**Гипертрофия миокарда.** По данным клинических наблюдений, гипертрофия левого желудочка имеет место у 15–18% больных ОИМ [37, 38]. Согласно исследованиям, выполненным А.Р. Киселевым и соавт. [39], через 5 лет после перенесенного ОИМ повторный инфаркт миокарда развивается у 23% больных. Исходя из этого, важно выяснить, как скажется постинфарктное ремоделирование сердца и гипертрофия миокарда на эффективности срочной адаптации сердца к ишемии/реперфузии.

В 2006 г. М. Zhu и соавт. [31] изучили, как влияет постинфарктная гипертрофия сердца на эффективность посткондиционирования. Они лигировали левую коронарную артерию у крыс. Через 6 нед, когда постинфарктная гипертрофия миокарда была сформирована, сердца изолировали и подвергли воздействию глобальной ишемии (40 мин) и реперфузии (90 мин). Посткондиционирование индуцировали с помощью 6 циклов реперфузии (10 с) и ишемии (10 с) [31]. Установили, что посткондиционирование оказывает инфаркт-лимитирующий эффект, улучшает насосную функцию сердца в реперфузионном периоде как в случае проведения экспериментов на сердцах здоровых животных, так и в опытах на сердцах крыс с постинфарктным ремоделированием сердца. Китайские кардиологи вызывали гипертрофию миокарда у мышей посредством констрикции аорты [40]. После формирования гипертрофии сердца помещали в аппарат Лангендорфа и моделировали ишемию (30 мин) и реперфузию (2 ч). Посткондиционирование воспроизводили с помощью 3 циклов реперфузии (10 с) и ишемии (10 с). Авторы установили, что посткондиционирование обеспечивает улучшение восстановления насосной функции сердца в реперфузионном периоде, способствует уменьшению очага некроза и снижает интенсивность апоптоза кардиомиоцитов.

Таким образом, экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что постинфарктный кардиосклероз и гипертрофия сердца не являются факторами, снижающими эффективность посткондиционирования.

### Данные клинических наблюдений

**Острый инфаркт миокарда.** Первая работа, посвященная клинической эффективности посткондиционирования, была опубликована французскими кардиологами в 2005 г. [41]. В исследование было включено 30 пациентов с ОИМ, которым выполняли коронарную ангиопластику в течение 6 ч после коронаротромбоза. Среднее время до возобновления коронарного кровотока составило 5 ч. Пациенты были разделены на 2 группы: группа контроля и группа посткондиционирования. Критерием исключения была предшествующая стенокардия за 48 ч до ОИМ и невозобновление коронарной перфузии. В группе посткондиционирования после восстановления коронарного кровотока проводили 4 сеанса дефляции (1 мин) и инфляции (1 мин) интракоронарного баллона. Размер инфаркта оценивали с помощью серийного определения креатинфосфокиназы (КФК) в сыворотке крови каждые 4 ч после ангиопластики в течение 3 сут. Оказалось, что срочная адаптация сердца к реперфузии и ишемии способствует достоверному уменьшению содержания КФК в крови [41].

В исследование китайских кардиологов было включено 94 пациента с впервые возникшим ОИМ с подъемом сегмента *ST* [42]. Всем больным проводили коронарную ангиопластику. Реваскуляризацию осуществляли в течение 12 ч после ангинозного приступа. Среднее время от возникновения коронарной окклюзии до реперфузии составило 7 ч. Критерием исключения был перенесенный ранее инфаркт миокарда. Для оценки размеров инфаркта использовали серийное определение КФК и КФК-МВ. Посткондиционирование воспроизводили с помощью 3 циклов реперфузии (30 с) и ишемии (30 с). Пациенты также были разделены на 2 группы: группа контроля и группа посткондиционирования. Авторам не удалось обнаружить достоверных различий между группами по уровню КФК и КФК-МВ [42]. Трудно дать исчерпывающий ответ, почему китайских кардиологов постигла неудача. Возможно, она была следствием того, что ученые осуществляли реваскуляризацию сердца в более поздние сроки после возникновения ОИМ (7 ч) по сравнению с их французскими коллегами (5 ч).

В 2007 г. С.Е. Darling и соавт. [43] опубликовали результаты ретроспективного исследования, выполненного на 115 больных ОИМ с подъемом сегмента *ST* и окклюзией одной коронарной артерии. Всем пациентам выполняли коронарную ангиопластику в течение 12 ч после возникновения ангинозного приступа. О размере инфаркта судили по величине пика КФК при серийном определении активности этого фермента. Среднее время возобновления коронарного кровотока составило 3,2 ч. Всех пациентов разделили на 2 группы: 1) 1–3 раздувания баллона; 2) 4 и более раздуваний баллона. Пик КФК в первой группе составил 2272 ЕД/л, во второй — 1655 ЕД/л ( $p < 0,05$ ). К сожалению, авторы не указывают продолжительность цикла инфляции/дефляции [43]. Обращает на себя внимание тот факт, что в американском исследовании интервал времени от момента возникновения ангинозного приступа до реканализации инфаркт-связанной артерии составил 3,2 ч, т.е. в 2 раза меньше [43], чем в китайском исследовании (7 ч) [42]. В связи с этим следует отметить, что, согласно данным Р.Б. Дженнингса

и К.А. Реймера [44], окончательное формирование очага некроза в зоне ишемии завершается через 6 ч после экспериментальной коронароокклюзии. По всей видимости, китайские кардиологи через 7 ч после коронароокклюзии уже не могли спасти миокард от некроза.

В 2007 г. Х.С. Yang и соавт. [45] опубликовали данные своих наблюдений за больными ОИМ с подъемом сегмента ST. Всем пациентам перед стентированием осуществляли реканализацию инфаркт-связанной коронарной артерии. Часть пациентов подвергалась процедуре посткондиционирования с помощью дефляции (30 с) и инфляции (30 с) интракоронарного баллона, всего использовали 3 цикла ишемии–реперфузии. В группе контроля (только коронарная ангиопластика) среднее время от момента коронароокклюзии до реперфузии было равно 4,4 ч, в группе посткондиционирования — 5,2 ч ( $p > 0,05$ ). О размере инфаркта судили при помощи серийного определения КФК в течение 72 ч после возобновления коронарного кровотока [45]. Установили, что содержание КФК было на 27% ниже в группе посткондиционирования, чем в группе контроля. Кроме того, авторы сообщают, что размер инфаркта они оценивали с помощью однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОЭКТ) с радиофармпрепаратом  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI ( $^{99m}\text{Tc}$ -methoxyisobutylisonitrile). Это исследование проводили через 7 сут после реканализации инфаркт-связанной артерии. Томография показала, что размер инфаркта был на 27% меньше в группе посткондиционирования, чем в группе контроля [45]. Общеизвестно, что  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI накапливается только в зоне с нормальной перфузией [46], поэтому в данном случае правильнее говорить об уменьшении дефекта перфузии или зоны «no-reflow». Экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что реперфузионная эндотелиальная дисфункция после 60-минутной ишемии сохраняется в течение 2 нед [47]. У обследованных пациентов длительность ишемии в среднем составляла 5 ч, поэтому наше предположение касательно того, что Х.С. Yang и соавт. [45] зафиксировали после посткондиционирования уменьшение зоны «no-reflow», представляется вполне обоснованным.

Французские кардиологи исследовали, может ли посткондиционирование оказывать долгосрочный кардиопротекторный эффект [48]. В испытание было включено 38 больных ОИМ с подъемом сегмента ST. Всем им осуществляли коронарную ангиопластику в течение 6 ч от момента возникновения ангинозного приступа. Среднее время от момента коронароокклюзии до реперфузии составило 5 ч. Пациентов разделили на 2 группы: 1) коронарная ангиопластика ( $n = 21$ ); 2) коронарная ангиопластика + посткондиционирование ( $n = 17$ ) [48]. О размере инфаркта судили по серийному определению активности КФК и тропонина I в сыворотке крови в течение 72 ч после реканализации. Согласно результатам определения КФК, размер инфаркта был на 40% меньше в группе посткондиционирования, чем в контрольной. Определение содержания тропонина I показало, что посткондиционирование уменьшает размер очага некроза на 47% [48]. Кроме того, авторы работы изучили, как влияет посткондиционирование на размер инфаркта через 5 мес после ОИМ. Для этого они проводили ОЭКТ с радиофармпрепаратом  $^{201}\text{TlCl}$ . Было установлено, что размер инфаркта был на 40% меньше у адаптированных больных, чем в контрольной группе. Мы не вполне согласны с подобной трактовкой результатов работы, поскольку  $^{201}\text{TlCl}$  накапливается только в миокарде с нормальной перфузией [46]. На наш взгляд, в данном случае правильнее говорить об уменьшении дефекта перфузии,

как это принято называть в литературе [46]. Эхокардиографическое исследование, выполненное через 1 год после ОИМ, показало, что фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) в контрольной группе составила 49%, а в группе адаптации к реперфузии — 56% [48]. Следовательно, посткондиционирование оказывает не только транзитный инфаркт-лимитирующий эффект, но и вызывает стойкое уменьшение размеров дефекта перфузии и улучшает насосную функцию сердца спустя 1 год после инфаркта.

В 2008 г. W.K. Laskey и соавт. [49] опубликовали результаты своих наблюдений за больными ( $n = 24$ ) ОИМ с подъемом сегмента ST. Всем им проводили коронарную ангиопластику в течение 6 ч от момента возникновения коронароокклюзии. Среднее время от момента коронаротромбоза до реперфузии составило 4 ч. Посткондиционирование воспроизводили с помощью 2 циклов дефляции (3 мин) и инфляции (90 с) интракоронарного баллона. Больные были разделены на 2 группы: 1) контроль (только ангиопластика;  $n = 12$ ); 2) посткондиционирование (ангиопластика + посткондиционирование;  $n = 12$ ). Оказалось, что у адаптированных пациентов отмечается более выраженное и быстрое разрешение сегмента ST ( $p = 0,0002$ ) [49]. У посткондиционированных больных было отмечено увеличение коронарного резерва ( $p < 0,0001$ ) по сравнению с группой контроля. Пик КФК в первой группе был равен 1,862 ЕД/л, во второй — 1,524 ЕД/л ( $p = 0,03$ ) [49]. В 2009 г. китайские кардиологи опубликовали результаты своих наблюдений, выполненных на пациентах с ОИМ, у которых осуществляли ангиопластику инфаркт-связанной коронарной артерии [50]. Посткондиционирование осуществляли с помощью раздувания интракоронарного баллона, использовали 3 цикла реперфузии (30 с) и ишемии (30 с) или 3 сеанса реперфузии (60 с) и ишемии (60 с). Через 7 сут после ангиопластики в сыворотке крови определяли концентрацию Fas-лигандов [50]. Известно, что Fas-лиганды могут индуцировать апоптоз клеток, содержащих Fas-рецепторы [51]. Эти же исследователи установили, что посткондиционирование с помощью 3 сеансов реперфузии (60 с) и ишемии (60 с) приводит к снижению уровня циркулирующих в крови Fas-лигандов на 25% по сравнению с пациентами с инфарктом, но без посткондиционирования. Эти данные можно рассматривать как косвенное доказательство антиапоптотического эффекта посткондиционирования. Вместе с тем авторы не осуществляли сцинтиграфию миокарда с маркером апоптоза — меченым аннексином V, поэтому утверждать, что посткондиционирование оказывает антиапоптотический эффект у человека, пока не следует.

В 2009 г. G. Wang и соавт. [52] попытались выяснить, при использовании какого протокола посткондиционирования можно добиться максимального кардиопротекторного эффекта. В исследование было включено 433 больных ОИМ с подъемом сегмента ST, которым в течение 12 ч от момента возникновения ангинозного приступа выполнялась коронарная ангиопластика. Половине пациентов коронарную ангиопластику проводили в течение первых 6 ч от момента коронаротромбоза, остальным — через 6 и более часов после коронарной окклюзии. Одним из критериев исключения была стенокардия за 48 ч до ОИМ. Больные были разделены на группы в зависимости от числа инфляций интракоронарного баллона. Оказалось, что только при 4 раздуваниях баллона отмечается уменьшение пика активности КФК. Достоверного изменения ФВ ЛЖ в зависимости от числа раздуваний баллона обнаружить не удалось [52]. Основным недостатком работы, на наш взгляд, является тот факт,

что авторы не разделили больных на 2 группы: 1) с реперфузией в течение 6 ч после «коронарной катастрофы»; 2) с реканализацией через 6 и более часов после коронарного тромбоза. Как мы уже отмечали выше, экспериментальный инфаркт завершает свое формирование в первые 6 ч после перевязки коронарной артерии, поэтому важно было оценить эффективность посткондиционирования в зависимости от продолжительности ишемии миокарда.

В 2010 г. J. Lonborg и соавт. [53] опубликовали данные своих наблюдений за больными ОИМ ( $n = 118$ ) с подъемом сегмента *ST* и ангиопластикой инфаркт-связанных коронарных артерий, которую выполняли в течение 12 ч после коронарной окклюзии. Средний интервал времени от момента коронаротромбоза до ангиопластики был равен 4 ч. Больных разделили на 2 группы: 1) группа контроля (только ангиопластика); 2) группа посткондиционирования после ангиопластики. Посткондиционирование осуществляли с помощью 4 циклов реперфузии (30 с) и ишемии (30 с). Через 3 мес после эпизода ОИМ проводили магнитно-резонансную томографию (МРТ). Было обнаружено, что адаптация сердца к ишемии—реперфузии обеспечивает уменьшение размера зоны инфаркта на 19% по сравнению с группой контроля. Кроме того, авторы установили, что посткондиционирование не оказывает достоверного эффекта на область риска. Через 3 мес после коронарной катастрофы число пациентов с сердечной недостаточностью было достоверно больше в группе контроля, чем в группе посткондиционирования [53]. На наш взгляд, недостаток работы в том, что авторы не попытались проанализировать эффективность посткондиционирования в зависимости от длительности ишемии сердца.

В исследовании, опубликованное Q. Fan и соавт. в 2010 г. [54], было включено 50 больных ОИМ с подъемом сегмента *ST*, которым выполнялась коронарная ангиопластика. Посткондиционирование воспроизводили с помощью 3 циклов дефляции (30 с) и инфляции (30 с). К сожалению, авторы статьи не сообщили о продолжительности временного интервала между ангинозным приступом и реперфузией. Оценку размера инфаркта они не производили. В ходе исследования было установлено, что через 7 дней после ангиопластики ФВ ЛЖ была достоверно выше у адаптированных пациентов по сравнению с группой контроля (реперфузия без посткондиционирования). В исследование, выполненное китайскими кардиологами [55], было включено 43 пациента с ОИМ и подъемом сегмента *ST*. Всем больным проводилась коронарная ангиопластика в течение 12 ч после возникновения коронарной окклюзии. Посткондиционирование осуществлялось с помощью 4 циклов реперфузии (1 мин) и ишемии (1 мин). Пациентов разделили на 2 группы: 1) группа контроля (только ангиопластика); 2) группа «реперфузия + посткондиционирование». Среднее время от момента возникновения коронарного тромбоза до реперфузии в группе контроля составило 5,4 ч, а в группе посткондиционирования — 4,1 ч ( $p = 0,258$ ). Оценку размера инфаркта производили с помощью серийного определения КФК-МВ и ОЭКТ с  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  через 7 дней после ангиопластики. У адаптированных пациентов пик КФК-МВ составил 247 ЕД/л, в группе контроля — 352 ЕД/л ( $p = 0,028$ ). Авторы утверждают, что по данным ОЭКТ посткондиционирование способствовало уменьшению размера зоны инфаркта на 46% [55]. С подобной трактовкой результатов можно не согласиться, поскольку как уже было сказано выше,  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  накапливается в миокарде с нормальной перфузией [46], поэтому в данном случае правильнее гово-

рить об уменьшении зоны «no-reflow». Авторы отмечают, что у адаптированных пациентов происходит более быстрое разрешение сегмента *ST*, чем у больных контрольной группы. По данным эхокардиографии, ФВ ЛЖ была выше у посткондиционированных пациентов, чем у больных контрольной группы ( $p = 0,002$ ) [55]. Это исследование, как и предыдущие работы, убедительно свидетельствует в пользу того, что посткондиционирование существенно повышает эффективность коронарной ангиопластики у больных ОИМ.

В 2010 г. китайские кардиологи [56] опубликовали результаты клинических наблюдений за пациентами с ОИМ и подъемом сегмента *ST* с последующей коронарной ангиопластикой в течение 12 ч с момента возникновения ангинозного приступа. Посткондиционирование осуществляли с помощью дефляции/инфляции интракоронарного баллона. Пациенты были разделены на 3 группы: 1) группа контроля (только реперфузия;  $n = 26$ ); 2) посткондиционирование ( $n = 25$ ) с помощью 3 циклов реперфузии (30 с) и ишемии (30 с); 3) посткондиционирование ( $n = 24$ ) с помощью 3 циклов реперфузии (60 с) и ишемии (60 с). К сожалению, авторы статьи не сообщают время от момента коронарного тромбоза до момента реканализации инфаркт-связанной артерии. Размер инфаркта они не оценивали, но определяли в крови содержание фактора некроза опухолей  $\alpha$  (ФНО  $\alpha$ ), который является одним из цитокинов-индукторов апоптоза [51]. Определение ФНО  $\alpha$  в сыворотке крови через 7 дней после ОИМ показало, что его концентрация ниже у больных 3-й группы ( $p < 0,05$ ) [56]. Насосную функцию сердца оценивали эхокардиографически. Оказалось, что ФВ ЛЖ в 1-й группе составляет 52%, во 2-й группе — 57%, а в 3-й — 65% [56]. Различия между группами были достоверными. Таким образом, данные китайских клиницистов свидетельствуют, что наиболее выраженный положительный эффект оказывает посткондиционирование с использованием 3 циклов реперфузии по 1 мин и ишемии по 1 мин.

Исследование, выполненное P. Sorensson и соавт. [57], было включено 76 больных ОИМ с подъемом сегмента *ST*. Всем пациентам выполнялась коронарная ангиопластика. Авторы публикации не сообщают об интервале времени между коронарной окклюзией и моментом возобновления коронарной перфузии, что затрудняет трактовку результатов. Посткондиционирование воспроизводили с помощью 4 циклов дефляции (1 мин) и инфляции (1 мин) интракоронарного баллона. Через 6–9 дней после реканализации инфаркт-связанной коронарной артерии с помощью МРТ оценивали размер зоны инфаркта. По данным томографии кардиологам не удалось выявить достоверных различий по величине индекса ЗИ/ОР между посткондиционированными и обычными пациентами [57]. Определение КФК-МВ и тропонина I также не позволило обнаружить инфаркт-лимитирующего эффекта посткондиционирования. Представленные в статье данные не позволяют объяснить неудачу шведских кардиологов. Возможно, что они выполняли реперфузию у большинства пациентов через 6 ч после коронарной окклюзии.

В 2011 г. S. Garcia и соавт. [58] опубликовали результаты наблюдений за больными ОИМ с подъемом сегмента *ST* ( $n = 43$ ). Среднее время от момента возникновения коронарной катастрофы до реперфузии было равно 4,5 ч. Посткондиционирование осуществляли с помощью 4 циклов реперфузии (30 с) и ишемии (30 с). Размер инфаркта оценивали с помощью серийного определения КФК и КФК-МВ. Инфаркт-лимитирующий эффект адаптации

сердца удалось установить только при определении пика активности КФК-МВ. Определение ФВ ЛЖ показало, что этот показатель выше у посткондиционированных пациентов.

В исследование, выполненное китайскими кардиологами [59], было включено 64 больных с ОИМ и подъемом сегмента *ST*. Посткондиционирование воспроизводили с помощью 3 эпизодов реперфузии (30 с) и ишемии (30 с). Клиницисты установили, что адаптация сердца к ишемии—реперфузии способствует снижению частоты возникновения реперфузионных желудочковых экстрасистол, желудочковой тахикардии, вызывает снижение пика КФК и КФК-МВ, обеспечивает увеличение ФВ ЛЖ [59].

В 2012 г. группа французских кардиологов [60] опубликовала результаты своих клинических наблюдений за больными ОИМ с подъемом сегмента *ST* ( $n=50$ ). Всем больным проводилось стентирование инфаркт-связанной коронарной артерии. Пациентов разделили на контрольную группу ( $n=20$ ) и больных с посткондиционированием ( $n=20$ ), которое осуществляли с помощью раздувания интракоронарного баллона. Продолжительность ишемии в контроле составляла 4 ч, в посткондиционированной группе — 4,5 ч. Размер зоны инфаркта оценивали с помощью МРТ с гадолинием, которую проводили через 48 и 72 ч после эпизода ОИМ. Кроме того, для оценки очага некроза применяли серийное определение активности КФК. МРТ использовали для оценки отека в зоне некроза миокарда. Исследователи показали, что посткондиционирование обеспечивает уменьшение очага некроза на 29%, пик активности КФК при этом снижался в 2 раза, а степень отека миокарда уменьшалась в 1,5 раза [60].

Таким образом, в 13 публикациях было обнаружено позитивное влияние посткондиционирования на течение ОИМ. Авторы работ осуществляли посткондиционирование в среднем за 3–5 ч после коронарного события. В двух работах не удалось зафиксировать кардиопротекторный эффект посткондиционирования у пациентов с ОИМ [42, 57]. Возможно, авторы данных работ осуществляли посткондиционирование через 6 ч и в более отдаленные сроки после коронарной окклюзии. К сожалению, в своих статьях они не сообщают о продолжительности интервала времени между коронароокклюзией и реперфузией.

**Кардиохирургические больные.** В 2007 г. китайские кардиохирурги опубликовали краткое сообщение о применении посткондиционирования во время хирургического вмешательства у детей с тетрадой Фалло [61]. Пациенты были разделены на 2 группы: 1) операция ( $n=12$ ); 2) операция + посткондиционирование ( $n=12$ ). Через 30 с после снятия зажима с аорты осуществляли повторное пережатие аорты на 30 с. Процедуру повторяли дважды. Пик подъема КФК-МВ и тропонина I пришелся на 4-й ч после снятия зажима с аорты. Оказалось, что посткондиционирование уменьшает пик активности КФК-МВ и тропонина I ( $p < 0,05$ ). В 2009 г. тот же коллектив кардиохирургов повторил клинические наблюдения за детьми с тетрадой Фалло, которым выполняли посткондиционирование [62]. В группу контроля включили 51 пациента, в группу посткондиционирования — 48 больных. Адаптированные к ишемии—реперфузии сердца больных, в свою очередь, разделили на 2 группы: 1) посткондиционирование с помощью 2 циклов реперфузии (30 с) и ишемии (30 с) ( $n=23$ ); 2) посткондиционирование с помощью 3 циклов реперфузии (30 с) и ишемии (30 с) ( $n=25$ ) [62]. Посткондиционирование способствовало уменьшению пика тропонина I и снижению уровня лактата в крови детей после снятия зажима с аорты. Частота нефатальных послеоперационных осложнений

в группе контроля составила 33%, в группе посткондиционирования — 12% ( $p < 0,016$ ). Адаптированным больным требовалась меньшая инотропная поддержка. Авторам не удалось обнаружить различий между 2 группами посткондиционированных детей [62].

В 2011 г. Q. Ji и соавт. [63] опубликовали результаты наблюдений за детьми ( $n=80$ ) с тетрадой Фалло, которым выполнялось кардиохирургическое вмешательство. Посткондиционирование обеспечивали с помощью 3 циклов реперфузии (30 с) и ишемии (30 с). Оказалось, что пик тропонина I был достоверно ниже у посткондиционированных больных. Этим пациентам требовалась меньшая инотропная поддержка, у них раньше осуществлялась экстубация. В 1-й день после операции у адаптированных детей был зафиксирован больший сердечный выброс. Представленные данные говорят о том, что посткондиционирование является эффективным способом защиты миокарда от реперфузионного повреждения у детей с тетрадой Фалло.

В 2008 г. W. Luo и соавт. [64] опубликовали результаты наблюдения за детьми, которым осуществляли хирургическую коррекцию врожденных пороков сердца ( $n=40$ ). Посткондиционирование выполняли посредством 3 циклов реперфузии (30 с) и ишемии (30 с). Пик уровня тропонина I и КФК-МВ в сыворотке крови был достоверно ниже у детей, адаптированных к ишемии—реперфузии сердца, им требовалась меньшая инотропная поддержка. Освобождение лактата из миокарда было меньше у посткондиционированных пациентов, что свидетельствует о снижении интенсивности анаэробного гликолиза и, соответственно, об усилении аэробного гликолиза. Выброс лактата из миокарда определяли как разницу между концентрацией лактата в крови из коронарного синуса и аорты. Авторам не удалось установить разницы между контрольными (только операция) и адаптированными пациентами по аккумуляции в миокарде лейкоцитов [64]. Эти данные свидетельствуют о кардиопротекторном эффекте посткондиционирования во время выполнения оперативных вмешательств у детей с врожденными пороками сердца.

В 2008 г. W. Luo и соавт. [65] попытались выяснить, как скажется посткондиционирование на эффективности операции по замене клапанов сердца у взрослых пациентов ( $n=50$ ). Посткондиционирование воспроизводили с помощью снятия и наложения зажима на аорту, всего было 3 сеанса реперфузии (30 с) и ишемии (30 с). Авторы обнаружили, что реперфузионный пик активности КФК-МВ ниже у адаптированных пациентов, различий по уровню тропонина I между посткондиционированными и контрольными пациентами зарегистрировано не было. Миокардиальный выброс лактата рассчитывали как разницу между уровнем лактата в крови из коронарного синуса и аорты. Этот показатель в реперфузионный период был ниже у адаптированных больных, что говорит о меньшей интенсивности анаэробного гликолиза у этих пациентов. Рассчитывали разницу по числу лейкоцитов в крови из аорты и коронарного синуса. Эта величина была ниже у посткондиционированных больных, что можно расценивать как снижение лейкоцитарной инвазии в ткань миокарда и, соответственно, уменьшение повреждения сердечной мышцы [65]. Аналогичный эффект посткондиционирования был обнаружен ранее в экспериментальных исследованиях [1]. Кроме того, посткондиционирование уменьшало инотропную поддержку. Следовательно, посткондиционирование обеспечивает эффективную защиту сердца от реперфузионного повреждения у взрослых.



Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что посткондиционирование является эффективным способом защиты сердца от ишемических и реперфузионных повреждений во время выполнения кардиохирургических вмешательств у детей и взрослых.

**Фармакологическая имитация посткондиционирования.** Общеизвестно, что одним из триггеров посткондиционирования является эндогенный аденозин [2, 3, 4, 6], поэтому кардиологи сделали попытки воспроизвести феномен посткондиционирования с помощью экзогенного аденозина. Первыми применили аденозин для защиты сердца от ишемических и реперфузионных повреждений кардиологи из клиники Мейо (США) в 1998 г. [66], т.е. исследование провели еще до открытия феномена посткондиционирования в 2003 г. [1]. Пациентам с ОИМ ( $n = 35$ ) и ангиопластикой инфаркт-связанной коронарной артерии внутривенно вводили лидокаин и инфузирвали аденозин [66]. В группу контроля включили больных ОИМ с ангиопластикой, но без инфузии указанных лекарственных средств ( $n = 47$ ). У 3 пациентов во время инфузии аденозина развилась гипотензия. Введение аденозина им пришлось прекратить, и этих больных исключили из исследования. Размер дефекта перфузии оценивали с помощью ОЭКТ с радиофармпрепаратом  $^{99m}\text{Tc}$ -sestamibi (он же  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI). Томографию выполняли 2 раза: после стабилизации показателей и непосредственно перед выпиской из стационара. В первом случае у больных после инфузии аденозина отмечался больший дефект перфузии, чем у больных контрольной группы. Во втором случае достоверной разницы между группами выявить не удалось [66]. Известно, что аденозин вызывает синдром «обкрадывания», поэтому его используют в стресс-тестах для определения переходящего дефекта перфузии при ОЭКТ [46]. Очевидно, что аденозин у пациентов с ОИМ обуславливал транзиторное увеличение дефекта перфузии.

В 1999 г. были опубликованы результаты многоцентрового рандомизированного исследования AMISTAD (Acute Myocardial Infarction Study of Adenosine) [9], в которое вошли 236 больных ОИМ с подъемом сегмента *ST*. Им проводился тромболитический в течение 6 ч от момента возникновения ангинозного приступа. Половине пациентов выполняли инфузию аденозина, другая половина получала плацебо. Авторы оценивали размер зоны инфаркта, а если точнее — размер дефекта перфузии с помощью ОЭКТ с  $^{99m}\text{Tc}$ -sestamibi через 6 дней после госпитализации. Кроме того, производилась оценка частоты неблагоприятных внутригоспитальных событий (смерть, повторный инфаркт, застойная сердечная недостаточность, инсульт). Аденозиновая терапия вызывала уменьшение дефекта перфузии, по-видимому, за счет уменьшения зоны «no-reflow». Частота неблагоприятных событий была выше у пациентов, получавших аденозин, однако различия не были статистически значимыми [9]. Авторы заключили, что для решения вопроса о клинической целесообразности применения аденозина у больных ОИМ необходимы дальнейшие исследования на большем контингенте больных [9].

В 2000 г. итальянские кардиологи оценили эффективность интракоронарной инфузии аденозина после реканализации инфаркт-связанной коронарной артерии у пациентов ОИМ [67]. Коронарная ангиопластика выполнялась в течение 3 ч от момента возникновения ангинозного приступа. По данным авторов [67], феномен «no-reflow» реже отмечался у пациентов с инфузией аденозина ( $p = 0,02$ ). Активность КФК оказалась ниже у пациентов, получавших аденозин, у них же были лучше

показатели сократимости миокарда, частота неблагоприятных событий была ниже, чем в контрольной группе (ангиопластика без аденозина) [67]. Кардиопротекторный эффект аденозина у пациентов с ОИМ был подтвержден в более поздних клинических исследованиях [68–70]. Вместе с тем некоторые авторы сообщают [70], что аденозин не вызывает улучшения насосной функции сердца в реперфузионном периоде, снижение летальности после его применения хоть и достоверно, но незначительно. Согласно данным многоцентрового исследования AMISTAD-II [10], инфузия аденозина способствует уменьшению размера зоны инфаркта, однако существенного эффекта на течение ОИМ препарат не оказывает. Детальное обсуждение клинических испытаний аденозина при ОИМ выходит за рамки данной статьи. Отметим лишь, что применение этого фармакологического препарата не смогло радикально изменить ситуацию с летальностью и неблагоприятными исходами при ОИМ.

Определенные надежды клиницисты возлагают на цитостатик циклоспорин А, который является блокаторм МРТ-поры. Как мы уже отмечали выше, открытие этой поры во время реперфузии вызывает гибель кардиомиоцитов в результате апоптоза и некроза [15]. Посткондиционирование блокирует открытие МРТ-поры и, соответственно, предупреждает реперфузионную гибель кардиомиоцитов [71]. Экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что циклоспорин А имитирует инфаркт-лимитирующий эффект посткондиционирования [72]. В исследование, выполненное французскими кардиологами, было включено 58 больных ОИМ с подъемом сегмента *ST* [73]. Всем пациентам выполнялась коронарная ангиопластика в течение 12 ч с момента появления загрудинных болей. Продолжительность ишемии в среднем составила 5 ч. Из исследования были исключены больные с прединфарктной стенокардией. Часть пациентов ( $n = 30$ ) перед реканализацией инфаркт-связанной артерии получали циклоспорин (2,5 мг/кг внутривенно), остальные больные ( $n = 28$ ) составили группу контроля. Размер инфаркта оценивали с помощью серийного определения содержания КФК и тропонина I, 27 пациентам на 5-й день после ОИМ была выполнена МРТ. Циклоспорин не влиял на уровень тропонина I, но снижал пик активности КФК. По данным МРТ, ингибитор МРТ-поры уменьшает размер зоны инфаркта на 20% [73]. В дальнейших исследованиях была подтверждена инфаркт-лимитирующая активность циклоспорина и показана его способность предупреждать постинфарктное ремоделирование сердца [73]. Основываясь на этих данных, некоторые исследователи полагают [73], что назрела настоятельная необходимость в проведении многоцентрового исследования, направленного на оценку кардиопротекторной активности циклоспорина [74].

## Заключение

Анализ экспериментальных данных свидетельствует о том, что старение и метаболический синдром могут оказаться серьезными препятствиями для реализации кардиопротекторного эффекта посткондиционирования. Умеренная гиперхолестеринемия, постинфарктный кардиосклероз и гипертрофия сердца не устраняют защитного эффекта посткондиционирования у экспериментальных животных. Вопрос о том, влияют ли экспериментальный сахарный диабет и артериальная гипертензия на эффективность посткондиционирования, остается предметом дискуссии. Клинические

исследования свидетельствуют о кардиопротекторном действии посткондиционирования у больных ОИМ и кардиохирургических пациентов. Вместе с тем остается неясным, в какие сроки после появления коронароокклюзии посткондиционирование оказывает кардиопротекторный эффект. Также остается неизвестным, как сказывается старение, наличие сахарного диабета, метаболического синдрома, артериальной гипертензии, гипертрофии миокарда, постинфарктного ремоделирования сердца на эффективности посткондиционирования в клинической практике. Требуется дальнейшие

клинические исследования, направленные на разработку фармакологических подходов к профилактике реперфузионных повреждений сердца.

*Работа подготовлена при поддержке Федерального агентства по науке и инновациям, государственный контракт № 11.519.11.2016, № 11.519.11.2028 и РФФИ, грант № 11-04-0046711-04-00467. Авторы выражают признательность за консультативную помощь проф. В.И. Чернову и за техническую помощь Н.А. Данильченко, М. Октопусу, И.С. Хохловой.*

ЛИТЕРАТУРА

- Zhao Z.Q., Corvera J.S., Halkos M.E. et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003; 285 (2): 579–H588.
- Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н. Ишемическое посткондиционирование сердца. Рецепторные механизмы и возможность клинического применения. *Кардиология.* 2010; 50 (6): 68–74.
- Маслов Л.Н. Новые подходы к профилактике и терапии ишемических и реперфузионных повреждений сердца при остром инфаркте миокарда. *Сиб. мед. журн. (Томск).* 2010; 25 (2): 17–24.
- Маслов Л.Н., Криг Т., Дайван В. Посткондиционирование — универсальный защитный феномен. *Пат. физиол. экспер. терапия.* 2009; 3: 2–6.
- Шляхто Е.В., Галагудза М.М., Сыренский А.В., Нифонтов Е.М. Кардиопротекторные эффекты ишемического посткондиционирования миокарда. *Кардиология.* 2005; 45 (7): 44–48.
- Galagudza M.M., Blokhin I.O., Shmonin A.A., Mischenko K.A. Reduction of myocardial ischemia-reperfusion injury with pre- and postconditioning: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets.* 2008; 8 (1): 47–65.
- Rohilla A., Rohilla S., Kushnoor A. Myocardial postconditioning: Next step to cardioprotection. *Arch. Pharm. Res.* 2011; 34 (9): 1409–1415.
- Shi W., Vinten-Johansen J. Endogenous cardioprotection by ischaemic postconditioning and remote conditioning. *Cardiovasc. Res.* 2012; 94 (2): 206–216.
- Mahaffey K.W., Puma J.A., Barbagelata N.A. et al. Adenosine as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of a multicenter, randomized, placebo-controlled trial: the Acute Myocardial Infarction Study of Adenosine (AMISTAD) trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999; 34 (6): 1711–1720.
- Ross A.M., Gibbons R.J., Stone G.W. et al. AMISTAD-II Investigators. A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMISTAD-II). *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005; 45 (11): 1775–1780.
- Przyklenk K., Maynard M., Darling C.E., Whittaker P. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with postconditioning. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 51 (14): 1393–1398.
- Dow J., Bhandari A., Kloner R.A. Ischemic postconditioning's benefit on reperfusion ventricular arrhythmias is maintained in the senescent heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* 2008; 13 (2): 141–148.
- Boengler K., Buechert A., Heinen Y. et al. Cardioprotection by ischemic postconditioning is lost in aged and STAT3-deficient mice. *Circ. Res.* 2008; 102 (1): 131–135.
- Boengler K., Hilfiker-Kleiner D., Heusch G., Schulz R. Inhibition of permeability transition pore opening by mitochondrial STAT3 and its role in myocardial ischemia/reperfusion. *Basic Res. Cardiol.* 2010; 105 (6): 771–785.
- Halestrap A.P. A pore way to die: the role of mitochondria in reperfusion injury and cardioprotection. *Biochem. Soc. Trans.* 2010; 38 (4): 841–860.
- Somers S.J., Lacerda L., Opie L., Lecour S. Age, genetic characteristics and number of cycles are critical factors to consider for successful protection of the murine heart with postconditioning. *Physiol. Res.* 2011; 60 (6): 971–974.
- Iliodromitis E.K., Zoga A., Vrettou A. et al. The effectiveness of postconditioning and preconditioning on infarct size in hypercholesterolemic and normal anesthetized rabbits. *Atherosclerosis.* 2006; 188 (2): 356–362.
- Iliodromitis E.K., Andreadou I., Prokova E. et al. Simvastatin in contrast to postconditioning reduces infarct size in hyperlipidemic rabbits: possible role of oxidative/nitrosative stress attenuation. *Basic Res. Cardiol.* 2010; 105 (2): 193–203.
- Donato M., D'Annunzio V., Berg G. et al. Ischemic postconditioning reduces infarct size by activation of A<sub>1</sub> receptors and K<sup>+</sup><sub>ATP</sub> channels in both normal and hypercholesterolemic rabbits. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2007; 49 (5): 287–292.
- Zhao J.L., Yang Y.J., You S.J. et al. Different effects of postconditioning on myocardial no-reflow in the normal and hypercholesterolemic mini-swines. *Microvasc. Res.* 2007; 73 (2): 137–142.
- Huang C., Li R., Zeng Q. et al. Effect of minocycline postconditioning and ischemic postconditioning on myocardial ischemia-reperfusion injury in atherosclerosis rabbits. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* 2012; 32 (4): 524–529.
- Miller C.D., Thomas M.J., Hiestand B. et al. Cholesteryl esters associated with acyl-CoA: cholesterol acyltransferase predict coronary artery disease in patients with symptoms of acute coronary syndrome. *Acad. Emerg. Med.* 2012; 19 (6): 673–682.
- Rhew S.H., Ahn Y., Kim M.C. et al. Is myocardial infarction in patients without significant stenosis on a coronary fngiogram as benign as believed? *Chonnam. Med. J.* 2012; 48 (1): 39–46.
- Bonaca M.P., Scirica B.M., Sabatine M.S. et al. Prospective evaluation of pregnancy-associated plasma protein-a and outcomes in patients with acute coronary syndromes. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012; 60 (4): 332–338.
- Mazurek M., Kowalczyk J., Lenarczyk R. et al. The prognostic value of different glucose abnormalities in patients with acute myocardial infarction treated invasively. *Cardiovasc. Diabetol.* 2012; 11 (1): 78.
- O'Donoghue M.L., Vaidya A., Afsal R. et al. An invasive or conservative strategy in patients with diabetes mellitus and non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: a collaborative meta-analysis of randomized trials. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012; 60 (2): 106–111.
- Yin X., Zheng Y., Zhai X., Zhao X., Cai L. Diabetic inhibition of preconditioning- and postconditioning-mediated myocardial protection against ischemia/reperfusion injury. *Exp. Diabetes Res.* 2012; 2012: 198048.
- Cai W., Fang J., Chen Z.Y. et al. Rosuvastatin enhances the protective effects of ischemic postconditioning on myocardial ischaemia-reperfusion injury in type 2 diabetic rat. *Chin. J. Cardiol.* 2010; 38 (9): 814–818.
- Ren J.Y., Song J.X., Lu M.Y., Chen H. Cardioprotection by ischemic postconditioning is lost in isolated perfused heart from dia-

- betic rats: Involvement of transient receptor potential vanilloid 1, calcitonin gene-related peptide and substance P. *Regul Pept.* 2011; 169 (1–3): 4–957.
30. Wagner C., Kloeting I., Strasser R.H., Weimbrenner C. Cardioprotection by postconditioning is lost in WOKW rats with metabolic syndrome: role of glycogen synthase kinase  $\beta$ . *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2008; 52 (5): 430–437.
  31. Zhu M., Feng J., Lucchinetti E. et al. Ischemic postconditioning protects remodeled myocardium via the PI3K-PKB/Akt reperfusion injury salvage kinase pathway. *Cardiovasc. Res.* 2006; 72 (1): 152–162.
  32. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. М.: Мур. 1989. 653 с.
  33. Ahmed E., El-Menyar A., Singh R. et al. Effect of age on clinical Presentation and outcome of patients hospitalized with acute coronary syndrome: a 20-year registry in a Middle Eastern country. *Open Cardiovasc. Med. J.* 2012; 6: 60–67.
  34. Milani R.V., Lavie C.J., Dornelles A.C. The impact of achieving perfect care in acute coronary syndrome: The role of computer assisted decision support. *Am. Heart J.* 2012; 164 (1): 29–34.
  35. Fantinelli J.C., Mosca S.M. Comparative effects of ischemic pre and postconditioning on ischemia-reperfusion injury in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Mol. Cell. Biochem.* 2007; 296 (1–2): 45–51.
  36. Penna C., Tullio F., Moro F. et al. Effects of a protocol of ischemic postconditioning and/or captopril in hearts of normotensive and hypertensive rats. *Basic Res. Cardiol.* 2010; 105 (2): 181–192.
  37. Choi W.S., Lee J.H., Park S.H. et al. Prognostic value of standard electrocardiographic parameters for predicting major adverse cardiac events after acute myocardial infarction. *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* 2011; 16 (1): 56–63.
  38. Ledakowicz-Polak A., Polak L., Zielinska M. Ventricular septal defect complicating acute myocardial infarction-still an unsolved problem in the invasive treatment era. *Cardiovasc. Pathol.* 2011; 20 (2): 93–98.
  39. Kiselev A.R., Gridnev V.I., Prokhorov M.D. et al. Evaluation of 5-year risk of cardiovascular events in patients after acute myocardial infarction using synchronization of 0.1-Hz rhythms in cardiovascular system. *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* 2012; 17 (3): 204–213.
  40. Li X.M., Ma Y.T., Yang Y.N. et al. Ischemic postconditioning protects hypertrophic myocardium by ERK1/2 signaling pathway: experiment with mice. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2009; 89 (12): 846–850.
  41. Staat P., Rioufol G., Piot C. et al. Postconditioning the human heart. *Circulation.* 2005; 112 (14): 2143–2148.
  42. Ma X., Zhang X., Li C., Luo M. Effect of postconditioning on coronary blood flow velocity and endothelial function and LV recovery after myocardial infarction. *J. Interv. Cardiol.* 2006; 19 (5): 367–375.
  43. Darling C.E., Solari P.B. et al. «Postconditioning» the human heart: multiple balloon inflations during primary angioplasty may confer cardioprotection. *Basic Res. Cardiol.* 2007; 102 (3): 274–278.
  44. Дженнингс Р.Б., Реймер К.А. Действие анаприлина при остром ишемическом повреждении миокарда. В кн.: Метаболизм миокарда. Мат-лы 2-го советско-американского симпозиума. 28–30 мая 1975 г. Сочи. Под ред. Е.И. Чазова, Х.Е. Моргана. М.: Медицина. 1977. С. 90–108.
  45. Yang X.C., Liu Y., Wang L.F. et al. Reduction in myocardial infarct size by postconditioning in patients after percutaneous coronary intervention. *J. Invasive. Cardiol.* 2007; 19 (10): 424–430.
  46. Лишманов Ю.Б., Чернов В.И. Радионуклидная диагностика в кардиологии. Гл. 2.3. В кн.: Радионуклидная диагностика для практических врачей. Под ред. Ю.Б. Лишманова, В.И. Чернова. Томск: СТТ. 2004. С. 55–137.
  47. Horwitz L. D., Kaufman D., Keller M. W., Kong Y. Time course of coronary endothelial healing after injury due to ischemia and reperfusion. *Circulation.* 1994; 90 (5): 2439–2447.
  48. Thibault H., Piot C., Staat P. et al. Long-term benefit of postconditioning. *Circulation.* 2008; 117 (8): 1037–1044.
  49. Laskey W.K., Yoon S., Calzada N., Ricciardi M.J. Concordant improvements in coronary flow reserve and ST-segment resolution during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a benefit of postconditioning. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 2008; 72 (2): 212–220.
  50. Zhao W.S., Xu L., Wang L.F. et al. A 60-s postconditioning protocol by percutaneous coronary intervention inhibits myocardial apoptosis in patients with acute myocardial infarction. *Apoptosis.* 2009; 14 (10): 1204–1211.
  51. Ярилин А.А. Апоптоз: природа феномена и его роль в норме и при патологии. В кн.: Актуальные проблемы патофизиологии. Избранные лекции. Под ред. Б.Б. Мороза. М. Медицина. 2001. С. 13–56.
  52. Wang G., Zhang S., Joggerst S.J. et al. Effects of the number and interval of balloon inflations during primary PCI on the extent of myocardial injury in patients with STEMI: does postconditioning exist in real-world practice? *J. Invasive Cardiol.* 2009; 21 (9): 451–455.
  53. Lonborg J., Kelbaek H., Vejstrup N. et al. Cardioprotective effects of ischemic postconditioning in patients treated with primary percutaneous coronary intervention, evaluated by magnetic resonance. *Circ. Cardiovasc. Interv.* 2010; 3 (1): 34–41.
  54. Fan Q., Yang X.C., Liu Y. et al. Postconditioning attenuates myocardial injury by reducing nitro-oxidative stress *in vivo* in rats and in humans. *Clin. Sci. (Lond).* 2010; 120 (6): 251–261.
  55. Xue F., Yang X., Zhang B. et al. Postconditioning the human heart in percutaneous coronary intervention. *Clin. Cardiol.* 2010; 33 (7): 439–444.
  56. Lin X.M., Zhang Z.Y., Wang L.F. et al. Attenuation of tumor necrosis factor- $\alpha$  elevation and improved heart function by postconditioning for 60 seconds in patients with acute myocardial infarction. *Chin. Med. J.* 2010; 123 (14): 1833–1839.
  57. Sorensson P., Saleh N., Bouvier F. et al. Effect of postconditioning on infarct size in patients with ST elevation myocardial infarction. *Heart.* 2010; 96 (21): 1710–1715.
  58. Garcia S., Henry T.D., Wang Y.L. et al. Long-term follow-up of patients undergoing postconditioning during ST-elevation myocardial infarction. *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2011; 4 (1): 92–98.
  59. Liu T.K., Mishra A.K., Ding F.X. Protective effect of ischemia postconditioning on reperfusion injury in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction. *Chin. J. Cardiol.* 2011; 39 (1): 35 – 39.
  60. Thuny F., Lairez O., Roubille F. et al. Post-conditioning reduces infarct size and edema in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012; 59 (24): 2175–2181.
  61. Luo W., Li B., Lin G., Huang R. Postconditioning in cardiac surgery for tetralogy of Fallot. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2007; 133 (5): 1373–1374.
  62. Li B., Chen R., Huang R., Luo W. Clinical benefit of cardiac ischemic postconditioning in corrections of tetralogy of Fallot. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2009; 8 (1): 17–21.
  63. Ji Q., Mei Y., Wang X., Feng J. et al. Effect of ischemic postconditioning in correction of tetralogy of Fallot. *Int. Heart J.* 2011; 52 (5): 312–317.
  64. Luo W., Li B., Lin G., Chen R., Huang R. Does cardioplegia leave room for postconditioning in paediatric cardiac surgery? *Cardiol. Young.* 2008; 18 (3): 282–287.
  65. Luo W., Li B., Chen R. et al. Effect of ischemic postconditioning in adult valve replacement. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2008; 33 (2): 203–208.

66. Garratt K.N., Holmes D.R., Molina-Viamonte V. et al. Intravenous adenosine and lidocaine in patients with acute myocardial infarction. *Am. Heart J.* 1998; 136 (2): 196–204.
67. Marzilli M., Orsini E., Marraccini P., Testa R. Beneficial effects of intracoronary adenosine as an adjunct to primary angioplasty in acute myocardial infarction. *Circulation.* 2000; 101 (18): 2154–2159.
68. Claeys M.J., Bosmans J., De Ceuninck M. et al. Effect of intracoronary adenosine infusion during coronary intervention on myocardial reperfusion injury in patients with acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 2004; 94 (1): 9–13.
69. Lim S.Y., Bae E.H., Jeong M.H. et al. Effect of combined intracoronary adenosine and nicorandil on no-reflow phenomenon during percutaneous coronary intervention. *Circ. J.* 2004; 68 (10): 928–932.
70. Quintana M., Hjemdahl P., Sollevi A. et al. ATTACC investigators. Left ventricular function and cardiovascular events following adjuvant therapy with adenosine in acute myocardial infarction treated with thrombolysis, results of the ATTenuation by Adenosine of Cardiac Complications (ATTACC) study. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2003; 59 (1): 1–9.
71. Argaud L., Gateau-Roesch O., Raissy O. et al. Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation.* 2005; 111 (2): 194–197.
72. Hausenloy D.J., Maddock H.L., Baxter G.F., Yellon D.M. Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: a new paradigm for myocardial preconditioning? *Cardiovasc. Res.* 2002; 55 (3): 534–543.
73. Piot C., Croisille P., Staat P. et al. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359 (5): 473–481.
74. Mewton N., Croisille P., Gahide G. et al. Effect of cyclosporine on left ventricular remodeling after reperfused myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010; 55 (12): 1200–1205.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Маслов Леонид Николаевич**, д.м.н, профессор, руководитель лаборатории экспериментальной кардиологии ФГБУ НИИ кардиологии СО РАМН

Адрес: 634012, Томск, ул. Киевская, д. 111; тел.: (3822) 26-21-74; e-mail: maslov@cardio.tsu.ru

**Мрочек Александр Геннадьевич**, доктор медицинских наук, профессор, академик Национальной академии наук Беларуси, директор Республиканского научно-практического центра «Кардиология»

Адрес: 220036, Минск, ул. Р. Люксембург, д. 110; e-mail: a.mrochek@mail.by

**Халиулин Игорь Германович**, к.м.н, н.с. Biochemistry Department University of Bristol

Адрес: University Walk, Bristol, BS8 1TD UK; тел.: +44 (0)117-331-21-20; e-mail: I.Khaliulin@bristol.ac.uk

**Хануш Лумир** (Lumir Hanus), к.х.н., профессор Института исследования лекарств

Адрес: Иерусалим, Израиль, Еврейский университет Иерусалима; e-mail: lumirh@ekmd.huji.ac.il

**Жан-Минг Пей** (Jian-Ming Pei), профессор отдела физиологии Четвертого военно-медицинского университета

Адрес: 710032, провинция Шаанкси, Китай, Вест Чангл роуд, Ксиань; e-mail: Jmpei8@fmmu.edu.cn

**Жанг И.** (Yi Zhang), профессор, Department of Physiology, Hebei Medical University

Адрес: Shijiazhuang 050017, China, 361, East Zhongshan Road; e-mail: zhyhenry@hotmail.com

Л.Е. Зиганшина, Т.Р. Абакумова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Республика Татарстан, Российская Федерация

## Церебролизин в лечении острого ишемического инсульта

*В обзоре обсуждаются существующие доказательства пользы и рисков применения церебролизина — смеси низкомолекулярных пептидов и аминокислот, полученных из мозговой ткани свиней, с заявленными нейропротективными и нейротрофическими свойствами для лечения острого ишемического инсульта. Авторами проведен систематический поиск и анализ рандомизированных контролируемых клинических испытаний, сравнивающих церебролизин с плацебо у пациентов с острым ишемическим инсультом. На основании критического анализа и оценки пригодности для систематического рассмотрения авторами выбрано единственное исследование, удовлетворяющее критериям качества. Показано отсутствие различий между церебролизином и плацебо по предотвращению смертельных исходов и неблагоприятных эффектов. Обоснован вывод об отсутствии достаточных доказательств влияния церебролизина на выживаемость и инвалидизацию при остром ишемическом инсульте.*

**Ключевые слова:** аминокислоты, нейропротекторы, инсульт.

21

### Введение

Церебролизин — это смесь пептидов низкой молекулярной массы и аминокислот, полученных из мозговой ткани свиней, предположительно обладающая нейропротекторными и нейротрофическими свойствами. Препарат широко используется в лечении острого ишемического инсульта в России и Китае. Нами были проанализированы результаты рандомизированных контролируемых исследований, в которых изучали применение церебролизина у больных с острым ишемическим инсультом.

### История проблемы

Инсульт — мозговой эквивалент сердечного приступа, который происходит при потере головным мозгом крови и источника питания, приводящий к повреждению мозговой ткани. Инсульт — одна из главных причин недееспособности и смертности во всем мире [1–3]. Более 50% оставшихся в живых после острого инсульта испытывают тяжелые неврологические расстройства (нарушения зрения и/или речи, параличи и когнитивные расстройства), которые в 30–60% случаев не восстанавливаются в течение 6 мес после инсульта [4]. Ежегодно 15 млн человек

в мире переносят инсульт. Из них 5 млн умирают, еще 5 млн надолго остаются инвалидами, перенося бремя по уходу за ними на свою семью и общество [5]. В Российской Федерации ежегодно регистрируют 10 000 случаев острого инсульта. В 2001 г. заболеваемость инсультами достигла 3,36 на 1000 населения со смертностью 40,37% (61,4% — при геморрагическом инсульте и 21,8% — при ишемическом). В Северо-Западных регионах была отмечена самая высокая заболеваемость (от 7,43 до 1 000), далее по убыванию — в некоторых городах Средней полосы России (от 5,37 до 1 000) и Дальнего Востока (от 4,41 до 1 000) [6, 7].

### Методы лечения

Для острого нарушения мозгового кровообращения необходимы urgentные эффективные, простые и надежные методы лечения с тем, чтобы снизить смертность и инвалидность. В многочисленных клинических исследованиях и кохрейновских обзорах обратились к вопросу пользы и риска потенциальных фармакологических вариантов лечения острого ишемического инсульта. Однако методологий с доказанным терапевтическим эффектом и приемлемым соотношением риск/польза все еще недостаточно. Потенциальные методы могли быть сгруппиро-

L.E. Ziganshina, T.R. Abakumova

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, the Republic of Tatarstan, Russian Federation

## Cerebrolysin for acute ischemic stroke

*The review discusses existing evidence of benefits and risks of cerebrolysin — a mixture of low-molecular-weight peptides and amino acids derived from pigs' brain tissue with proposed neuroprotective and neurotrophic properties, for acute ischemic stroke. The review presents results of systematic search and analysis of randomised clinical trials comparing cerebrolysin with placebo in patients with acute ischemic stroke. Only one trial was selected as meeting quality criteria. No difference in death and adverse events between cerebrolysin and placebo was established. The authors conclude about insufficiency of evidence to evaluate the effect of cerebrolysin on survival and dependency in people with acute ischemic stroke.*

**Key words:** amino acids, neuroprotective agents, stroke.

ваны согласно существующим доказательствам их пользы и риска следующим образом.

• **Потенциальная польза лекарственной терапии.**

Ацетилсалициловая кислота — единственное фармакологическое средство (систематический обзор, представленный в кохрейновской базе данных), которое было эффективно для ранней вторичной профилактики при применении его в течение 48 ч после начала острого ишемического инсульта [8]. Тромболизис с внутривенным рекомбинантным активатором плазминогена представляет собой многообещающую методику, но только в экспериментальных центрах и пациентам, подобраным с особой тщательностью (при исключении всех противопоказаний) [9]. Доказательств у этой методики до сих пор недостаточно, чтобы идентифицировать предпочтительный тромболизисный агент, дозу, путь введения и самое позднее временное окно его применения [9, 10]. Кохрейновский обзор по результатам клинических исследований, выполненных в эру, когда еще не была внедрена методология контролируемых исследований, выдвинул в качестве предположения использование глицерина для краткосрочного продления жизни пациентам с ишемическим инсультом [11]. Средства, влияющие на систему свертывания крови, также являются многообещающими (при лечении инсульта), но необходимо больше данных для всесторонней оценки результатов [12].

• **Потенциальный вред лекарственной терапии.**

Тирилазад — аминостероид, ингибитор перекисного окисления липидов, повышал частоту комбинированного исхода «смерть или инвалидность» у пациентов с острым ишемическим инсультом [13]. Лубелузол, ионный модулятор канала высвобождения глутамата, имеющий бензотиазоловую структуру с предположительными нейропротективными свойствами, не снижал смертности и не оказывал на нее влияние у пациентов с острым ишемическим инсультом, а даже напротив, увеличивал нарушение сердечной проводимости (продление интервала Q–T) [14].

• **Накоплены доказательства отсутствия эффективности следующих потенциальных фармакотерапевтических стратегий.**

Антагонисты кальция [15], гемодилюция [16], антагонисты возбуждающих аминокислот, включая модуляторы ионных каналов и антагонисты NMDA [17], антикоагулянтная терапия, которая не ассоциировалась ни с краткосрочным, ни с длительным эффектом и не показывала преимуществ перед антитромбоцитарными средствами [18, 19]; пирацетам [20] и агент NXY-059 — «ловушка свободных радикалов» [21].

• **Доказательств из рандомизированных контролируемых исследований недостаточно для заключения о пользе или риске для следующих вмешательств.**

Ингибиторы гликопротеина P<sub>b</sub>–P<sub>3a</sub> [22]; экстракт листьев гинкго двулопастного [23]; нафтидрофурил, антагонист серотониновых рецепторов 5-HT<sub>2</sub> [24]; низкомолекулярные гепарины [25]; теофиллин или дериваты метилксантина [26, 27]; маннитол [28]; оксид азота [29]; средства, изменяющие кровяное давление [30, 31]; простаглицлин и его антагонисты [32]; винпоцетин [33]; глюкокортикоиды [34] и ганглиозиды [35].

• **Нейропротекция как потенциальный метод лечения.**

Термин «нейропротекция» используют, чтобы описать предполагаемый эффект воздействия, защищающий мозг от патологического повреждения. При ишемическом инсульте понятие «нейропротекция» включает подавление патологических молекулярных изменений, приводящих к притоку ионов кальция, активации реакции свободных

радикалов и некроза клеток. Знание патофизиологии при остром ишемическом инсульте стимулировало разработку значительного числа потенциально нейропротективных веществ. Многие из них оказались эффективны в исследованиях на животных. Однако поиск доказательств пользы у пациентов с ишемическим инсультом, полученных в адекватных клинических испытаниях, продолжает оставаться проблематичными. Церебролизин, как уже было сказано выше, это смесь пептидов низкой молекулярной массы (80%) и свободных аминокислот (20%), полученных из мозговой ткани свиньи, с предположительными нейропротективными и нейротрофическими свойствами, подобная естественному фактору роста (нейротрофический фактор, полученный из мозга) [36, 37].

Результаты исследований церебролизина *in vitro* и на животных предполагают возможность его применения в лечении острого ишемического нейронального повреждения. Например, церебролизин был дозозависимо эффективен на моделях тканевых культур при нейрональной ишемии и увеличивал нейрональное выживание [38]. В условиях *in vitro* в переживающих срезах мозга церебролизин противодействовал некрозу и апоптозу клеток, вызванных глутаматом [39]. Церебролизин также продемонстрировал нейропротективное действие на моделях геморрагического инсульта у крыс [40] и при травме спинного мозга [41]. Однако, несмотря на эффективность нейропротективных веществ на моделях инсульта у животных, клинические испытания нейропротективных средств на людях показали неутешительные результаты [42]. Более новые кохрейновские обзоры, посвященные исследованиям эффекта отдельных нейропротективных средств и их групп, подтвердили этот факт [13, 14, 17, 20].

В настоящее время предпринимаются попытки найти другие нейропротективные вещества. Для некоторых из них показан положительный эффект в последующих анализах [43]. Систематически рассматривается потенциальная эффективность церебролизина при лечении болезни Альцгеймера [37]. Церебролизин достаточно широко используется российскими врачами. Его применяют при лечении острого ишемического инсульта и других неврологических заболеваний [44–46]. Накоплены данные наблюдательных и клинических испытаний (большинство выполнено в России) о применении церебролизина при остром инсульте и травме головы [44, 45, 47–50], в связи с чем назрела необходимость систематической оценки этих результатов.

**Цели систематического обзора:**

- оценить пользу и риски церебролизина в лечении острого ишемического инсульта;
- оценить влияние церебролизина на выживаемость и инвалидность;
- изучить серьезные неблагоприятные события и неблагоприятные эффекты применения церебролизина.

**Пациенты и методы**

**Критерии включения исследований в систематический обзор**

1. **Исследования.** Мы включали в обзор все рандомизированные контролируемые исследования (уже изданные или неопубликованные), в которых сравнивали церебролизин либо с плацебо, либо с отсутствием другого лечения у пациентов при остром ишемическом инсульте. Были исключены все неконтролируемые исследования (в частности, псевдорандомизированные), где не маскировалось распределение участников в группы лечения

и контрольную группу (например, распределение по изменению, открытый лист случайных чисел, даты рождения, дня недели или нумерации больницы и т.д.).

2. **Участники.** Люди с острым ишемическим инсультом (независимо от пола, возраста и социального положения), у которых начальные симптомы острого ишемического инсульта появились не позднее 48 ч назад.

3. **Вмешательства.** Мы планировали сравнение церебролизина или более новых смесей пептидов, которые назвали «вещества, подобные церебролизину» с плацебо или отсутствием (другого) лечения. Мы также планировали сравнить церебролизин или «вещества, подобные церебролизину», добавленные к стандарту лечения против одного только стандартного лечения. Рассматриваемая терапия должна была быть начата не позднее 48 ч от начала инсульта и продолжаться не менее 2 нед (14 дней).

#### 4. Исходы.

##### Основные

- Недостаточный функциональный исход, определенный как смерть или инвалидность в конце периода наблюдения.
- Ранняя смерть (в течение 2 нед от начала инсульта).

##### Вторичные

- Качество жизни, если оно было оценено во включенных исследованиях.
- Смерть от всех причин.
- Время восстановления работоспособности.

##### Неблагоприятные события и эффекты

- Серьезные неблагоприятные события: смертельные, опасные для жизни, требующие госпитализации или изменения лечебного режима.
- Неблагоприятные эффекты, определенно специфически связанные с церебролизинем, такие как аллергические реакции.
- Общее число неблагоприятных исходов.

### Методы поиска для идентификации исследований

Был проведен поиск в Регистре исследований кохрейновской группы по инсультам (the Cochrane Stroke Group Trials Register, 2009), кохрейновском центральном регистре контролируемых исследований (CENTRAL, the Cochrane Library, Issue 1, 2009), MEDLINE (с 1966 по 2009 г.), EMBASE (с 1974 по 2009 г.), Базе данных LILACS (Latin American and Caribbean Health Sciences Literature) (с 1982 по 2009 г.), Science Citation Index (с 1940 по 2009 г.), SIGLE (System for Information on Grey Literature in Europe) (<http://opensigle.inist.fr/>) (с 1980 до 2005 г.). Также отслеживали исследования, опубликованные в России (с 1988 по 2009 г.): Российская медицина (<http://www.scsml.rssi.ru>) и Открытый медицинский клуб (<http://www.medart.tomsk.ru>). Кроме того, пользовались ручным поиском.

Чтобы идентифицировать изданные и неопубликованные данные, а также сведения о продолжающихся исследованиях, сверили списки цитируемой литературы всех исследований, идентифицированных вышеупомянутыми методами, провели поиск исследований по материалам следующих конференций по неврологии, проходивших в России: «Человек и лекарство» (2006–2009 гг.), Национальный конгресс кардиологов (2006–2009 гг.), Российский международный конгресс «Цереброваскулярная патология и инсульт» (2008, 2009 гг.), а также осуществили поиск следующих продолжающихся испытаний и регистров исследований: the Stroke Trials Registry ClinicalTrials.gov (<http://clinicaltrials.gov/>) и Current Controlled Trials (<http://www.controlled-trials.com/>). Была сделана попытка

идентифицировать все соответствующие исследования независимо от языка публикаций.

### Сбор данных и анализ

#### Выбор исследований

Два автора независимо изучали все найденные работы и их резюме, устанавливали их соответствие целям обзора и необходимость приобретения полнотекстового варианта статьи. При сомнениях в достоверности находили полный текст. Также независимо применяли критерии включения и решали разногласия посредством обсуждения. Был изучен полный текст материалов исследований, и в обзор включили только те исследования, которые соответствовали определенным заранее критериям включения. Кроме того, были исключены исследования, которые не соответствовали критериям включения. Причины исключения представлены в табл. 1.

#### Оценка методологического качества

Методологическое качество оценивали по следующим критериям: метод распределения участников в группы исследования, сокрытие от участников принадлежности к той или иной группе исследования, «ослепление», потеря числа участников с досрочным выходом из исследований и других рисков систематических ошибок. По этим критериям мы распределили исследования на соответствующие («да»), не соответствующие («нет») или неясные. Исследование считали соответствующим критериям качества, если потери участников составляли менее 10% от первично включенных.

#### Извлечение данных

Данные экстрагировали с использованием стандартной формы извлечения: данные по методам исследований, по участникам, по вмешательствам и исходам. Любые разночтения разрешали обсуждением или обращением к третьим лицам. Данные экстрагировали таким образом, чтобы обеспечить возможность анализа результатов по назначенному лечению (включая всех участников, которые были изначально рандомизировано распределены). Мы вычислили процент досрочного выхода (участников) из исследования и представили в табл. 1. Для бинарных исходов экстрагировали число участников с исходом в каждой группе. Для непрерывных исходов планировали использовать средние арифметические значения и стандартные отклонения в каждой группе.

### Статистическая обработка данных

Был применен принцип анализа по назначенному лечению и программа компьютерного анализа результатов систематических обзоров (Review Manager, 2008) [51]. В качестве меры бинарных исходов использовали относительный риск. Планировали проверить на однородность величины эффектов между исследованиями, используя тест I<sup>2</sup> на неоднородность (гетерогенность); если гетерогенность присутствовала ( $p < 0,1$ ), и число исследований позволяло, планировалось изучить дозу церебролизина и продолжительность лечения. В тех случаях, когда было уместно объединить данные, и была бы обнаружена гетерогенность, ставилась задача использовать модель случайных эффектов. Также планировалось выполнить анализ на чувствительность с целью проверить надежность результатов и изучить эффект качества методологии исследования (низкий, умеренный или высокий риск систематической ошибки), используемый в анализе чувствительности и «funnel plots» для изучения асимметрии (которая могла быть вызвана публикационной предвзятостью / смещением или неоднородностью).

Таблица 1. Характеристики исключенных исследований (адаптировано из [75])

Исследование	Причина исключения
Cuparnescu, 2001 [52]	Сообщение в виде резюме. Нет информации о продолжении исследования
Haffner, 2001 [54]	Сообщение в виде резюме; оценка эффективности со шкалами инсульта; никакой информации о смертности
Hong, 2002 [55]	Церебролизин использовался в восстановительном периоде инсульта
Hong, 2005 [56]	Церебролизин использовался в течение 10 дней (протоколом определено 14 дней); оценка эффективности со шкалами инсульта
Jin, 1999 [57]	Церебролизин в сравнении с <i>xingnaojing</i>
Kulchikov, 2008 [58]	Сообщение в виде резюме. Не соответствует вопросам исследования: вирусные осложнения инсульта
Kulchikov, 2008 [59]	Сообщение в виде резюме. Не соответствует вопросам исследования: инфекционные осложнения инсульта (пневмония)
Makarenko, 2006 [60]	Сообщение в виде резюме. Не соответствует вопросам исследования: инфекционные осложнения инсульта (пневмония)
Ren, 2002 [61]	Двунариевый цитидин трифосфат или церебролизин использовались в течение 10 дней
Sagatov, 2008 [62]	Сообщение в виде резюме. Не соответствует вопросам исследования: церебролизин + эмоксипин против церебролизина
Shamalov, 2006 [63]	Сообщение в виде резюме; церебролизин использовался 10 дней
Shi, 1990 [76]	Церебролизин использовался у пациентов с геморрагическим инсультом
Skvortsova, 2004,2005 [64, 67]	Церебролизин использовался 10 дней
Skvortsova, 2008 [65, 66]	Сообщение в виде резюме. Объем зоны инфаркта по МРТ головного мозга как мерилу эффективности
Vilensky, 2000 [68]	Церебролизин использовался 5 дней
Vilensky, 2006 [69]	Сообщение в виде резюме. Церебролизин по сравнению с церебролизином по способам введения
Wang, 1997 [70]	Церебролизин в сочетании с нитрендипином, глюкозой и инсулином в сравнении с комбинацией шалфея и низкомолекулярного декстрана
Wu, 1995 [71]	Сообщение в виде резюме. Церебролизин использовался в сочетании с урокиназой
Yavorskaya, 2008 [72]	Сообщение в виде резюме. Не соответствует вопросам исследования: пациенты с когнитивными нарушениями
Zhang, 1994 [73]	Слишком маленькое число участников (27 пациентов), вероятно, нерандомизированное исследование
Zhang, 1997 [77]	Не соответствует вопросам исследования: церебролизин использовался совместно с тренингом речи, маннитом и обычной терапией против обычной терапии маннитом
Zhu, 2003 [78]	Церебролизин использовался у пациентов со сроком инсульта 28±7 дней; оценка эффективности со шкалами инсульта

## Результаты

### Описание исследований

В результате поиска идентифицировали 23 рандомизированных контролируемых исследования для возможного включения. Из этих исследований было исключено 22 по следующим причинам: 1) в качестве исходов были использованы либо показатели шкал, либо число пациентов с неврологическим улучшением без четко определенных исходов; 2) лечение в исследованиях не было начато в течение 48 ч от начала инсульта и не продолжалось, по крайней мере, в течение 14 дней; 3) вопрос исследования не имел отношения к вопросам систематического обзора; 4) в исследовании использовали различные сравнения (контрольные группы) или 5) об исследованиях сообщали только в виде резюме [52–73] (см. табл. 1).

Только одно испытание соответствовало критериям включения [48]. Это было многоцентровое плацебоконтролируемое исследование, проведенное в Австрии, Чешской республике и Венгрии, поддержанное (оплаченное) производителем церебролизина, компанией EBEWE Pharma. В исследовании присутствуют четкие критерии включения и исключения. Средний возраст участников групп сравнения составил 65 лет. В исследовании рандомизированы 146 участников в течение 24 ч от начала инсульта во всех группах лечения (церебролизин + основная терапия; 78 участников) или контрольная группа (плацебо + основная терапия; 68 участников). Между группами не было никаких существенных различий с точки зрения исходных характеристик. В группе церебролизина пре-

парат вводили внутривенно 1 раз в день в течение 20 мин на протяжении 21 сут. Церебролизин предоставлялся в центры производителем церебролизина. Плацебо состояло из 100 мл физиологического раствора. В группе лечения и контрольной группе использовалась одна и та же базисная терапия (пентоксифиллин и ацетилсалициловая кислота).

Исходами служили: число баллов по Канадской неврологической шкале (CNS), индексу Бартела (BI), Шкале комы Глазго (GCS), Шкале общего клинического впечатления (CGI), Краткому исследованию психического состояния (MMSE), Короткому синдромальному тесту (SST), Шкале самооценки состояния (the Self Assessment Scale) и Шкале Гамильтона для оценки депрессии (HAM-D). Тесты были выполнены при поступлении участников в стационар и последующих посещениях в 1-й, 3-й, 7-й, 14-й, 21-й и 90-й день. Побочные эффекты включали аномальные данные лабораторных исследований, изменения клинических лабораторных показателей, изменения основных показателей жизнедеятельности и общие физические и неврологические показатели обследования, оцененные как незначительные, умеренные и серьезные. Число участников, которые умерли за период исследования в группе церебролизина и группе плацебо, было отмечено в исследовании в разделе риска. Мы использовали эти цифры, чтобы оценить исход «смерть от всех причин». Продолжительность наблюдения составила 90 сут. 25 участников (17%) были потеряны для наблюдения (9 из них относились к группе лече-



ния, 16 — к контрольной группе). Детали, включенные в исследование, представлены в табл. 2.

**Риск систематической ошибки во включенных исследованиях**

Как уже было отмечено выше, только одно исследование по результатам анализа соответствовало критериям включения. Производитель церебролизина обеспечил методы рандомизации — компьютерно-генерируемый код.

Запечатанные конверты позволяли скрывать распределение участников в группы исследования, и оставались запечатанными на протяжении всего периода наблюдения. Исследователи и весь персонал были «ослеплены». Однако было невозможно оценить «ослепление» по исходам исследования. 25 из 146 рандомизированных участников были потеряны для наблюдения (17%). Мы сравнивали число смертельных случаев, используя принцип «по назначенному лечению», на основании данных, взятых из

**Таблица 2.** Характеристики включенных исследований: Ladurner, 2005 [48] (адаптировано из [75])

Методы	Многоцентровое рандомизированное двойное слепое контролируемое исследование. 25 участников (17%) — досрочный выход из исследования. Средняя продолжительность последующего наблюдения 90 дней	
Участники	146 участников рандомизировано, 121 оценено. <b>Критерии включения:</b> мужчины и женщины с первым (в анамнезе) острым ишемическим инсультом, клиническими признаками поражения головного мозга в области средней мозговой артерии, в возрасте 45–85 лет, госпитализированные и получавшие лечение в течение 24 ч от начала инсульта, оцененные по шкале комы Глазго >10 и Канадской неврологической шкале в пределах от 4,5 до 8,0 от нулевого уровня. <b>Критерии исключения:</b> кровоизлияние в мозг, преходящие ишемические атаки, неконтролируемая гипертензия, острый инфаркт миокарда, застойная сердечная недостаточность, слабоумие до инсульта (от умеренного до выраженного), ступор или кома, тяжелые сопутствующие заболевания, почечная недостаточность, предшествующие инсульту	
Вмешательства	<b>Вмешательство:</b> церебролизин 50 мл (на 50 мл физиологического раствора), внутривенное введение более 20 мин в течение 21 дня после госпитализации в дополнение к основной терапии (78 участников). <b>Контроль:</b> плацебо (физиологический раствор 100 мл), внутривенное введение более 20 мин в течение 21 дня после госпитализации в дополнение к основной терапии (68 участников). <b>Основная терапия:</b> пентоксифиллин (300 мг/сут внутривенно) и ацетилсалициловая кислота (250 мг/сут внутрь) в течение первых 21 дней; пентоксифиллин (2×400 мг/сут внутрь) и ацетилсалициловая кислота (250 мг/сут внутрь) с 22-го по 90-й день заболевания	
Исходы	1. <b>Критерии эффективности:</b> Канадская неврологическая шкала (CNS), индекс Бартела (BI), шкала комы Глазго (GCS), шкала общего клинического впечатления (CGI), краткое исследование психического состояния (MMSE), короткий синдромальный тест (SST), шкала самооценки состояния (the Self Assessment Scale) и шкала Гамильтона для оценки депрессии (HAM-D), выполненные при поступлении участников и последующих посещениях в 1-й, 3-й, 7-й, 14, 21 и 90-й день. 2. <b>Побочные эффекты</b> включали аномальные данные лабораторных исследований, изменения клинических лабораторных показателей, изменения основных показателей жизнедеятельности и общие физические и неврологические показатели обследования, расцененные как незначительные, умеренные и серьезные. 3. <b>Смерть</b> от всех причин, представленная как серьезный побочный эффект	
Примечания	<b>Расположение:</b> 8 сайтов в Австрии, Чешской Республике и Венгрии	
Риск смещения / предвзятости		
<b>Элемент</b>	<b>Решение авторов</b>	<b>Описание</b>
Маскирование распределения участников в группы исследования	Да	<b>Цитата:</b> «По каждому пациенту исследователю был предоставлен запечатанный конверт с информацией о фактическом распределении лечения для использования в чрезвычайных случаях. Все конверты оставались запечатанными в течение всего исследования»
Ослепление	Да	<b>Цитата:</b> «Исследователи и весь другой персонал исследования были «ослеплены» относительно случайного установления кода рандомизации до завершения статистического анализа» <b>Комментарий:</b> невозможно оценить «ослепление» по исходам
Соответствующий порядок генерирования последовательности определения пациентов в группы сравнения	Да	<b>Цитата:</b> «Пациенты, которые соответствовали всем критериям включения, были распределены по группам лечения в отношении 1:1, согласно коду рандомизации, сгенерированному программным обеспечением (EBEWE Pharma, Untertach, Австрия). Рандомизация была выполнена по блокам из 12 пациентов, стратифицированных по центру исследования»
Неполные данные по исходам идентифицировались	Неясно	<b>Комментарий:</b> неприменимо, т.к. информация об исходах, которые представляют интерес для обзора, была доступна только для серьезных неблагоприятных эффектов, включая смерть. 25 (17%) участников из 146 рандомизированных были потеряны для наблюдения
Отсутствие селективного представления результатов	Неясно	<b>Комментарий:</b> неприменимо, т.к. информация об исходах, которые представляют интерес для обзора, была доступна только для серьезных неблагоприятных эффектов, включая смерть
Отсутствие другого смещения	Нет	17% потеряны для наблюдения. Производитель церебролизина обеспечил лекарство (церебролизин) и процедуру рандомизации (коды)

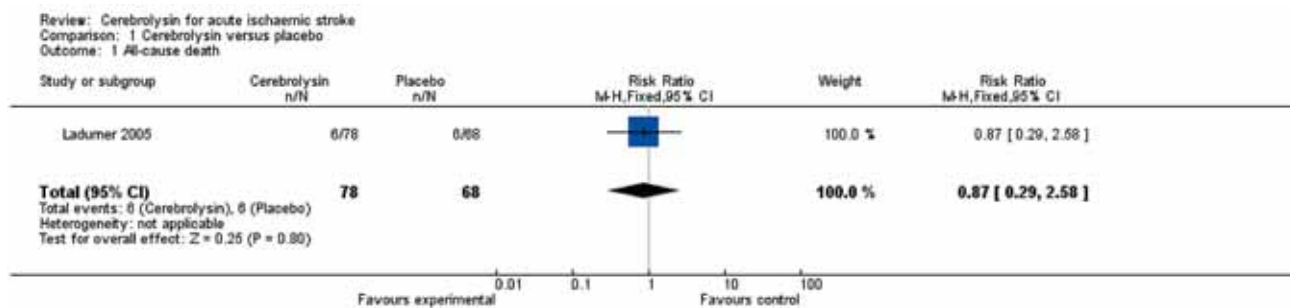


Рис. 1.1 Сравнение церебролизина с плацебо. Результат 1: смерть от любой причины [75].

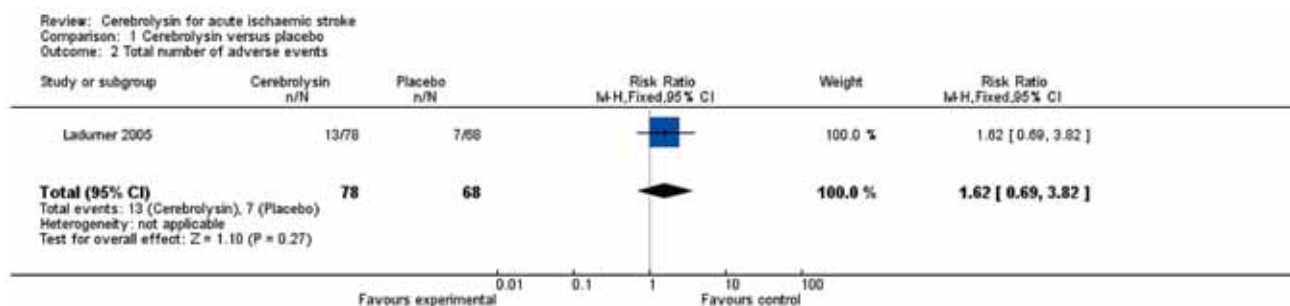


Рис. 1.2. Сравнение церебролизина с плацебо. Результат 2: общее число неблагоприятных событий [75].

раздела безопасности отчета по исследованию, и представили данные как «смерть от всех причин» без выполнения других видов анализа [48].

**Результаты вмешательства**

В опубликованных результатах исследования ничего не сообщалось относительно основных конечных точек, таких как плохой функциональный исход (определенный как смерть или инвалидность в конце периода наблюдения) и ранняя смерть (в течение 2 нед от начала инсульта). Не сообщалось и о вторичных конечных точках: качество жизни, смерть от всех причин и время на восстановление трудоспособности. Мы использовали данные по числу смертей в обеих группах, чтобы воссоздать вторичный исход «смерть от всех причин». 6 участников из 78 рандомизированных умерли в группе церебролизина, и 6 — в группе плацебо (из 68 рандомизированных). Было рассчитано отношение риска для собранных исходов по смерти от всех причин:  $R = 0,87$ , 95% CI (доверительный интервал, CI) 0,29 к 2,58 (рис. 1.1). Авторы исследования сообщили о следующих причинах смерти: церебральный инфаркт (4 в группе церебролизина и 2 в группе плацебо), остановка сердца (2 в группе церебролизина и 1 в группе плацебо), легочная эмболия (2 в группе плацебо), пневмония (1 в группе плацебо). Авторы не сообщили о времени, когда эти смертельные исходы наступили.

**Побочные эффекты и реакции**

Авторы исследования сообщили о суммарной частоте неблагоприятных эффектов: 16,4% в группе церебролизина и 10,3% в группе плацебо. Мы вычислили отношение риска для общего числа неблагоприятных событий:  $R = 1,62$ , 95% CI 0,69 к 3,82 (рис. 1.2). Авторы сообщили только об одном серьезном нефатальном побочном эффекте в группе плацебо: рвота кровью. Не сообщалось ни об одном специфическом побочном эффекте, ассоцииро-

ванном с церебролизином (например, об аллергической реакции).

**Обсуждение**

Единственное включенное исследование (поддержанное производителем церебролизина) не обеспечило достаточного числа доказательств эффективности церебролизина по влиянию на клинические исходы при остром ишемическом инсульте. По исходу «смерть от всех причин» церебролизин оказался не лучше плацебо. Несмотря на недостаток в доказательствах его эффективности, церебролизин широко используется в России и Китае при остром ишемическом инсульте. Методологическое качество клинических испытаний церебролизина было недостаточным для включения их в данный систематический обзор. Стоит упомянуть, что среди исключенных исследований испытание В.И. Скворцовой [64] (*применение церебролизина по 10 и 50 мл в сравнении с плацебо в течение 10 дней*) продемонстрировало отсутствие различий между церебролизином и плацебо по исходу «смерть от всех причин» в течение 30 дней от начала инсульта.

Следовательно, рутинное применение церебролизина больным с острым ишемическим инсультом не подтверждено никакими данными существующих на сегодняшний день клинических исследований. Дальнейшие испытания, проводимые в этой области, должны представлять собой хорошо спланированные рандомизированные контролируемые исследования, которые бы оценивали клинические исходы болезни, а не параметры шкалы инсульта или другие суррогатные исходы, такие как объем зоны инфаркта мозга. Исследования должны быть опубликованы в полном виде, чтобы позволить широкому научному сообществу получить полное представление о потенциальной ценности церебролизина при остром ишемическом инсульте. По-

тенциальная польза нейропротекции для клинических исходов при остром ишемическом инсульте не должна быть переоценена.

### Значение для практики

Единственное рандомизированное контролируемое исследование, в котором оценивали церебролизин для лечения острого ишемического инсульта, не соответствовало требованиям, позволяющим оценить эффективность по клиническим исходам и, таким образом, не поддерживало потенциальную клиническую пользу от такого вмешательства. Использование церебролизина не подтверждено надежными доказательствами. На основании данных этого исследования рутинное введение церебролизина пациентам с острым ишемическим инсультом не рекомендовано до тех пор, пока его эффекты не будут проверены в масштабных рандомизированных контролируемых исследованиях.

### Значение для исследований

Будущие испытания, если таковые будут проводиться, должны быть сосредоточены на правильно спланированных рандомизированных контролируемых исследованиях с тем, чтобы оценить потенциальную пользу препарата при остром ишемическом инсульте. Исследователи должны обеспечить использование прагматичных клинических исходов, включающих, как минимум, раннюю смерть, зависимость, смерть от всех причин и неблагоприятные события. Исследователи должны представлять подробное описание любой базисной или рутинной (стандартной) терапии, используемой одновременно

с церебролизин. Терапия должна быть одинаковой как в основной, так и в контрольной группе. Исследования должны быть представлены полностью и соответствовать Консолидированным стандартам отчетности по исследованиям (CONSORT) [74].

*Обзор был создан при поддержке кохрейновской группы по инсультам (the Cochrane Stroke Group).*

*Статья базируется на кохрейновском обзоре, опубликованном: the Cochrane Library 2010, Issue 4 (see www.thecochranelibrary.com). Кохрейновские обзоры регулярно обновляются по мере появления новых доказательств и в ответ на обратную связь. Следует обращаться к кохрейновской базе данных для получения последней информации. Разрешение для перевода и публикации получено от John Wiley & Sons Ltd. от имени кохрейновского сотрудничества.*

**Редакторская группа:** кохрейновская группа по инсультам.

**Статус публикации и даты:** новая публикация, опубликовано в выпуске 4, 2010; Review content assessed as up-to-date: 7 January 2010. Ziganshina LE., Abakumova TR. and Kuchaeva AV. Cerebrolysin for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2010; (4), [Art. No.: CD007026. DOI: 10.1002/14651858.CD007026.pub2].

*Авторы благодарят А.В. Кучаеву за посильное участие в поиске русскоязычных исследований.*

### Вклад авторов в работу:

Л.Е. Зиганшина разработала протокол и написала текст обзора. Т.Р. Абакумова участвовала в поиске исследований на русском языке, переводе кохрейновского систематического обзора на русский язык.

## ЛИТЕРАТУРА

1. AHA. American Heart Association. Heart and Stroke Disease Statistics. 2007; <http://www.xmarks.com/site/www.americanheart.org/presenter.jhtml%3Fidentifier=3003499>.
2. Bonita R. Epidemiology of stroke. *Lancet*. 1992; 339: 342–344.
3. Bonita R., Stewart A., Beaglehole R. International trends in stroke mortality: 1970–1985. *Stroke*. 1990; 21: 989–992.
4. French B., Forster A., Langhorne P. et al. Repetitive task training for improving functional ability after stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2006; (3).
5. World Health Organization. The Atlas of Heart Disease and Stroke. 2007; [http://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/resources/atlas/en/](http://www.who.int/cardiovascular_diseases/resources/atlas/en/)
6. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Stakhovskaia L.V. Epidemiology of stroke in Russia. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii Imeni S.S. Korsakova*. 2003; 8: 4–9.
7. Vilenskii B.S., Iakhno N.N. The problem of cerebral stroke: Its contemporary state. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk*. 2006; 9–10: 18–24.
8. Sandercock P.A.G., Counsell C., Gubitz G.J., Tseng M.C. Antiplatelet therapy for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2008; (3).
9. Wardlaw J.M., Murray V., Berge E., Zoppo G.J. et al. Thrombolysis for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2009; (4).
10. Mielke M., Wardlaw J., Liu M. Thrombolysis (different doses, routes of administration and agents) for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2004; (4).
11. Righetti E., Celani M.G., Cantisani T. et al. Glycerol for acute stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2004; (2).
12. Liu M., Counsell C., Zhao X.L., Wardlaw J. Fibrinogen depleting agents for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2003; (3).
13. Tirilazad International Steering Committee. Tirilazad for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2001; (4).
14. Gandolfo C., Sandercock P., Conti M. Lubeluzole for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2002; (1).
15. Horn J., Limburg M. Calcium antagonists for acute ischemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2000; (1).
16. Asplund K. Haemodilution for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2002; (4).
17. Muir K.W., Lees K.R. Excitatory amino acid antagonists for acute stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2003; (3).
18. Gubitz G., Sandercock P., Counsell C. Anticoagulants for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2004; (3).
19. Berge E., Sandercock P. Anticoagulants versus antiplatelet agents for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2002; (4).
20. Ricci S., Celani M.G., Cantisani A.T., Righetti E. Piracetam for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2006; (2).
21. Shuaib A., Lees K.R., Lyden P. et al. NXY-059 for the treatment of acute ischemic stroke. *N. Engl. J. Med.* 2007; 357 (6): 562–571.
22. Ciccone A., Santilli I. Glycoprotein IIb-IIIa inhibitors for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2006; (4).
23. Zeng X., Liu M., Yang Y. et al. Ginkgo biloba for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2005; (4).
24. Leonardi-Bee J., Steiner T., Bath-Hextall F. Naftidrofuryl for acute stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2007; (2).
25. Sandercock P., Counsell C., Tseng M.C. Low-molecular-weight heparins or heparinoids versus standard unfractionated heparin for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2008; (3).
26. Bath P.M.W., Bath-Hextall F.J. Pentoxifylline, propentofylline and pentifylline for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2004; (3).
27. Bath P.M.W. Theophylline, aminophylline, caffeine and analogues for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2004; (3).
28. Bereczki D., Fekete I., Prado G.F., Liu M. Mannitol for acute stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2 007; (3).

29. Bath P.M.W., Willmot M., Leonardi-Bee J., Bath-Hextall F.J. Nitric oxide donors (nitrates), L-arginine, or nitric oxide synthase inhibitors for acute stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2002; (4).
30. Blood Pressure in Acute Stroke Collaboration (BASC). Vasoactive drugs for acute stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2000; (4).
31. Blood Pressure in Acute Stroke Collaboration (BASC). Interventions for deliberately altering blood pressure in acute stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2001; (3).
32. Bath P.M.W. Prostacyclin and analogues for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2004; (3).
33. Bereczki D., Fekete I. Vinpocetine for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 1997; (4).
34. Qizilbash N., Lewington S.L., Lopez-Arrieta J.M. Corticosteroids for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2002; (3).
35. Candelise L., Ciccone A. Gangliosides for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2001; (4).
36. Alvarez X.A., Lombardi V.R., Corzo L. et al. Oral cerebrolysin enhances brain alpha activity and improves cognitive performance in elderly control subjects. *J. Neur. Transmission.* 2000; 59 (Suppl.): 315–328.
37. Fragoso Y., Dantas D.C. Cerebrolysin for Alzheimer's disease. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2002; (3).
38. Schauer E., Wronski R., Patockova J. et al. Neuroprotection of cerebrolysin in tissue culture models of brain ischemia: Post lesion application indicates a wide therapeutic window. *J. Neur. Transmission.* 2006; 113 (7): 855–868.
39. Riley C., Hutter-Paier B., Windisch M. et al. A peptide preparation protects cells in organotypic brain slices against cell death after glutamate intoxication. *J. Neur. Transmission.* 2006; 113 (1): 103–110.
40. Makarenko A.N., Kositsin N.S., Nazimov I.V. et al. A comparative study of antistroke activity of the new drug «cerebral» and its fractions in rats. *Ekspierimental'naia i Klinicheskaia Farmakologija.* 2005; 68 (2): 15–20.
41. Saproinov N.S., Bul'on V.V., Kuznetsova N.N., Selina E.N. The neuroprotector effect of a new taurine derivative on a model of compression spinal cord trauma in rats. *Ekspierimental'naia i Klinicheskaia Farmakologija.* 2005; 68 (6): 45–48.
42. European Ad Hoc Consensus Group. Neuroprotection as initial therapy in acute stroke, Third report of an Ad Hoc Consensus Group Meeting. *Cerebrovasc. Dis.* 2008; 8: 59–72.
43. Wahlgren N.G., Ahmed N. Neuroprotection in cerebral ischaemia: Facts and fancies — the need for new approaches. *Cerebrovasc. Dis.* 2004; 17 (Suppl. 1): 153–166.
44. Chukanova E.L. The effect of cerebrolysin on the clinical symptoms and the course of ischemic encephalopathy. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii Imeni S.S. Korsakova.* 2005; 105 (1): 42–45.
45. Gromova O.A., Tret'iakov V.E., Moshkovskii S.A. et al. An oligopeptide membrane fraction of cerebrolysin. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii Imeni S.S. Korsakova.* 2006; 106 (7): 68–70.
46. Onishchenko L.S., Gaikova O.N., Ianishevskii S.N. Changes in the focus of experimental ischemic stroke under the influence of neuroprotective drugs. *Morfologija.* 2006; 130 (6): 40–46.
47. Gafurov B.G., Alikulova N.A. Clinical and pathogenetical peculiarities and treatment policy in ischemic stroke of elderly and old age. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii Imeni S.S. Korsakova.* 2004; 104 (Suppl. 11): 44–46.
48. Ladurner G., Kalvach P., Moessler H. The Cerebrolysin Study Group, Neuroprotective treatment with cerebrolysin in patients with acute stroke: A randomised controlled trial. *J. Neur. Transmission.* 2005; 112: 415–428.
49. Skvortsova V.I., Stakhovskaya L.V., Gubsky L.V. et al. A randomised, double-blind, placebo-controlled study of cerebrolysin safety and efficacy in the treatment of acute ischaemic stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii Imeni S.S. Korsakova.* 2004; 0 (11): 51–55.
50. Wong G.K., Zhu X.L., Poon W.S. Beneficial effect of cerebrolysin on moderate and severe head injury patients: Result of a cohort study. *Acta Neurochirurgica Supplement.* 2005; 95: 59–60.
51. Review Manager (RevMan) [Computer program]. The Nordic Cochrane Centre. *The Cochrane Collaboration, Copenhagen.* 2008. Version 5.0.
52. Cuparnecu B. Efficacy of cerebrolysin in patients with ischaemic stroke of the middle cerebral artery. *Pharmacol. Toxicol.* 2001; 89 (Suppl. 1): 136.
53. Haffner Z. Cerebrolysin in acute ischemic stroke. *Stroke Trials Directory. Internet Stroke Center.* 2001; www.strokecenter.org/trials/
54. Haffner Z., Gmeinbauer R., Moessler H. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial with cerebrolysin in acute ischaemic stroke. *Cerebrovasc. Dis.* 2001; 11 (Suppl. 4): 76.
55. Hong Z., Li X.W., Chen Q.T. et al. Re-evaluation of cerebrolysin in treatment of early rehabilitation after ischemic stroke. *Chinese J. New Drugs and Clin. Remed./Zhongguo Xinyao Yu Linchuang Zaz.* 2002; 21 (3): 133–136.
56. Hong Z., Zhu G., Chen H. The clinical efficacy of cerebrolysin in the treatment of acute ischemic stroke. *Chinese J. Geriatric Heart Brain and Vessel Dis.* 2005; 7 (5): 331–333.
57. Jin J.B. Efficacy of treating cerebral apoplexy with xingnaojing compared with cerebrolysin, a report of 96 cases. *Clin. Medicine/Lin chuang yi xue.* 1999; 19 (9): 53–54.
58. Kulchikov A.E., Makarenko A.N. Neuroimmunocorrective activity is a future for neuroprotective agent cerebrolysin. *Int. J. Stroke.* 2008; 3 (Suppl. 1): 324–325.
59. Kulchikov A.E., Makarenko A.N. The use of neuropeptides as neuroimmunocorrection agents in stroke induced viral complications. *Int. J. Stroke.* 2008; 3 (Suppl. 1): 456.
60. Makarenko A.N., Kulchikov A.E. Treatment of infection complications of the acute stroke by cerebrolysin. *Int. J. Stroke.* 2006; 1 (Suppl. 1): 81.
61. Ren J., Qiu Z., Du Z., Fan L. Effect comparison of injection disodium cytidine triphosphate and cerebrolysin in treatment of acute cerebral vascular disease. *China Pharmacist.* 2002; 5 (1): 45–46.
62. Sagatov D.R. Use of emoxepin in the treatment of ischemic stroke in young adult patients. *Int. J. Stroke.* 2008; 3 (Suppl. 1): 123.
63. Shamalov N.A., Stakhovskaya L.V., Gubsky L.V. et al. Effects of the neuroprotective drug cerebrolysin on the infarct volume after acute ischemic stroke. *Cerebrovasc. Dis.* 2005; 19 (Suppl. 2): 107.
64. Skvortsova V.I., Stakhovskaya L.V., Gubsky L.V. et al. Randomised, double-blind, placebo-controlled study of cerebrolysin safety and efficacy in the treatment of acute ischaemic stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii Imeni S.S. Korsakova.* 2004; 0 (11): 51–55.
65. Skvortsova V.I., Shamalov N.A., Moessler H., Novak P.H. Beneficial effects of the neurotrophic drug cerebrolysin on the infarct volume after acute stroke. *Cerebrovasc. Dis.* 2008; 25 (Suppl. 2): 145.
66. Skvortsova V.I., Shamalov N.A., Moessler H., Novak P.H. Positive impacts of the neurotrophic drug cerebrolysin on the infarct volume after acute stroke. *Int. J. Stroke.* 2008; 3 (Suppl. 1): 137.
67. Skvortsova V.I., Shamalov N.A., Stakhovskaya L.V. et al. Cerebrolysin in acute ischaemic stroke: Results of randomised, double blind, placebo-controlled study. *Cerebrovasc. Dis.* 2005; 19 (Suppl. 2): 76.
68. Vilensky B.S., Odinak M.M., Shirokov E.A. et al. Experience with endolumbar application of cerebrolysin in hemispheric ischemic stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii Imeni S.S. Korsakova.* 2000; 100 (11): 31–34.
69. Vilensky B., Vinogradov O., Kuznetsov A. et al. Favorable influence of repeat cerebrolysin application in stroke patient rehabilitation. *Int. J. Stroke.* 2006; 1 (Suppl. 1): 170.
70. Wang H.T. The analysis of the efficacy of insulin, cerebrolysin, nitrendipine in the treatment of cerebral infarction. *Practical Geriatrics.* 1997; 11: 135–136.
71. Wu X. Urokinase therapy in acute ischemic stroke. Proceedings of the 4th Chinese Stroke Conference. *China. Chengdu.* 1995. P. 149–150.

72. Yavorskaya V.A., Bondar O.B. Clinical features of cerebrolysinum application in patients in acute period of ischemic stroke. *Int. J. Stroke*. 2008; 3 (Suppl. 1): 141.
73. Zhang Q.Y., Xiong J., Wang R. Study on the effectiveness of cerebrolysin in 27 patients with cerebral infarction. *Chinese J. Pharmacoepidemiology*. 1994; 3 (4): 181–182.
74. Moher D., Schulz K.F., Altman D.G. The CONSORT statement: Revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomised trials. *Lancet*. 2001; 357: 1191–1194.
75. Ziganshina L.E., Abakumova T., Kuchaeva A. Cerebrolysin for acute ischaemic stroke. *Cochr. Database of Syst. Rev.* 2010; (4).
76. Shi Y.-M. Cerebrolysin in acute cerebral hemorrhage. *Chinese J. Nerv. Ment. Dis.* 1990; 16 (4): 228–230.
77. Zhang S.H., Lu X.M. Nursing care of the patient with cerebral infarction and aphasia receiving carotid internal drug injection and early speech training. *J. Nurs. Sci.* 1997; 12 (1): 34–35.
78. Zhu G.-X., Hong Z., Yao J.-L., Yu L.-Y. Double-blind and randomised placebo-controlled trial of cerebrolysin in improvement of nerve function and living ability in patients with ischemic stroke. *Chinese J. Clin. Rehabil.* 2003; 7 (22): 3084–3085.
79. Ladurner G., Gmeinbauer R., Moessler H. Cerebrolysin in acute ischaemic stroke: A randomized, placebo-controlled trial with a neuroprotective agent. *Cerebrovasc. Dis.* 2001; 11: 75.
80. Ladurner G. Neuroprotection in acute ischaemic stroke. *Stroke*. 2001; 32: 323.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Зиганшина Лилия Евгеньевна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фундаментальной и клинической фармакологии ФГАОУ ВПО «К(П)ФУ»

**Адрес:** 420008, Казань, ул. Кремлевская, д. 18; **тел.:** (843) 233-73-07; **e-mail:** lezign@gmail.com

**Абакумова Татьяна Рудольфовна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры фундаментальной и клинической фармакологии ФГАОУ ВПО «К(П)ФУ»

**Адрес:** 420008, Казань, ул. Кремлевская, д. 18; **тел.:** (843) 233-73-07; **e-mail:** abakumovatarud@mail.ru

А.А. Скрипников, Т.И. Долганова, А.М. Аранович

Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова,  
Курган, Российская Федерация

## Особенности функционального состояния церебральных структур у подростков с ахондроплазией

С целью выявления особенностей функционального состояния церебральных структур у подростков с ахондроплазией проведено комплексное нейрофизиологическое (рео-, электроэнцефалография) обследование 12 подростков в возрасте от 12 до 18 лет. Обнаружен ряд отклонений от нормы: сниженное кровенаполнение сосудов головного мозга в бассейне *a. carotis interna* и *a. vertebralis*, реоэнцефалографические признаки внутричерепной гипертензии легкой степени. Ритмика головного мозга характеризовалась умеренным/значительным увеличением амплитуды, представленности патологических видов ( $\delta$ -,  $\theta$ -) ритмики и снижением физиологических ( $\alpha$ -,  $\beta$ -). Кроме того, отмечены особенности реагирования реоэнцефалографических показателей при функциональных пробах (гиперкапния, гипероксия). Ритмика мозга в условиях проведения проб отличалась от нормативов более слабым реагированием на нагрузку, преимущественно в  $\alpha$ - и  $\beta$ -диапазонах.

**Ключевые слова:** реоэнцефалография, электроэнцефалография, ахондроплазия.

30

### Введение

Известно, что у больных ахондроплазией наблюдаются динамические изменения церебральной морфометрии, характеризующиеся ростральным смещением стволовых структур с постепенной компрессией лобных долей [1]. При этом наблюдаемая в 60% случаев макроцефалия практически всегда сопровождается гидроцефалией [2]. У пациентов с данной патологией имеет место укорочение основания черепа, уменьшение затылочного отверстия, сужение позвоночного канала на уровне верхних шейных позвонков, которое нередко сочетается с внутричерепной гипертензией и дыхательной недостаточностью центрального генеза [3–5]. Краниоцервикальное сужение сопровождается цервикомедулярной компрессией [6]. Все это служит причиной развития неврологических нарушений различной степени выраженности, для адекватной коррекции которых необходимо владеть инфор-

мацией о характере и степени интенсивности изменений функционального статуса церебральных структур.

Цель исследования: установить особенности функционального состояния церебральных структур у подростков с ахондроплазией.

### Пациенты и методы

#### Участники исследования

Комплексное нейрофизиологическое обследование было проведено у 12 подростков с ахондроплазией в возрасте от 12 до 18 лет (средний возраст  $15,8 \pm 0,6$  лет).

#### Методы исследования

Анализ функциональных изменений в системе мозговой гемодинамики выполняли при помощи метода реоэнцефалографии (РЭГ) с использованием аппарата «МБН-реокартограф» (НМФ «МБН», Россия).

A.A. Skripnikov, T.I. Dolganova, A.M. Aranovich

Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russian Federation

## Peculiarities of cerebral structures functioning in adolescents with achondroplasia

Complex neurophysiological examination (rheoencephalography, electroencephalography) was carried out in 12 adolescents 12 to 18 years old in order to reveal the peculiarities of cerebral structures functioning in adolescents with achondroplasia. Some deviations from the normal values were found out: reduced blood filling of the brain vessels in the pools of *a. carotis interna* and *a. vertebralis*, rheoencephalographic signs of intracranial hypertension of mild degree and brain cycling characterized by moderate and significant amplitude increase, presence of pathological types ( $\delta$ -,  $\theta$ -) of the rhythmic and the reduction of the physiological ones ( $\alpha$ -,  $\beta$ -). At the same time the peculiarities of rheoencephalographic indices were observed while functional testings (hypercapnia, hyperoxia). Brain cycling differed from normal values by weaker response to the weight-bearing, mainly in  $\alpha$ - and  $\beta$ -ranges.

**Key words:** rheoencephalography, electroencephalography, achondroplasia.

Исследование проводили по стандартной схеме [7]. Оценивали комплекс количественных характеристик, зарегистрированных по фронто-мастоидальным, окципито-мастоидальным отведениям слева и справа с оценкой церебральной гемодинамики в бассейне *a. carotis interna*, *a. vertebralis*, соответственно. Принимали во внимание следующие показатели: реографический показатель (РП), отражающий степень кровенаполнения артериального русла; максимальную скорость периода быстрого ( $V_6$ , Ом/с) и среднюю скорость периода медленного ( $V_m$ , Ом/с) наполнения — основные показатели, используемые для оценки тонуса на уровне артерий распределения и артерий сопротивления, соответственно; межамплитудный показатель инцизуры ( $M_{ki}$ , %) и систолической волны ( $M_{kc}$ , %), характеризующие эластичность крупных и мелких артерий, соответственно; межамплитудный показатель диастолической волны ( $M_{kd}$ , %), косвенно характеризующий венозный отток.

Функциональное состояние церебральных структур оценивали посредством электроэнцефалографии (ЭЭГ) с использованием цифрового 16-канального аппаратно-программного комплекса «Pegasus» (EMS, Австрия). Количественный анализ фоновых ЭЭГ-записей проводили с расчетом абсолютной (АМ, мкВ<sup>2</sup>) и относительной (ОМ, %) мощности — параметров, характеризующих амплитуду колебаний и активность определенного частотного диапазона в структуре всех видов ритмики, соответственно.

Для оценки степени реагирования на функциональные нагрузки — проба с задержкой дыхания на выдохе (гиперкапния), проба с гипервентиляцией (гипероксия) — осуществляли синхронную запись РЭГ и ЭЭГ на аппарате «Реан-Поли» (Медиком МТД, Россия). Регистрация РЭГ велась по вышеуказанной схеме с анализом РП, показателя «модуль упругости» (МУ, %), характеризующего эластично-тонические свойства артерий распределения; дикротического индекса (ДКИ, %), отражающего тонус прекапиллярных сосудов (артериол), и диастолического индекса (ДСИ, %), характеризующего состояние посткапиллярных сосудов (венул). ЭЭГ регистрировали по 4 отведениям: F3–T5, F4–T6, C3–O1, C4–O2 с анализом АМ и ОМ.

Определение степени тяжести нарушений рассматриваемых электрофизиологических параметров проводилось на тех же диагностических установках, с использованием критериев нормы, полученных при обследовании 10 с неврологической точки зрения здоровых лиц, сопоставимых по возрасту и полу с исследуемой выборкой больных (контрольная группа).

### Статистическая обработка данных

Для оценки достоверности различий показателей сопоставляемых выборок использовался пакет методов статистики «AtteStat» с привлечением непараметрических W- и T-критериев Вилкоксона. Данные представлены

в виде средней величины (M) и ее ошибки (m). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Было установлено, что значения РП в бассейне *a. carotis interna* (отведения FMs, FMd) были достоверно ( $p < 0,05$ ) снижены (на 8–20%), что соответствует легкой и умеренной степени снижения (табл.). У всех пациентов отмечена межполушарная асимметрия кровенаполнения в данном сосудистом бассейне умеренной степени выраженности (20–50%). Кровенаполнение в бассейне *a. vertebralis* (отведения OMs, OMd) было значительно снижено ( $p < 0,05$ ) (в среднем на 20–30%), с умеренной степенью выраженности межполушарной асимметрии (20–50%). Коэффициент переднезаднего соотношения амплитуд систолической волны в отведениях FM и MO был увеличен до 1,7 отн.ед., что свидетельствует о дефиците кровотока в бассейне *a. vertebralis*.

При оценке показателя  $V_6$  (максимальная скорость периода быстрого наполнения), характеризующего упруго-эластические свойства магистральных артерий в бассейне *a. carotis interna* и *a. vertebralis*, отклонений от нормативных значений отмечено не было, но степень асимметричности тонуса составила от 15 до 20% (умеренная выраженность).

Обнаружено снижение (на 5–10%) показателя  $V_m$  (средняя скорость периода медленного наполнения) в бассейне *a. carotis interna*, что является признаком незначительно повышенного тонуса прекапиллярных сосудов (артериол). В бассейне *a. vertebralis* зафиксировано повышение на 5–10% показателя  $V_m$ , что свидетельствует о тенденции к снижению тонуса прекапиллярных сосудов.

При анализе расчетного показателя  $M_{kd}$  только у 3 пациентов (25%) в состоянии функционального покоя были зарегистрированы признаки затруднения венозного оттока. При проведении функциональных проб (наклоны головы, повороты головы) у всех обследуемых отмечено умеренное вертеброгенное влияние на артериальную и венозную компоненту реограммы в бассейне *a. carotis interna* и *a. vertebralis* с признаками нарастания затруднения венозного оттока.

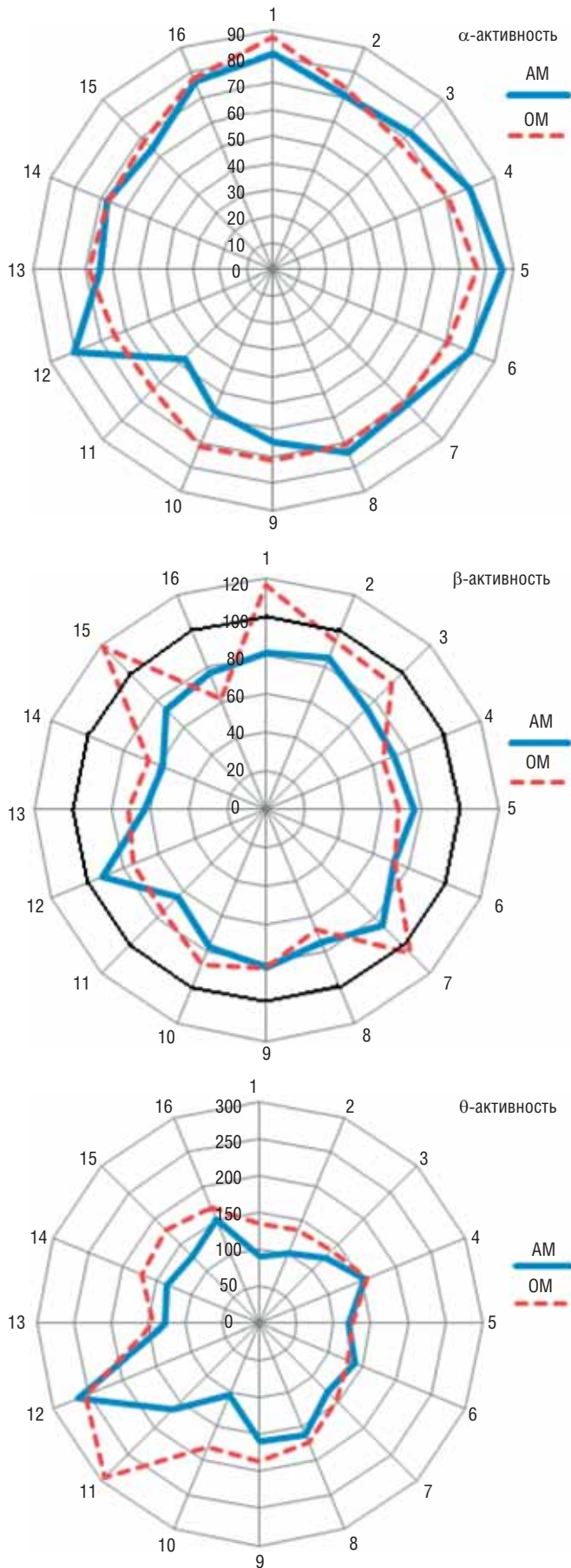
Анализ расчетного показателя внутричерепного давления (ВЧД) в 5 из 12 случаев (41,6%) продемонстрировал повышение значений с градацией «легкая степень внутричерепной гипертензии» (200,0–250,0 усл.ед., в среднем  $219 \pm 11$  усл.ед.) при верхней границе нормы 199,0 усл.ед.

При оценке данных ЭЭГ было показано, что усредненные амплитудные показатели медленноволновой активности ( $\delta$ -активности) составили в среднем  $92,9 \pm 11,0$  мкВ<sup>2</sup> при норме  $78,2 \pm 6,9$  мкВ<sup>2</sup>. В частности, по 7 (из 10) отведениям АМ была выше (в 2 отведениях достоверно;  $p < 0,05$ ) контрольных величин в среднем

Таблица. Значения реоэнцефалографических показателей у подростков с ахондроплазией

Показатель	A. carotis			A. vertebralis		
	Левая	Правая	Норма	Левая	Правая	Норма
Реографический показатель	0,38±0,06*	0,34±0,04*	0,41–0,49	0,22±0,04*	0,21±0,03*	0,29–0,39
$V_6$ , Ом/с	2,08±0,31	1,84±0,21	1,65–2,17	1,38±0,25	1,23±0,21	1,04–1,34
$V_m$ , Ом/с	1,18±0,20	1,04±0,14	1,12–1,37	0,81±0,16	0,75±0,13	0,58–0,75
MKd, %	56,87±3,34	50,13±3,29	45,00–64,00	67,61±6,36	60,56±5,26	45,00–64,00

Примечание. \* Значения достоверно ( $p < 0,05$ ) отличаются от нормативных величин. Значения представлены в виде  $M \pm m$ , где M — средняя величина, m — ошибка средней.



**Рис.** Интегральная оценка профильным методом биоэлектрической активности головного мозга подростков с ахондроплазией. *Примечание.* 100% — нормативные значения, полученные при обследовании контрольной группы. АМ — абсолютная мощность, ОМ — относительная мощность.

на  $28,6 \pm 9,2\%$  и была максимально выражена по затылочным отведениям (превышение нормы до  $75,8\%$ ). В оставшихся 3 отведениях значения не превышали нормативного уровня. Межполушарная асимметрия по АМ составила в среднем  $7,0\%$ . Необходимо отметить, что количественные характеристики  $\delta$ -активности не оценивали по лобным, лобно-полюсным и передневисочным отведениям, поскольку не было уверенности в полном исключении окулографических артефактов. ОМ  $\delta$ -активности составила  $26,5 \pm 1,0\%$  при норме  $17,5 \pm 1,8$ , т.е. по всем проанализированным отведениям была повышена (в 5 отведениях достоверно;  $p < 0,05$ ) в среднем на  $64,5 \pm 15,7\%$  (максимум зафиксирован в затылочных отведениях — превышение нормы больше чем в 2 раза). Коэффициент межполушарной асимметрии составил в среднем  $5,9\%$ .

Амплитудные показатели  $\theta$ -активности (рис.), зарегистрированные по всем 16 отведениям, составили в среднем  $82,0 \pm 8,9$  мкВ<sup>2</sup> при норме  $57,5 \pm 3,8$  мкВ<sup>2</sup>. АМ данного частотного диапазона в 15 отведениях превышала (в 5 отведениях  $p < 0,05$ ) норму в среднем на  $44,6 \pm 10,0\%$ . Максимальная выраженность  $\theta$ -активности зафиксирована в правом затылочном отведении: превышение нормы более чем в 2 раза. Коэффициент межполушарной асимметрии зарегистрирован на уровне  $10,9\%$ . Представленность медленных волн данного частотного диапазона составила  $24,2 \pm 0,7\%$  при норме  $15,2 \pm 1,0\%$ . Таким образом, превышение нормативов по всем отведениям ( $p < 0,05$ ) составило в среднем  $69,7 \pm 11,4\%$ , достигая максимума в затылочных отведениях (выше нормы почти в 3 раза). Межполушарной асимметрии по данной характеристике отмечено не было.

АМ физиологической ритмики  $\alpha$ -диапазона была снижена во всех отведениях в среднем на  $28,9 \pm 2,5\%$ . Абсолютные значения зарегистрированы на уровне  $169,0 \pm 33,8$  мкВ<sup>2</sup> при нормативном уровне  $258,6 \pm 59,9$  мкВ<sup>2</sup>. Снижение показателя достигало  $53,2\%$  (левое затылочное отведение). Межполушарная асимметрия по данному показателю составила  $8,6\%$ . Индекс  $\alpha$ -ритма зафиксирован в среднем  $35,3 \pm 2,6\%$  при норме  $50,2 \pm 4,1\%$ . Таким образом, ОМ ритмики данного частотного диапазона была снижена (13 отведений;  $p < 0,05$ ) во всех отведениях в среднем на  $28,8 \pm 1,4\%$ , причем равномерно в обоих полушариях. Наиболее значительно  $\alpha$ -ритмика страдала в затылочных отведениях: снижение на  $36,7\%$  (О1) и  $36,0\%$  (О2).

В отношении активности  $\beta$ -диапазона было выявлено снижение амплитудных характеристик во всех отведениях в среднем на  $24,2 \pm 2,4\%$  (2 отведения;  $p < 0,05$ ). Так, АМ зарегистрирована на уровне  $24,0 \pm 2,2$  мкВ<sup>2</sup> при нормативных значениях  $31,5 \pm 2,7$  мкВ<sup>2</sup>. Снижение было одинаково выражено в обоих полушариях и достигало максимальных значений по средневисочным отведениям:  $37,4\%$  (Т3) и  $41,9\%$  (Т4). Значения ОМ в такой же степени отличались от нормы: по 13 отведениям значения были снижены в среднем на  $24,7 \pm 2,9\%$  (7 отведений;  $p < 0,05$ ). Абсолютные значения были зафиксированы на уровне  $7,6 \pm 0,4\%$  при норме  $9,4 \pm 0,4\%$ . Максимальное снижение ОМ отмечено по правому задневисочному отведению — на  $38,2\%$ . Средний уровень межполушарной асимметрии зарегистрирован на уровне  $17,9\%$ .

Данные особенности ритмической активности головного мозга больных ахондроплазией соответствуют визуально выявляемой общемозговой ЭЭГ-симптоматике, связанной, по-видимому, с имеющими место у данных больных явлениями гидроцефалии и внутричерепной гипертензии.



При анализе РЭГ-данных, полученных при проведении функциональных нагрузочных проб, динамика изменений показателя РП в бассейне *a. carotis interna* и *a. vertebralis* у больных ахондроплазией имела односторонний с нормой характер и выражалась в снижении пульсового кровенаполнения. В частности, по отведению ФМ слева РП снизился на 16,1% ( $0,47 \pm 0,1$  при исходном уровне  $0,56 \pm 0,1$ ), а справа — на 17,9% ( $0,46 \pm 0,1$  и  $0,56 \pm 0,1$ , соответственно). По отведениям ОМ данный показатель снизился, соответственно, на 26,3% ( $РП = 0,28 \pm 0,0$  при исходном уровне  $0,38 \pm 0,1$ ) и на 21,1% ( $0,30 \pm 0,1$  и  $0,38 \pm 0,1$ ). У здоровых лиц в отведениях ФМ показатель стал ниже в среднем на 24,5% ( $p < 0,05$ ), а в отведениях ОМ — на 19,1% ( $p < 0,05$ ). Тонус артерий распределения, оцениваемый по показателю МУ, при проведении данной пробы существенно не изменился, аналогично группе контроля. Тонус артерий сопротивления снизился: значения ДКИ по отведению ФМ слева увеличились с  $58,7 \pm 7,0$  до  $67,0 \pm 17,1\%$ , т.е. на 14,1%, а по отведению ФМ справа — с  $58,7 \pm 5,8$  до  $64,3 \pm 13,5\%$  (на 9,5%). В бассейне *a. vertebralis* (отведения ОМ) существенной динамики данного показателя не отмечено. У здоровых лиц, напротив, при проведении пробы с гиперкапнией отмечено снижение значений ДКИ (т.е. возрастание тонуса) в отведениях ФМ в среднем на 10,6% ( $p < 0,05$ ), а в ОМ — на 25,8%. Состояние венозного оттока, оцениваемое по значениям критерия ДСИ, во время проведения пробы у лиц с ахондроплазией существенно не изменилось, так же, как и у здоровых лиц.

При проведении функциональной нагрузочной пробы с гипероксией отмечено, что объемное кровенаполнение в бассейне *a. carotis interna* существенно не изменилось (что соответствует норме), а в бассейне *a. vertebralis* слева и справа в равной степени возросло на 13,2% (РП в фоновой записи  $0,38 \pm 0,1$ , при проведении пробы —  $0,43 \pm 0,1$ ), в то время как в группе контроля РП снизился в среднем на 10,6%.

Тонус артерий распределения при проведении данной пробы не изменился ни в группе обследованных, ни в контрольной группе. Тонус артерий сопротивления возрос: значения ДКИ по отведению ФМ слева снизились ( $p < 0,05$ ) с  $58,7 \pm 7,0$  до  $41,7 \pm 4,6\%$ , т.е. на 29,0%, а по отведению ФМ справа — с  $58,7 \pm 5,8$  до  $39,3 \pm 4,3\%$  (на 33,0%;  $p < 0,05$ ). Аналогичная реакция, зафиксированная у здоровых подростков, была выражена незначительно: ДКИ снизился в среднем лишь на 6,7%. В бассейне *a. vertebralis* (отведения ОМ) отмечена аналогичная ситуация: слева — уменьшение показателя на 10,5% (исходный уровень ДКИ  $54,5 \pm 8,2\%$ , на фоне гипервентиляции —  $48,8 \pm 5,8\%$ ), справа — на 22,1% ( $55,2 \pm 5,8$  и  $43,0 \pm 5,4\%$ , соответственно). В контрольной группе существенных изменений показателя зафиксировано не было. Также у лиц с ахондроплазией отмечено наличие значительного снижения ( $p < 0,05$  во всех случаях) значений ДСИ: слева — на 20,8 (ФМ) и 16,2% (ОМ), справа — на 20,3 и 19,4%, соответственно. Значения анализируемого показателя составили в данном случае во фронтно-мастоидальных отведениях исходно  $59,1 \pm 3,5\%$ , при проведении пробы —  $46,8 \pm 2,8\%$  (слева) и  $59,7 \pm 3,0$ ,  $47,6 \pm 2,8\%$  (справа), соответственно. В окципито-мастоидальных отведениях получены следующие цифры: слева —  $66,5 \pm 3,8$  (фон) и  $55,7 \pm 3,4\%$  (гипервентиляция), справа —  $67,7 \pm 3,1$  и  $54,6 \pm 3,7\%$ , соответственно. В контрольной группе показатель ДСИ при гипервентиляции остался на прежнем уровне.

У здоровых лиц разброс максимальных значений РП при функциональных пробах составил 15–25% от значе-

ний фона, а у больных не превышал 5%, что интерпретируется как снижение вазомоторной реактивности сосудов в бассейне *a. carotis interna*.

При проведении нагрузочной пробы с гиперкапнией представленность  $\alpha$ -ритма (усредненное по 4 отведениям значение ОМ) снизилось по всем анализируемым отведениям с уровня  $39,3 \pm 0,9$  до  $28,3 \pm 1,0\%$ , т.е. на 28,0%. Амплитуда (АМ) также снизилась по всем отведениям ( $p < 0,05$  по F4–T6) на 34,8%: с  $151,1 \pm 12,4$  до  $98,5 \pm 6,2$  мкВ<sup>2</sup>. Необходимо отметить, что в группе контроля данные тенденции были выражены значительно: ОМ снизилась в среднем на 52,3% ( $p < 0,05$ ), а АМ — на 72,9% ( $p < 0,05$ ). Индекс  $\beta$ -ритма не изменился, в то время как у здоровых лиц он возрос ( $p < 0,05$ ) в среднем на 40,1%, а амплитуда данной ритмики у лиц с ахондроплазией снизилась ( $p < 0,05$  по F4–T6) в среднем на 30,9% ( $19,4 \pm 0,5\%$  — исходный уровень,  $13,4 \pm 1,6\%$  — во время пробы), в группе контроля отмечено возрастание АМ на 8,9%. Степень присутствия (ОМ) патологической ритмики  $\delta$ -диапазона возросла ( $p < 0,05$  по F3–T5) в среднем на 23,9% (с  $31,4 \pm 1,8$  до  $38,9 \pm 3,0\%$ ) при падении ( $p < 0,05$  по C4–O2) амплитуды (АМ) на 21,7% (с  $37,4 \pm 3,3$  до  $29,3 \pm 3,6$  мкВ<sup>2</sup>), что соответствует нормативным данным. Характеристики  $\theta$ -активности во всех случаях снижались (аналогично здоровым лицам): индекс — на 14% (с  $17,2 \pm 0,6$  до  $14,8 \pm 0,4\%$ ), амплитуда — на 33,9% (с  $49,3 \pm 0,7$  до  $32,6 \pm 0,6$  мкВ<sup>2</sup>;  $p < 0,05$  по C4–O2).

На фоне гипероксии отмечено снижение значений ОМ и АМ  $\alpha$ -ритма во всех анализируемых отведениях. В первом случае показатель снизился ( $p < 0,05$ ) в среднем на 32,8% (до уровня  $26,4 \pm 1,0\%$ ), что соответствует норме, во втором — на 32,2% (до  $102,5 \pm 9,1$  мкВ<sup>2</sup>;  $p < 0,05$  в 2 отведениях), в то время как в группе контроля амплитуда снизилась ( $p < 0,05$ ) на 75,4%. Индекс  $\beta$ -ритма несколько возрос: на 12,9% (в норме на 36,8%;  $p < 0,05$ ), а амплитуда снизилась на 29,9% (до уровня  $13,6 \pm 0,4$  мкВ<sup>2</sup>;  $p < 0,05$  по C4–O2), что соответствует нормативам. В отношении активности  $\delta$ -диапазона отмечено нарастание обоих анализируемых параметров: значения ОМ увеличились ( $p < 0,05$  в 3 отведениях) до отметки  $44,4 \pm 1,2\%$  (на 41,4%), что интенсивнее, чем в группе контроля (19,8%), а АМ — до уровня  $41,0 \pm 2,2$  мкВ<sup>2</sup> (на 9,6%), в то время как у здоровых лиц отмечено снижение ( $p < 0,05$ ) АМ в среднем на 39,5%. Индекс  $\theta$ -активности не изменился, что соответствует норме, а амплитудная характеристика несколько снизилась: до  $42,0 \pm 3,4$  мкВ<sup>2</sup> (на 14,8%), тогда как в контрольной группе отмечено снижение ( $p < 0,05$ ) на 61,1%. Таким образом, на фоне проведения нагрузочных проб на ЭЭГ отмечено развитие явлений десинхронизации при нарастании представленности медленноволновой  $\delta$ -активности.

### Заключение

У больных ахондроплазией кровенаполнение сосудов головного мозга снижено ( $p < 0,05$ ) в обоих сосудистых бассейнах с преобладающим дефицитом кровотока в бассейне *a. vertebralis*, и в 41,6% наблюдений выявлены признаки внутричерепной гипертензии легкой степени.

Ритмика головного мозга характеризовалась достоверным ( $p < 0,05$ ) умеренным увеличением амплитуды и значительным увеличением представленности медленноволновой активности с преобладанием выраженности ритмики  $\theta$ -диапазона. Умеренные нарушения ( $p < 0,05$ ) физиологической активности ( $\alpha$ -,  $\beta$ -) были одинаково

выражены в обоих частотных диапазонах: страдала как амплитуда, так и индекс ритмики.

На фоне проведения нагрузочных проб отмечено развитие на ЭЭГ явлений десинхронизации при нарастании

медленноволновой  $\delta$ -активности. Снижение вазомоторной реактивности сосудов в бассейне *a. carotis interna* у больных ахондроплазией сочеталось с более слабым ( $p < 0,05$ ) реагированием на нагрузку в  $\alpha$ - и  $\beta$ -диапазонах.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. DiMario F.J. Jr., Ramsby G.R., Burlison J.A., Greensheilds I.R. Brain morphometric analysis in achondroplasia. *Neurology*. 1995; 45 (3): 519–524.
2. Pierre-Kahn A., Hirsch J.F., Renier D., Metzger J., Maroteaux P. Hydrocephalus and achondroplasia. A study of 25 observation. *Childs Brain*. 1980; 7 (4): 205–219.
3. Aryanpur J., Hurco O., Francomano C., Wang H., Carson B. Cranio-cervical decompression for cervicomedullary compression in pediatric patients with achondroplasia. *Neurosurg*. 1990; 73 (3): 375–382.
4. Gordon N. The neurological complication of achondroplasia. *Brain Dev*. 2000; 22 (1): 3–7.
5. Thompson N.M., Hecht J.T., Bohan T.P., Kramer L.A., Davidson K., Brandt M.E., Fletcher J.M. Neuroanatomic and neurophysiological outcom in scholl-age children with achondroplasia. *Am. J. Med. Genet*. 1999; 88 (2): 145–153.
6. Ruis-García M., Tovar-Baudin A., Del Castilio-Ruis V., Rodriguez H.P., Collado M.A., Mora T.M., Rueda-Franco F., Gonzalez-Astiazaran A. Early detection of neurological manifestation in achondroplasia. *Childs Nerv. Syst*. 1997; 13 (4): 208–213.
7. Иванов Л.Б., Макаров В.А. Лекции по клинической реографии. М.: АОЗТ «Антудор». 2000. 320 с.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Скрипников Александр Анатольевич**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории физиологии движений и нейрофизиологии ФГУ «РНЦ «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова МЗ РФ

**Адрес:** 640014, Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6

**Тел.:** (3522) 23-04-81

**E-mail:** skripnikov2007@mail.ru

**Долганова Тамара Игоревна**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональных исследований ФГУ «РНЦ «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова МЗ РФ

**Адрес:** 640014, Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6

**Тел.:** (3522) 45-27-36, 45-42-86

**E-mail:** rjik532007@rambler.ru

**Аранович Анна Майоровна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая травматолого-ортопедическим отделением № 15 ФГУ «РНЦ «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова МЗ РФ

**Адрес:** 640014, Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6

**Тел.:** (3522) 45-03-39

**E-mail:** office@ilizarov.ru

Ю.Е. Шилов, М.В. Безруков

Научный центр психического здоровья РАМН, Москва, Российская Федерация

## Кинуренины в патогенезе эндогенных психических заболеваний

*Незаменимая аминокислота триптофан метаболизируется по метоксииндольному пути до серотонина, мелатонина и 5-гидроксииндоуксусной кислоты и по кинурениновому пути с образованием кинуренина и его нейроактивных метаболитов, таких как 3-гидроксикинуренин, кинуреновая, хинолиновая и ксантуруеновая кислота. Кинуренин и его метаболиты играют важную роль в патогенезе депрессивных расстройств и шизофрении. В обзоре приведены литературные данные по современному состоянию этой проблемы.*

**Ключевые слова:** депрессия, шизофрения, метаболизм триптофана, кинуренин, кинуреновая кислота, ксантуруеновая кислота, хинолиновая кислота.

### Метаболизм триптофана в норме

Триптофан — одна из незаменимых аминокислот, которая поступает в организм человека с пищей. За счет наличия индольного остатка триптофан является гидрофобной аминокислотой, легко окисляющейся в кислых условиях. Содержание триптофана в плазме крови в норме составляет 45–60 мкмоль/л [1]. Показано, что 50–80% триптофана в крови нековалентно связано с альбумином [2].

В мозге и на периферии распад триптофана осуществляется по 2 путям: через метоксииндольный путь, который ведет к образованию серотонина и мелатонина [1], и через кинурениновый, который начинается с окислительного разрушения индольного кольца триптофана под действием фермента триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO) (в печени) или индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) с участием супероксидного радикала в качестве кофактора (в почках, легких, кишечнике, селезенке, мозге, плаценте, эндокринных железах, макрофагах/моноцитах) и приводит к образованию кинуренина [3] и его метаболитов (рис.).

В норме серотонин синтезируется примерно из 1% доступного в организме триптофана. Большая часть серотонина образуется в энтерохромаффинных клетках кишечника и только 10–20% — в мозге, после проникновения триптофана через гематоэнцефалический барьер путем активного транспорта. Биодоступность триптофана для мозга зависит главным образом от конкуренции с другими аминокислотами (такими, как тирозин, валин, лейцин,

изолейцин и фенилаланин) за связывание с белком-переносчиком [4]. Около 99% триптофана, не участвующего в синтезе белков, метаболизируется в печени триптофан-2,3-диоксигеназой (TDO) с образованием кинуренина [5].

Кинуренин (KYN) далее превращается в 3-гидроксикинуренин (3-ОНК) с помощью фермента кинуренин-3-монооксигеназы (КМО). Для активации КМО необходимы как метилентетрагидрофолатредуктаза (NADPH), так и флавиновые кофакторы, хотя данные о связи между дефицитом этих кофакторов и снижением уровня 3-гидроксикинуренина в крови отсутствуют [6]. Далее 3-гидроксикинуренин метаболизируется до 3-гидроксиантраниловой кислоты (3-НАА) под действием фермента кинурениназы. Кинурениназа также катализирует распад кинуренина до аланина и антраниловой кислоты, которая затем может метаболизироваться до 3-НАА. Затем распад идет до полного окисления и формирования АТФ или до хинолиновой кислоты (QUIN), которая в итоге метаболизируется до никотинамидадениндинуклеотида (NAD). Также в малых количествах образуется пиколиновая кислота. Кроме того, кинуренин может метаболизироваться с помощью кинуренинаминотрансфераз I, II, III и IV (КАТ-I, КАТ-II, КАТ-III и КАТ-IV) в кинуреновую кислоту (KYNA) [7, 8].

Поскольку кинуренин проникает через гематоэнцефалический барьер, то он может поступать в мозг с периферии дополнительно к кинуренину, синтезированному в мозге. Показано, что 60% кинуренина в мозге поступает с периферии [9]. Несмотря на то, что некоторые нейроны также экспрессируют индоламин-2,3-диоксигеназу

35

Y.E. Shilov, M.V. Bezrukov

Mental health research center of RAMS, Moscow, Russian Federation

### Kynurenines in pathogenesis of endogenous psychiatric disorders

*The essential amino acid tryptophan is metabolized on the methoxyindole pathway to serotonin, melatonin and 5-hydroxyindoleacetic acid and on the kynurenine pathway to kynurenine and related neuroactive metabolites, including 3-hydroxykynurenine, kynurenic acid, quinolinic acid and xanthurenic acid. Kynurenine and related metabolites play a significant role in the pathogenesis of major depressive disorder and schizophrenia. This paper is the review of literature data on the most modern state of this problem.*

**Key words:** depression, schizophrenia, tryptophan metabolism, kynurenine, kynurenic acid, xanthurenic acid, quinolinic acid.

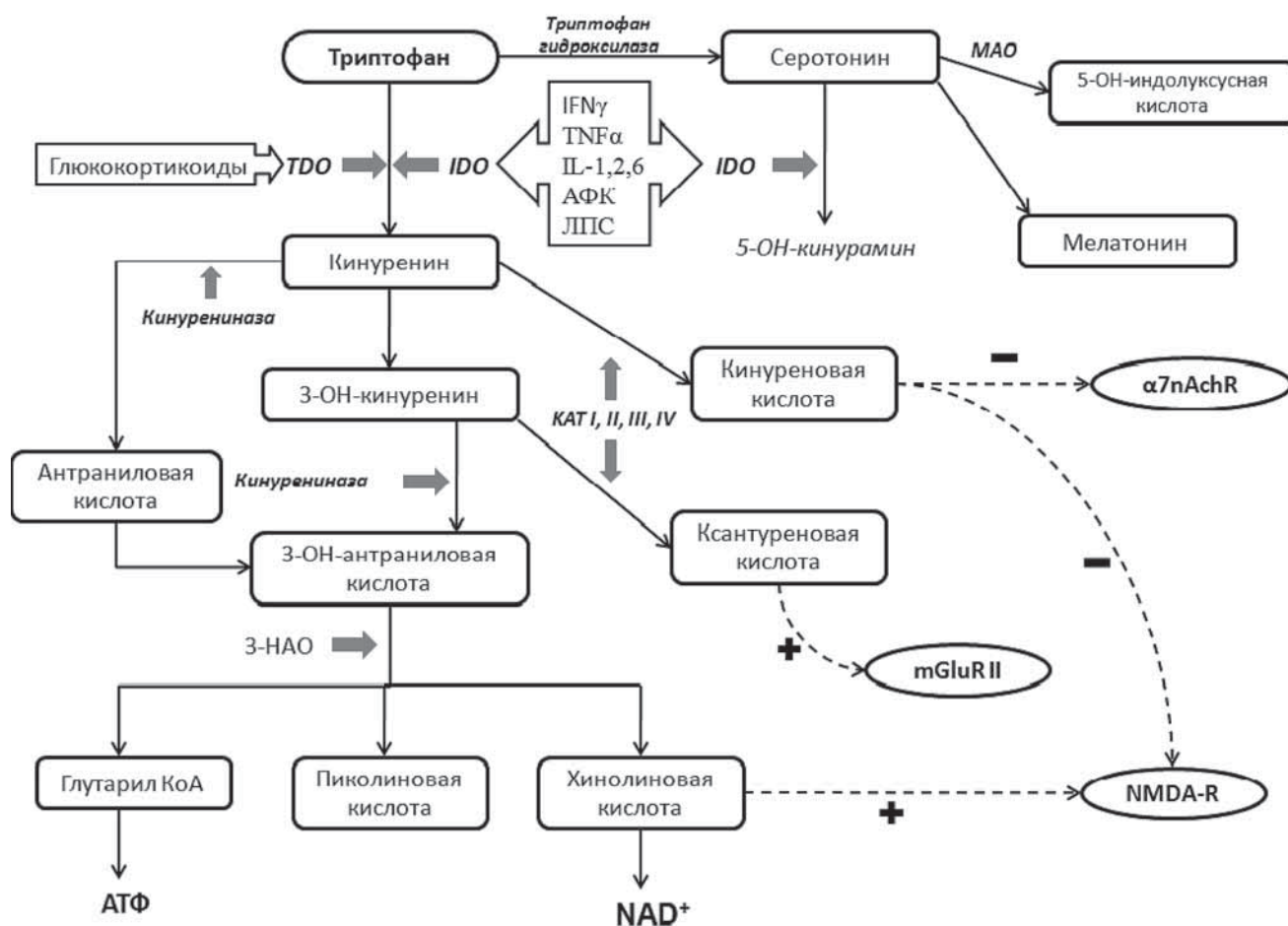


Рис. Схема метаболизма триптофана.

Примечание. АФК — активные формы кислорода, ЛПС — липополисахариды, АТФ — аденозинтрифосфат, NAD<sup>+</sup> — никотинамиддениндинуклеотид.

и/или триптофан-2,3-диоксигеназу 2 (TDO-2) [10], в мозге метаболизм триптофана происходит в основном в астроцитах и микроглии [11]. Показано, что в то время, как астроциты ввиду отсутствия фермента КМО продуцируют в основном кинуреновую кислоту, микроглия и макрофаги синтезируют главным образом хинолиновую кислоту [12]. Астроциты метаболизируют хинолиновую кислоту, продуцируемую соседней микроглией [13].

Кинурениновый путь играет важную роль в метаболизме глюкозы. АТФ и 3-гидроксиантраниловая кислота, формирующиеся в этом пути, активируют гликолиз [14], посредством которого гликоген, хранящийся в клетках, утилизируется в случае потребности в глюкозе или при стрессе. Хинолиновая кислота ингибирует глюконеогенез [15], что может препятствовать получению клетками глюкозы из жиров и белков. В центральной нервной системе накопление гликогена и глюкозы, несомненно, важно для нейропротекции в случае воспаления и активации микроглии. Существуют данные, что ингибирование фермента киназы-3 гликогенсинтетазы, которая в свою очередь повышает активность гликогенсинтетазы, может снижать токсическое действие микроглии на нейроны в случае иммунной активации в мозге [16].

По данным литературных источников, в норме концентрации триптофана и его метаболитов в плазме крови составляют примерно: TRP — 45–60 мкмоль/л, KYN — 1,3–2,5 мкмоль/л, 3-ОНК — 0,3–0,36 мкмоль/л, KYNA — 0,02–0,03 мкмоль/л, QUIN — 0,3–0,45 мкмоль/л,

5-НИАА — 0,0024–0,006 нмоль/л, 3-НАА — 0,0067–0,031 мкмоль/л, АА — 0,016–0,024 мкмоль/л; 5-НТ в сыворотке — 0,43–0,48 мкмоль/л, ХАН в моче — 5,2–9,3 мкмоль/л.

### Воспаление и метаболизм триптофана

В физиологических условиях, как было сказано выше, метаболизм триптофана идет главным образом в печени, с участием фермента TDO через образование кинуренинов. Однако воспалительные реакции и инфекции активируют экспрессию фермента IDO за пределами печени, в таких органах, как легкие, плацента, почки, селезенка, кровь и мозг [17], поэтому внепеченочный метаболизм триптофана сдвигает на второй план метаболизм триптофана в печени [18]. В этом случае распад триптофана по кинурениновому пути происходит в основном в центральной нервной системе, крови и лимфоидных тканях [19].

Экспрессия IDO повышается провоспалительными цитокинами, такими как, к примеру, интерферон  $\gamma$  (ИФН  $\gamma$ ) [20, 21], и ингибируется противовоспалительным интерлейкином 4 (ИЛ 4) [22]. При стрессе или связанных с ним условиях усиливается секреция глюкокортикоидов, в особенности кортизола, что приводит к повышению экспрессии TDO и повышению образования кинуренина [23]. Вследствие низкой эффективности

потребления внепеченочного кинуренина клетками печени метаболизм этого кинуренина происходит в основном в других органах и тканях. Экспрессия КМО также повышается провоспалительными цитокинами [17]. В связи с этим при воспалении образование 3-гидроксикинуренина увеличивается намного быстрее, чем образование кинуреновой кислоты с помощью КАТ, и баланс между формированием 3-гидроксикинуренина и кинуреновой кислоты сдвигается в сторону 3-гидроксикинуренина. При повышении образования 3-гидроксикинуренина за счет действия кинуренинаминотрансфераз увеличивается продукция ксантуреновой кислоты (XAN). Ксантуреновая кислота образует с инсулином комплекс, неспособный взаимодействовать с инсулиновым рецептором. Образование комплекса затрудняет транспорт глюкозы в клетки, углеводный обмен и вносит существенный вклад в развитие метаболического синдрома и диабета [24, 25].

При повышении продукции 3-гидроксикинуренина также может усиливаться образование хинолиновой кислоты (QUIN). Обнаружено, что при активации макрофагов, связанной с воспалением, они становятся мощными продуцентами хинолиновой кислоты [26]. В мозге повышенный окислительный распад триптофана приводит к низкой доступности триптофана для синтеза серотонина. Более того, при воспалении и активации IDO серотонин метаболизируется не только с помощью моноаминоксидазы (MAO) в 5-гидроксииндолуксусную кислоту (5-HIAA), но также с помощью IDO до 5-гидроксикинуренина [27], вследствие чего равновесная концентрация серотонина в мозге снижается.

При воспалении и повышении распада триптофана дополнительные количества периферического кинуренина становятся доступными для последующего метаболизма кинуренина в мозге, т.к. кинуренин может проникать через гематоэнцефалический барьер. При иммунной активации мозга метаболизм кинуренина в астроцитах и микроглии также может быть повышен. Следовательно, содержание кинуренина в мозге увеличивается за счет кинуренина, синтезируемого в мозге, и дополнительного кинуренина из источников на периферии.

Некоторые метаболиты кинуренина непосредственно способствуют нейродегенеративным изменениям в мозге, а некоторые обладают нейропротекторными свойствами. Так, хинолиновая кислота хорошо известна как агонист N-метил-D-аспаратных глутаматных рецепторов (NMDA-R), стимуляция которых приводит ко входу ионов кальция в клетки, последующей активации протеаз и генерации активных форм кислорода и азота, таких как супероксидный радикал ( $O_2^-$ ) и оксид азота (NO), что может привести к гибели нервных клеток, поэтому накопление хинолиновой кислоты в мозге может способствовать эксайтотоксичности и нейродегенеративным изменениям [28].

В ряде работ показано, что 3-гидроксикинуренин способствует апоптозу нервных клеток [29]. Кинуреновая кислота, напротив, является антагонистом NMDA-R [30] и защищает от эксайтотоксичности хинолиновой кислоты [31]. Кроме того, математическими методами было доказано, что кинуренин способен взаимодействовать с NR1-субъединицей NMDA-рецептора в качестве агониста [32, 33].

При воспалении, несмотря на то, что баланс между 3-гидроксикинуренином и кинуреновой кислотой может сдвигаться в сторону образования 3-гидроксикинуренина, концентрации кинуреновой кислоты также могут быть выше, чем в норме, вследствие общего по-

вышения образования кинуренина. Поскольку KYNA является антагонистом NMDA-рецепторов, ее сбалансированное повышение может нейтрализовать токсическое действие хинолиновой кислоты через NMDA-рецепторы, и гомеостаз может сохраняться. Хотя KYNA в целом рассматривают как защитный метаболит против хинолиновой кислоты, ее накопление выше физиологических уровней может вызвать глутаматергическую гиподензию и способствовать снижению когнитивных функций [34]. Это связано с тем, что помимо NMDA-рецепторов KYNA является также антагонистом  $\alpha_7$ -никотиновых ацетилхолиновых рецепторов ( $\alpha_7$ nACh-R) и регулирует экспрессию других типов ацетилхолиновых рецепторов — non- $\alpha_7$ nACh-R [35]. Таким образом, избыток KYNA может вызывать нарушения нейротрансмиссии холинергической системы и негативно влиять на развитие когнитивных нарушений у больных. Также сообщалось, что кинуреновая кислота подавляет дофаминергическую нейротрансмиссию [36] и, возможно, обладает антипсихотическими эффектами.

### Метаболизм триптофана при психических расстройствах

#### Депрессивные расстройства

В ряде работ была продемонстрирована вовлеченность воспалительных механизмов в патогенез депрессивных расстройств. В клинико-биологических исследованиях установили повышение концентраций провоспалительных цитокинов ИЛ 2 и 6, растворимых рецепторов ИЛ 6, фактора некроза опухолей  $\alpha$  (ФНО  $\alpha$ ) и ИФН  $\gamma$ , а также снижение содержания противовоспалительных цитокинов ИЛ 4 и 10 в сыворотке крови пациентов [37–39].

Как было отмечено выше, в случае воспалительных реакций, активирующих IDO, наблюдается пониженная доступность серотонина для серотонинергической нейротрансмиссии, что является патогенетическим фактором развития депрессивных расстройств. Активация воспалительных реакций при депрессивных расстройствах приводит к повышению уровня экспрессии не только основного фермента превращения триптофана в кинуренин — IDO, но и КМО — фермента, превращающего KYN в 3-гидроксикинуренин что в свою очередь может привести к смешению метаболизма кинуренина в сторону образования 3-ОНК и QUIN. Голландскими исследователями было высказано предположение, что дисбаланс между этими нейротоксическими метаболитами и нейропротекторной кинуреновой кислотой нарушает взаимодействие между нейронами и глией и может сделать нейроглиальную сеть более уязвимой к влиянию неблагоприятных факторов внешней среды, таких как стресс, что может обусловить хроническое течение депрессивных расстройств [40]. Нейротоксические метаболиты кинуренина могут вызывать апоптоз астроцитов и в меньшей степени нейронов, что ослабляет нейроглиальное взаимодействие и приводит к снижению синтеза нейротрофических факторов, таких как глиальный нейротрофический фактор, мозговой нейротрофический фактор [41, 42]. Гибель астроцитов может также нарушать превращение глутамата в глутамин ферментом глутаматсинтетазой, которое, как известно, происходит главным образом в астроцитах [43].

У нелеченных пациентов, страдающих депрессивными расстройствами, не принимавших лекарства, по крайней мере, в течение 4 мес, был обнаружен дисбаланс между нейропротекторным и нейротоксическим путями

со снижением концентрации нейротрофических факторов. Соотношение между кинуреновой кислотой и кинуренином было достоверно ниже у депрессивных пациентов, чем у здоровых добровольцев. Более того, при 6-недельном лечении антидепрессантами (главным образом селективными ингибиторами обратного захвата серотонина) метаболический дисбаланс кинуренинового пути не нормализовался. Именно поэтому авторы выдвинули гипотезу о том, что такой дисбаланс между кинуреновой кислотой и кинуренином может в дальнейшем вызывать нейродегенеративные изменения и способствовать хронизации болезни и развитию резистентности к терапии [44].

Недавно проведенное исследование [45] на постмортальных образцах тканей мозга пациентов с депрессивными расстройствами и доноров по определению содержания в них хинолиновой кислоты, определяемой иммуногистохимическим методом, показало повышение ее концентрации в префронтальной области коры головного мозга. Подобное повышение содержания хинолиновой кислоты наблюдалось также в области гиппокампа.

При депрессивных расстройствах существуют полученные посредством микроскопического исследования морфологические свидетельства наличия нейродегенеративных изменений и гибели астроцитов [46]. Этим изменениям может способствовать повышение уровня токсических метаболитов кинуренина.

В недавнем исследовании мозга у подростков с меланхолической депрессией методом магнитно-резонансной спектроскопии была установлена корреляция концентраций холина, который характеризует клеточный обмен, с концентрациями сывороточного кинуренина и отношением концентраций 3-НАА/КYN [47]. Исследование также показало, что сывороточный кинуренин и отношение концентраций 3-НАА/КYN достоверно повышены у подростков с меланхолической депрессией по сравнению с подростками с немеланхолической депрессией. Кроме того, это исследование продемонстрировало положительную корреляцию концентрации сывороточного кинуренина и отношения концентраций 3-НАА/КYN с тяжестью депрессии. Из вышесказанного можно сделать вывод, что сдвиг кинуренинового пути в направлении образования 3-гидроксикинуренина, 3-гидроксиантрапиновой кислоты и хинолиновой кислоты наблюдается и при юношеской меланхолической депрессии.

При депрессивных состояниях, связанных с цитокиновой терапией, например, с терапией ИФН  $\alpha$  больных гепатитом С, наблюдается снижение концентрации кинуреновой кислоты (и повышение отношения концентраций КYN/КYNA) в сыворотке крови, коррелирующее со степенью тяжести депрессии [48]. Другое исследование выявило повышение содержания как KYNA, так и QUIN в цереброспинальной жидкости пациентов, принимавших ИФН  $\alpha$  [49]. О взаимосвязи между концентрациями метаболитов этих двух ветвей кинуренинового пути в исследовании не сообщалось. Тем не менее, результаты исследований указывают на повышение интенсивности распада триптофана, изменение концентраций метаболитов кинуренина в ответ на терапию ИФН  $\alpha$  и последующее возникновение депрессивных расстройств.

O'Connor J.C. и соавт. на экспериментальной животной модели депрессивного расстройства, связанной с введением мышам вакцины БЦЖ, продемонстрировали повышение уровня экспрессии ИФН  $\gamma$ , ФНО  $\alpha$  и ИЛ 1 $\beta$ , а также IDO в мозге. Блокирование фермента IDO 1-метилтриптофаном предотвращало депрессивные симптомы. Кроме того, у мышей, нокаутных по гену рецептора

к ИФН  $\gamma$ , не было выявлено симптомов депрессивного поведения и повышения уровня экспрессии IDO в ответ на введение БЦЖ, хотя экспрессия ИФН  $\gamma$ , ФНО  $\alpha$  и ИЛ 1 $\beta$  также повышалась. Приведенные результаты указывают на важную роль ИФН  $\gamma$  и IDO в развитии депрессивного поведения [50, 51].

На экспериментальной модели было установлено, что ферменты кинуренинового пути находятся под контролем половых гормонов. В частности, эстроген оказывает негативное влияние на активность у крыс фермента кинуренинаминотрансферазы, превращающего кинуренин в кинуреновую кислоту [52]. Вероятно, такие данные могут внести определенные вклад в гендерные различия в структуре заболеваемости депрессией.

Как было сказано выше, стресс и/или инфекции сдвигают кинурениновый путь распада триптофана в сторону 3-гидроксикинуренина, следствием чего может стать повышение концентрации ряда нейротоксических метаболитов. В связи с этим можно предположить, что в случае инфекционных заболеваний матери во время беременности нейротоксические метаболиты кинуренина могут проникать через гематоплацентарный барьер в формирующийся мозг эмбриона (плода), негативно влияя на процессы дифференцировки клеток мозга эмбриона. Это, в свою очередь, может способствовать большей уязвимости нейроглиальной сети к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды в его будущей жизни [53].

Вышеизложенные факты дают основание для разработки новых методов диагностики, мониторинга, а также новых терапевтических подходов к лечению депрессивных расстройств, направленных на измерение и нормализацию концентраций метаболитов кинуренина за счет действия лекарственных средств.

### **Шизофрения**

У больных шизофренией так же, как и у пациентов с депрессивными расстройствами, наблюдается активация иммунной системы, в т.ч. установлено повышение концентрации растворимого рецептора ИЛ 2 [54], провоспалительных цитокинов, таких как ИФН  $\gamma$ , ФНО  $\alpha$  и ИЛ 6, а также снижение уровня противовоспалительного цитокина ИЛ 4. Эффективное антипсихотическое лечение приводит к нормализации содержания указанных цитокинов [55].

Результаты метаанализа исследований по определению уровня 7 цитокинов у пациентов с шизофренией, опубликованного канадскими учеными [56], свидетельствуют о повышении содержания агониста рецептора ИЛ 1 (IL 1ra), растворимого ИЛ 2-рецептора (IL 2r) и ИЛ 6 при пониженном уровне ИЛ 2 в сыворотке крови больных шизофренией.

Исследование постмортальных образцов, взятых из различных регионов коры мозга больных шизофренией, показало увеличение концентрации кинуреновой кислоты по сравнению с контрольной группой, особенно в префронтальной коре [57, 58].

Увеличение концентрации кинуреновой кислоты также было зафиксировано в цереброспинальной жидкости больных шизофренией [59]. Поскольку это исследование проводили у пациентов с первым психотическим приступом до получения ими психотропных препаратов, выявленное повышение концентрации кинуреновой кислоты не могло быть следствием антипсихотической терапии. Авторами была выдвинута гипотеза, что накопление кинуреновой кислоты может вызывать симптомы шизофрении [60]. Эксперименты на крысах показали, что после месячного введения животным таких антипсихотиков,

как галоперидол, клозапин и лакроприд, наблюдалось достоверное снижение концентрации кинуреновой кислоты в гиппокампе, стриатуме и префронтальной коре, т.е. в областях мозга, вовлеченных в патофизиологию шизофрении [61, 62].

Кинуреновая кислота может участвовать в развитии позитивных симптомов шизофрении в связи с ее влиянием на функционирование NMDA- и  $\alpha_7$ nACh-рецепторов [63]. Было также показано, что ксантуреновая кислота, другой метаболит кинуренинового пути, служит эндогенным лигандом метаболитных глутаматных рецепторов группы II играющих роль в патофизиологии шизофрении [64].

Condray R. и соавт. проводили определение уровня 3-гидроксикинурина, однако достоверных изменений по сравнению с контрольной группой установлено не было. Вместе с тем была обнаружена корреляция между уровнем 3-гидроксикинурина и суммарной оценкой психопатологических симптомов по шкале PANSS до лечения, а также оценкой по подшкале позитивных симптомов шкалы PANSS после 4-недельной терапии нейролептиками пациентов с первым приступом шизофрении [65].

Myint A.M. и соавт. установили повышение содержания 3-гидроксикинурина и снижение концентрации кинуреновой кислоты в плазме крови больных шизофренией, не получавших психотропной терапии, по сравнению с контрольной группой. Уровень указанных метаболитов нормализовался после 6 нед терапии антипсихотиками [66].

На наш взгляд, значительный интерес представляет исследование при шизофрении соотношений концентраций потенциально нейропротекторных и нейротоксических метаболитов обмена триптофана, а также изучение взаимосвязи между концентрациями метаболитов и степенью выраженности негативных симптомов шизофрении. Без детального исследования этого вопроса предлагаемый в ряде литературных источников новый терапевтический подход, основанный на снижении уровня кинуреновой кислоты [67], возможно будет сопряжен с побочными эффектами, связанными с действием дру-

гих нейротоксических метаболитов кинуренинового пути обмена триптофана, и возникновением осложнений после проведения лечения.

### Заключение

Приведенные выше данные литературы свидетельствуют о том, что активация кинуренинового пути распада триптофана вовлечена в патофизиологию депрессивных расстройств и шизофрении. Исследование концентраций метаболитов триптофана и их соотношений при психических патологиях, а также изучение взаимосвязей между этими метаболитами и клиническими особенностями пациентов является одной из важнейших задач биологической психиатрии на ближайшие годы. Однако уже сегодня определение изменений активности кинуренинового пути метаболизма триптофана представляет значительный интерес для поиска эффективных фармакологических препаратов.

В настоящее время предложено несколько ингибиторов ферментов, катализирующих распад триптофана по кинурениновому пути: ингибиторы IDO, КМО, кинурениназы. В экспериментах показано, что ингибиторы снижают образование нейротоксических метаболитов, таких как 3-гидроксикинуренин, хинолиновая кислота, 3-гидроксиантраниловая кислота, и повышают образование нейропротекторного метаболита — кинуреновой кислоты [68].

Представляет интерес исследование метаболитов кинуренина при психической патологии в качестве возможных биомаркеров для ранней диагностики, прогноза, мониторинга состояния пациентов и оценки эффективности лекарственной терапии. Существующие в настоящее время способы определения метаболитов триптофана на основе высокоэффективной жидкостной хроматографии, капиллярного электрофореза или масс-спектрометрии нуждаются во всем усовершенствовании, и работы в этом направлении активно выполняются в мире [69, 70].

### ЛИТЕРАТУРА

- Eynard N., Flachaire E., Lestra C. et al. Platelet serotonin content and free and total plasma tryptophan in healthy volunteers during 24 hours. *Clin. Chem.* 1993; 39 (11): 2337–2340.
- Yuwiler A., Oldendorf W.H., Geller E. et al. Effect of albumin binding and amino acid competition on tryptophan uptake into brain. *J. Neurochem.* 1977; 28 (5): 1015–1023.
- Mangoni A. The «kynurenine shunt» and depression. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* 1974; 11 (0): 293–298.
- Fernstrom J.D. Effects of the diet on brain neurotransmitters. *Metabolism.* 1977; 26 (2): 207–223.
- Watanabe Y., Fujiwara, Yoshida R. et al. Stereospecificity of hepatic L-tryptophan 2,3-dioxygenase. *Biochem. J.* 1980; 189 (3): 393–405.
- Breton J., Avanzi N., Magagnin S. et al. Functional characterization and mechanism of action of recombinant human kynurenine 3-hydroxylase. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267 (4): 1092–1099.
- Leklem J.E. Quantitative aspects of tryptophan metabolism in humans and other species: a review. *Am. J. Clin. Nutr.* 1971; 24 (6): 659–672.
- Han Q., Cai T., Tagle D.A. et al. Structure, expression, and function of kynurenine aminotransferases in human and rodent brains. *Cell Mol. Life Sci.* 2010; 67 (3): 353–368.
- Gal E.M., Sherman A.D. L-kynurenine: its synthesis and possible regulatory function in brain. *Neurochem. Res.* 1980; 5 (3): 223–239.
- Miller C.L., Llenos I.C., Dulay J.R. et al. Expression of the kynurenine pathway enzyme tryptophan 2,3-dioxygenase is increased in the frontal cortex of individuals with schizophrenia. *Neurobiol. Dis.* 2004; 15 (3): 618–629.
- Grant R.S., Naif H., Espinosa M. et al. IDO induction in IFN-gamma activated astroglia: a role in improving cell viability during oxidative stress. *Redox. Rep.* 2000; 5 (2-3): 101–104.
- Guillemin G.J., Smythe G.A., Takikawa O. et al. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase and production of quinolinic acid by human microglia, astrocytes, and neurons. *Glia.* 2005; 49 (1): 15–23.
- Guillemin G.J., Kerr S.J., Smythe G.A. et al. Kinurenine pathway metabolism in human astrocytes: a paradox for neuronal protection. *J. Neurochem.* 2001; 78 (4): 842–853.
- Quagliariello E., Papa S., Saccone C. et al. Effect of 3-hydroxyanthranilic acid on the mitochondrial respiratory system. *Biochem. J.* 1964; 91 (1): 137–146.
- Lardy H.A. The role of tryptophan metabolites in regulating gluconeogenesis. *Am. J. Clin. Nutr.* 1971; 24 (7): 764–765.

16. Yuskaitis C.J., Jope R.S. Glycogen synthase kinase-3 regulates microglial migration, inflammation, and inflammation-induced neurotoxicity. *Cell Signal*. 2009; 21 (2): 264–273.
17. Mellor A.L., Munn D.H. Tryptophan catabolism and T-cell tolerance: immunosuppression by starvation? *Immunol. Today*. 1999; 20 (10): 469–473.
18. Moffett J.R., Blinder K.L., Venkateshan C.N. et al. Differential effects of kynurenine and tryptophan treatment on quinolinate immunoreactivity in rat lymphoid and non-lymphoid organs. *Cell Tissue Res*. 1998; 293 (3): 525–534.
19. Moffett J.R., Namboodiri M.A. Tryptophan and the immune response. *Immunol. Cell Biol*. 2003; 81 (4): 247–265.
20. Carlin J.M., Borden E.C., Sondel P.M. et al. Biologic-response-modifier-induced indoleamine 2,3-dioxygenase activity in human peripheral blood mononuclear cell cultures. *J. Immunol*. 1987; 139 (7): 2414–2418.
21. Yasui H., Takai K., Yoshida R. et al. Interferon enhances tryptophan metabolism by inducing pulmonary indoleamine 2,3-dioxygenase: its possible occurrence in cancer patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1986; 83 (17): 6622–6626.
22. Musso T., Gusella G.L., Brooks A. et al. Interleukin-4 inhibits indoleamine 2,3-dioxygenase expression in human monocytes. *Blood*. 1994; 83 (5): 1408–1411.
23. Salter M., Pogson C.I. The role of tryptophan 2,3-dioxygenase in the hormonal control of tryptophan metabolism in isolated rat liver cells. Effects of glucocorticoids and experimental diabetes. *Biochem. J*. 1985; 229 (2): 499–504.
24. Kotake Y., Ueda T., Mori T. et al. Abnormal tryptophan metabolism and experimental diabetes by xanthurenic acid (XA). *Acta Vitaminol. Enzymol*. 1975; 29 (1–6): 236–239.
25. Buczko P., Stokowska W., Gorska M. et al. Tryptophan metabolites via kynurenine pathway in saliva of diabetic patients. *Dent. Med. Probl*. 2006; 43: 21–25.
26. Chiarugi A., Calvani M., Meli E. et al. Synthesis and release of neurotoxic kynurenine metabolites by human monocyte-derived macrophages. *J. Neuroimmunol*. 2001; 120 (1–2): 190–198.
27. Pertz H., Back W. Synthesis and resolution of chiral ring-opened serotonin analogs of the 5-hydroxykynuramine type. *Pharm. Acta Helv*. 1988; 63 (4–5): 128–131.
28. Guillemain G.J. Quinolinic acid, the inescapable neurotoxin. *FEBS J*. 2012; 279 (8): 1356–1365.
29. Okuda S., Nishiyama N., Saito H. et al. 3-Hydroxykynurenine, an endogenous oxidative stress generator, causes neuronal cell death with apoptotic features and region selectivity. *J. Neurochem*. 1998; 70 (1): 299–307.
30. Perkins M.N., Stone T.W. An iontophoretic investigation of the actions of convulsant kynurenines and their interaction with the endogenous excitant quinolinic acid. *Brain Res*. 1982; 247 (1): 184–187.
31. Kim J.P., Choi D.W. Quinolinic acid neurotoxicity in cortical cell culture. *Neuroscience*. 1987; 23 (2): 423–432.
32. Журавлев А.В. Молекулярные механизмы действия метаболитов кинуренинового пути обмена триптофана на глутаматергическую и холинергическую системы нейротрансмиссии у мутантов дрозофилы. *Автореф. ...дис. канд. биол. наук*. 2012.
33. Журавлев А.В., Захаров Г.А., Саввафтьева-Попова Е.В. Молекулярные механизмы действия метаболитов кинуренинового пути обмена триптофана на глутаматергическую и холинергическую системы нейротрансмиссии у мутантов дрозофилы. *Мат-лы съезда. VII Сибирский съезд физиологов*. 2012. С. 182–183.
34. Olney J.W., Labruyere J., Wang G. et al. NMDA antagonist neurotoxicity: mechanism and prevention. *Science*. 1991; 254 (5037): 1515–1518.
35. Hilmas C., Pereira E.F., Alkondon M. et al. The brain metabolite kynurenine acid inhibits alpha7 nicotinic receptor activity and increases non-alpha7 nicotinic receptor expression: physiopathological implications. *J. Neurosci*. 2001; 21 (19): 7463–7473.
36. Wu H.Q., Rassoulpour A., Schwarcz R. Kynurenine acid leads, dopamine follows: a new case of volume transmission in the brain? *J. Neural. Transm*. 2007; 114 (1): 33–41.
37. Schiepers O.J., Wichers M.C., Maes M. Cytokines and major depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2005; 29 (2): 201–217.
38. Thomas A.J., Davis S., Morris C. et al. Increase in interleukin-1beta in late-life depression. *Am. J. Psychiatry*. 2005; 162 (1): 175–177.
39. Raison C.L., Miller A.H. Is depression an inflammatory disorder? *Curr. Psychiatry Rep*. 2011; 13 (6): 467–475.
40. Myint A.M., Kim Y.K. Cytokine-serotonin interaction through IDO: a neurodegeneration hypothesis of depression. *Med. Hypotheses*. 2003; 61 (5–6): 519–525.
41. Appel E., Kolman O., Kazimirsky G. et al. Regulation of GDNF expression in cultured astrocytes by inflammatory stimuli. *Neuroreport*. 1997; 8 (15): 3309–3312.
42. Shimizu E., Hashimoto K., Okamura N. et al. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biol. Psychiatry*. 2003; 54 (1): 70–75.
43. Lavoie J., Giguere J.F., Layrargues G.P. et al. Activities of neuronal and astrocytic marker enzymes in autopsied brain tissue from patients with hepatic encephalopathy. *Metab. Brain Dis*. 1987; 2 (4): 283–290.
44. Myint A.M., Kim Y.K., Verkerk R. et al. Kynurenine pathway in major depression: evidence of impaired neuroprotection. *J. Affect. Disord*. 2007; 98 (1–2): 143–151.
45. Steiner J., Gos T., Bogerts B. et al. Severe depression is associated with increased microglial quinolinic acid in subregions of the anterior cingulate gyrus: evidence for an immune-modulated glutamatergic neurotransmission? *J. Neuroinflammation*. 2011; 8: 94.
46. Rajkowska G., Miguel-Hidalgo J.J., Wei J. et al. Morphometric evidence for neuronal and glial prefrontal cell pathology in major depression. *Biol. Psychiatry*. 1999; 45 (9): 1085–1098.
47. Gabbay V., Liebes L., Katz Y. et al. The kynurenine pathway in adolescent depression: preliminary findings from a proton MR spectroscopy study. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2010; 34 (1): 37–44.
48. Wichers M.C., Koek G.H., Robaey G. et al. IDO and interferon-alpha-induced depressive symptoms: a shift in hypothesis from tryptophan depletion to neurotoxicity. *Mol. Psychiatry*. 2005; 10 (6): 538–544.
49. Raison C.L., Dantzer R., Kelly K.W. et al. CSF concentrations of brain tryptophan and kynurenines during immune stimulation with IFN-alpha: relationship to CNS immune responses and depression. *Mol. Psychiatry*. 2000; 15 (4): 393–403.
50. O'Connor J.C., Lawson M.A., Andre C. et al. Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice. *Mol. Psychiatry*. 2009; 14 (5): 511–522.
51. O'Connor J.C., Andre C., Wang Y. et al. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha mediate the upregulation of indoleamine 2,3-dioxygenase and the induction of depressive-like behavior in mice in response to Bacillus Calmette-Guerin. *J. Neurosci*. 2009; 29 (13): 4200–4209.
52. Mason M., Manning B. Effects of steroid conjugates on availability of pyridoxal phosphate for kynureninase and kynurenine aminotransferase activity. *Am. J. Clin. Nutr*. 1971; 24 (7): 786–791.
53. Pocivavsek A., Wu H.-Q., Schwarcz R. et al. Pre- and postnatal exposure to kynurenine causes cognitive deficits in adulthood. *Eur. J. Neurosci*. 2012; 35 (10): 1605–1612.



54. Rapaport M.H., McAllister C.G., Pickar D. et al. Elevated levels of soluble interleukin 2 receptors in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry*. 1989; 46 (3): 291–292.
55. Kim Y.K., Myint A.M., Verkerk R. et al. Cytokine changes and tryptophan metabolites in medication naive and medication-free schizophrenia patients. *Neuropsychobiology*. 2009; 59 (2): 123–129.
56. Potvin S., Stip E., Sepehry A.A. et al. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol. Psychiatry*. 2008; 63 (8): 801–808.
57. Schwarcz R., Rassoulpour A., Wu H.-Q. et al. Increased cortical kynurenate content in schizophrenia. *Biol. Psychiatry*. 2001; 50 (7): 521–530.
58. Sathyaikumar K.V., Stachowski E.K., Schwarcz. et al. Impaired kynurenine pathway metabolism in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 2011; 37 (6): 1147–1156.
59. Erhardt S., Blennow K., Nordin C. et al. Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Neurosci. Lett.* 2001; 313 (1-2): 96–98.
60. Erhardt S., Schwieler L., Engberg G. Kynurenic acid and schizophrenia. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003; 527: 155–165.
61. Ceresoli-Borroni G., Rassoulpour A., Wu H.-Q. et al. Chronic neuroleptic treatment reduces endogenous kynurenic acid levels in rat brain. *J. Neural. Transm.* 2006; 113 (10): 1355–1365.
62. Andreasen N.C., O’Leary D.S., Flaum M. et al. Hypofrontality in schizophrenia: distributed dysfunctional circuits in neuroleptic-naive patients. *Lancet*. 1997; 349 (9067): 1730–1734.
63. Takahashi T., Wood S.J., Soulsby B. et al. Follow-up MRI study of the insular cortex in first-episode psychosis and chronic schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2009; 108 (1–): 49–56.
64. Copeland C.S., Neale S.A., Salt T.E. Actions of Xanthurenic Acid, a putative endogenous Group II metabotropic glutamate receptor agonist, on sensory transmission in the thalamus. *Neuropharmacology*. 2012; [Epub ahead of print].
65. Condray R., Dougherty G.G. Jr., Keshavan M.S. 3-Hydroxykynurenine and clinical symptoms in first-episode neuroleptic-naive patients with schizophrenia. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2011; 14 (6): 756–767.
66. Myint A.M., Schwarz M., Verkerk R. Imbalance of kynurenine metabolites in drug naive schizophrenia. *Brain Behav. Immun.* 2011; 25 (8): 1576–1581.
67. Erhardt S., Olsson S.K., Engberg G. Pharmacological manipulation of kynurenic acid: potential in the treatment of psychiatric disorders. *CNS Drugs*. 2009; 23 (2): 91–101.
68. Stone T.W., Forrest C.M., Darlington L.G. Kynurenine pathway inhibition as a therapeutic strategy for neuroprotection. *FEBS J.* 2012; 279 (8): 1386–1397.
69. Badawy A.A., Morgan C.J. Rapid isocratic liquid chromatographic separation and quantification of tryptophan and six kynurenine metabolites in biological samples with ultraviolet and fluorimetric detection. *Int. J. Tryptophan Res.* 2010; 3: 175–186.
70. Сидорова А.А., Карцова Л.А. Исследование кинуренинового пути метаболизма триптофана методом капиллярного электрофореза и масс-спектрометрии. *Журн. аналитич. химии*. 2011; 66 (3): 329–334.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Шилов Юрий Евгеньевич**, аспирант лаборатории молекулярной биохимии ФГБУ «Научный центр психического здоровья» РАМН

**Адрес:** 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 34

**Тел.:** (495) 952-91-41

**E-mail:** shilov.biochem@gmail.ru

**Безруков Михаил Васильевич**, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической биохимии ФГБУ «Научный центр психического здоровья» РАМН

**Адрес:** 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 34

**Тел.:** (495) 952-91-41

**E-mail:** bezrmv1chem@mail.ru

В.Г. Кукес<sup>1</sup>, Н.И. Жернакова<sup>2</sup>, Т.В. Горбач<sup>3</sup>, О.В. Ромашенко<sup>2</sup>, В.В. Румбешт<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

<sup>2</sup> Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Российская Федерация

<sup>3</sup> Харьковский государственный медицинский университет, Украина

## Эффективность милдроната при экспериментальной ишемии миокарда у крыс разного возраста

*При экспериментальной ишемии миокарда у 10-месячных крыс под действием милдроната обнаружили существенные изменения метаболизма кардиомиоцитов в виде стимуляции аэробных и анаэробных путей энергообеспечения клеток сердца: активации гликолиза, окислительного фосфорилирования и окислительного декарбоксилирования пирувата с восстановлением пула аденозинтрифосфата до уровня интактных крыс в гомогенате миокарда, сыворотке крови и эритроцитах, с признаками стабилизации мембран кардиомиоцитов и существенного снижения тканевой гипоксии. Введение милдроната старым крысам (24 мес) с экспериментальной ишемией миокарда сопровождалось менее выраженными изменениями метаболизма: активацией гликолиза и окислительного декарбоксилирования пирувата без стимуляции ферментов цикла Кребса, что оказалось достаточно для восстановления пула аденозинтрифосфата в миокарде, без изменения его содержания в сыворотке крови и эритроцитах, с признаками стабилизации мембран кардиомиоцитов и умеренного уменьшения степени тканевой гипоксии.*

42

**Ключевые слова:** ишемия миокарда, кардиоцитопротекция, митохондрии, метаболическая терапия, милдронат, возраст.

### Введение

Актуальность проблемы повышения эффективности лечения ишемической болезни сердца (ИБС) обусловлена значительно более высокими показателями распространенности и смертности от данной патологии в России по сравнению с европейскими странами и США [1, 2]. Современные стандарты лечения стенокардии — основной нозологической формы ИБС — предполагают использование медикаментозной терапии и интервенционных методов лечения, при этом лекарственная терапия составляет неотъемлемую часть любой программы лечения [3]. В случае недостаточной эффективности и/или при наличии противопоказаний к использованию

основных гемодинамических препаратов у пациентов со стенокардией Всероссийское научное общество кардиологов и ряд ученых рекомендуют назначать кардиоцитопротекторы, в частности, триметазидин и милдронат [3, 4]. При этом у зарубежных коллег и практических врачей имеются сомнения в отношении эффективности данной группы лекарственных средств [5]. Возможно, это связано с недопониманием тонких биохимических механизмов действия метаболических корректоров и/или с необходимостью индивидуального подхода к их назначению, учитывая ряд факторов, в т.ч. и возраст.

Цель исследования: изучить эффективность милдроната по показателям энергообмена в кардиомиоцитах при ишемии миокарда у крыс разного возраста.

V.G. Kukes<sup>1</sup>, N.I. Zernakova<sup>2</sup>, T.V. Gorbach<sup>3</sup>, O.V. Romashenko<sup>2</sup>, V.V. Rumbesht<sup>2</sup>

<sup>1</sup> The First Moscow State Medical University named by I.M. Sechenov, Russian Federation

<sup>2</sup> Belgorod State National Research University, Russian Federation

<sup>3</sup> Kharkov State Medical University, Ukraine

## Efficiency of mildronate in rats of different age with experimental-induced myocardial ischemia

*Under experimental myocardial ischemia in rats of 10 months treatment with mildronate resulted in essential changes in metabolism of cardiomyocytes. This includes stimulation of aerobic and anaerobic ways of power supply of heart cells: activation of glycolysis, oxidative phosphorylation and oxidative pyruvate decarboxylation with restoration of adenosine triphosphate pool to intact rats level in myocardium, serum and erythrocytes with signs of stabilization of cardiomyocytes membranes and essential decrease of tissue hypoxia. Introduction of mildronate to old rats (24 months) with an experimental myocardium ischemia was accompanied by lesser expressed changes of metabolism: activation of glycolysis and oxidative pyruvate decarboxylation without stimulation of Krebs' cycle enzymes. This became sufficient for restoration of adenosine triphosphate pool in myocardium without change of its quantity in serum and erythrocytes with signs of stabilization of cardiomyocytes membranes and moderate reduction of tissue hypoxia degree.*

**Key words:** experimental myocardial ischemia, cardiocytprotection, mitochondria, cells energy exchange, mildronate, age.

## Материалы и методы

Экспериментальное исследование проводили на 32 крысах-самцах линии Вистар в возрасте 10 и 24 мес, которых содержали в стандартных условиях вивария. Использовали следующие группы животных:

- интактные крысы в возрасте 10 мес (n = 6);
- интактные крысы в возрасте 24 мес (n = 6);
- крысы с экспериментальной ИБС в возрасте 10 мес (n = 5);
- крысы с экспериментальной ИБС в возрасте 24 мес (n = 5);
- крысы с ИБС, которым вводили милдронат, в возрасте 10 мес (n = 5);
- крысы с ИБС, которым вводили милдронат, в возрасте 24 мес (n = 5).

Возрастные группы были выбраны из позиции соответствия 10-месячных крыс среднему возрасту человека (45–50 лет), 24-месячных крыс — пожилому возрасту человека (70–75 лет). Содержание животных и манипуляции над ними проводили в соответствии с положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используют для экспериментальных целей (Страсбург, 1986).

Моделирование ИБС осуществляли по методу, описанному Д.В. Гаман (2011) [6]. Ежедневно в течение 7 дней крысам вводили подкожно 0,1 мл 0,1% раствора адреналина и 1 мл 2,5% эмульсии гидрокортизона. Дозу вводимого с терапевтической целью милдроната определили по формуле Ю.Р. Рыболовлева [7]: 0,03 мл/100 г массы тела животного в 1,5 мл 0,9% раствора NaCl внутривенно 1 раз в сутки, что эквивалентно рекомендованной дозе для человека (5 мл внутривенно 1 раз в сутки). Животных выводили из эксперимента через 10 дней после введения милдроната путем декапитации под легким тиопенталовым наркозом. Сердце перфузировали охлажденным 0,9% раствором NaCl. Приготовление гомогенатов миокарда и выделение митохондрий производили по методу, описанному Н.П. Мешковой и С.Е. Севериным [8]. Из гепаринизированной крови выделяли эритроциты центрифугированием. Отмытые эритроциты использовали для определения содержания 2,3 дифосфоглицерата (2,3 ДФГ) и свободных нуклеотидов (аденозинтри- и дифосфата — АТФ и АДФ) [9]. В сыворотке крови определяли содержание АТФ, АДФ, пирувата, лактата (с помощью набора реактивов фирмы «Ольвекс», Российская Федерация), сердечной фракции креатинфосфокиназы (КФК-МВ) с помощью наборов реактивов фирмы «НВР DAC-Spectro Med» (Кишинев, Молдова), активность лактатдегидрогеназы-1 (ЛДГ1) — с помощью наборов реактивов фирмы «Labsystem» (Финляндия) [10]. В митохондриях исследовали активность сукцинатдегидрогеназы, цитратсинтазы и пируватдегидрогеназы [10]. В гомогенате миокарда определяли активность гексокиназы, креатинфосфокиназы, фосфофруктокиназы, уровень пирувата, лактата и АТФ [8, 10].

Полученные данные обрабатывали при помощи статистической программы SPSS for Windows 11. Применялся метод сравнения двух средних на основании t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Результаты исследования представлены в табл. 1. При моделировании ишемии миокарда у крыс в возрасте 10 мес обнаружено достоверное повышение уровня

2,3-ДФГ в эритроцитах, снижение концентрации АТФ в эритроцитах, сыворотке крови и гомогенате миокарда, что свидетельствует о развитии тканевой гипоксии и энергодефицита. Обнаруженное увеличение активности органоспецифических миокардиальных ферментов — КФК-МВ и ЛДГ1 — в сыворотке крови связано с «утечкой» ферментов из цитоплазмы, по-видимому, вследствие дестабилизации мембран кардиомиоцитов. В митохондриях обнаружено достоверное снижение активности изучаемых ферментов сукцинатдегидрогеназы, цитратсинтазы, пируватдегидрогеназы, что свидетельствует о снижении интенсивности окислительного фосфорилирования и окислительного декарбоксилирования пирувата и объясняет механизм возникновения энергодефицита при ишемии. В миокарде компенсаторно активируются гликолитические ферменты (гексокиназа и фосфофруктокиназа), а также фермент энергетического обмена (КФК) с целью обеспечения кардиомиоцитов энергией в условиях дефицита кислорода.

При сравнении интактных животных разных возрастных групп (10 и 24 мес) обнаружено достоверное снижение содержания АТФ ( $664,54 \pm 14,49$  и  $529,03 \pm 7,36$  мкмоль/л, соответственно,  $p < 0,01$ ) и АДФ в эритроцитах ( $315,11 \pm 8,78$  и  $219,40 \pm 8,56$  мкмоль/л, соответственно,  $p < 0,01$ ), АТФ в сыворотке крови ( $200,08 \pm 3,47$  и  $177,09 \pm 4,03$  мкмоль/л, соответственно,  $p < 0,01$ ) и в гомогенате миокарда у старых крыс ( $3,08 \pm 0,24$  и  $2,03 \pm 0,09$  мкмоль/л, соответственно,  $p < 0,01$ ), что может быть связано с достоверным угасанием активности митохондриальных ферментов сукцинатдегидрогеназы ( $17,82 \pm 1,10$  и  $10,46 \pm 0,44$  нмоль/мг в мин, соответственно,  $p < 0,01$ ), цитратсинтазы ( $3,94 \pm 0,23$  и  $2,72 \pm 0,28$  нмоль/мг в мин, соответственно,  $p < 0,01$ ), пируватдегидрогеназы ( $31,04 \pm 0,89$  и  $22,92 \pm 1,09$  мкмоль/НАД/мг в мин, соответственно,  $p < 0,01$ ), и, таким образом, со снижением интенсивности окислительно-восстановительных реакций. С возрастом также достоверно уменьшается захват лактата миокардом (как видно из данных табл. 1, снижается содержание лактата в миокарде и повышается в крови) и нарушается стабильность цитоплазматических мембран кардиомиоцитов, о чем свидетельствует появление органоспецифических ферментов в сыворотке крови (КФК-МВ и ЛДГ1) у старых крыс даже в интактном состоянии.

При моделировании ИБС у крыс в возрасте 24 мес направленность метаболических процессов оказалась такой же, как и у 10-месячных животных с экспериментальной ишемией миокарда, с явлениями усугубления метаболических нарушений, увеличения степени тканевой гипоксии и дестабилизации мембран кардиомиоцитов.

Введение милдроната 10-месячным крысам привело к достоверному повышению концентрации АТФ в сыворотке крови, эритроцитах и гомогенате миокарда практически до уровня интактных крыс, что свидетельствует об устранении энергодефицита, вызванного ишемией. Параллельно наблюдали достоверное снижение уровня 2,3-ДФГ в эритроцитах как признак существенного уменьшения степени тканевой гипоксии. В сыворотке крови обнаружили значительное снижение концентрации органоспецифических миокардиальных ферментов КФК-МВ и ЛДГ1, что говорит об уменьшении «утечки» ферментов из цитоплазмы клеток в результате стабилизации мембран кардиомиоцитов. В сыворотке крови обнаружили достоверное снижение концентрации пирувата, а в митохондриях — активацию пируватдегидрогеназы, что свидетельствует о стимуляции процесса окислительного декарбоксилирования пирувата.

Таблица 1. Показатели метаболизма миокарда у крыс 10 и 24 месяцев в норме, при экспериментальной ИБС и на фоне введения милдроната (M±m)

Показатели		Интактные крысы 10 мес, n=6	Крысы с ИБС 10 мес, n=5	Крысы с ИБС 10 мес + милдронат, n=5	Интактные крысы 24 мес, n=6	Крысы с ИБС 24 мес, n=5	Крысы с ИБС 24 мес + милдронат, n=5
Эритроциты	АТФ, мкмоль/л	664,54±14,49 <sup>ΔΔ</sup>	594,44±5,75 <sup>**§</sup>	638,88±14,96 <sup>Δ</sup>	529,03±7,36 <sup>ΔΔ§§</sup>	474,09±8,94 <sup>**</sup>	480,12±5,33 <sup>**</sup>
	АДФ, мкмоль/л	315,11±8,78	330,53±16,05	319,27±7,51	219,40±8,56 <sup>§</sup>	241,95±12,44	250,84±5,65 <sup>*</sup>
	2,3ДФГ, мкмоль/л	4,82±0,29 <sup>ΔΔ§</sup>	7,21±0,32 <sup>**§§</sup>	5,70±0,18 <sup>*ΔΔ</sup>	3,30±0,17 <sup>ΔΔ§§</sup>	5,92±0,16 <sup>**§§</sup>	4,68±0,22 <sup>**ΔΔ</sup>
Сыворотка крови	АТФ, мкмоль/л	200,08±3,47 <sup>ΔΔ</sup>	162,81±4,57 <sup>**§§</sup>	192,32±5,36 <sup>ΔΔ</sup>	177,09±4,03	166,99±4,46	167,29±2,03
	АДФ, мкмоль/л	75,92±1,58	79,31±1,13	77,33±2,29	87,31±1,43	87,51±2,69	83,25±1,46
	Пируват, мкмоль/л	58,59±2,26	59,95±1,02 <sup>§</sup>	53,44±1,99 <sup>Δ</sup>	62,75±1,70 <sup>ΔΔ§</sup>	52,06±1,43 <sup>**§§</sup>	68,44±0,67 <sup>*ΔΔ</sup>
	Лактат, мкмоль/л	0,50±0,03	0,62±0,14 <sup>§§</sup>	0,59±0,03	0,73±0,04 <sup>ΔΔ§§</sup>	0,99±0,03 <sup>**§§</sup>	0,10±0,00 <sup>**ΔΔ</sup>
	КФК-МВ, мккатол/л	0±0 <sup>ΔΔ</sup>	0,25±0,04 <sup>**§§</sup>	0±0 <sup>ΔΔ</sup>	0,09±0,01 <sup>ΔΔ§§</sup>	0,33±0,02 <sup>**§§</sup>	0,20±0,01 <sup>**ΔΔ</sup>
	ЛДГ <sub>1</sub> , мккатол/л	0,02±0,00 <sup>ΔΔ§§</sup>	0,09±0,01 <sup>**§§</sup>	0,05±0,00 <sup>**ΔΔ</sup>	0,04±0,00 <sup>ΔΔ</sup>	0,11±0,00 <sup>**</sup>	0,21±0,13
Митохондрии	СДГ, нмоль/мг в мин	17,82±1,10 <sup>ΔΔ§</sup>	11,83±0,47 <sup>**</sup>	13,68±0,65 <sup>*</sup>	10,46±0,44 <sup>ΔΔ§§</sup>	7,74±0,21 <sup>**</sup>	7,52±0,33 <sup>**</sup>
	ЦС, нмоль/мг в мин	3,94±0,23 <sup>ΔΔ§</sup>	2,38±0,21 <sup>**§</sup>	3,12±0,10 <sup>*Δ</sup>	2,72±0,28 <sup>Δ</sup>	1,92±0,05 <sup>*</sup>	2,25±0,24
	ПДГ, мкмольНАД/мг в мин	31,04±0,89 <sup>ΔΔ§§</sup>	21,68±0,90 <sup>**§§</sup>	27,30±0,45 <sup>**ΔΔ</sup>	22,92±1,09 <sup>Δ§</sup>	19,51±0,66 <sup>**§§</sup>	26,76±0,94 <sup>*ΔΔ</sup>
Гомогенат миокарда	Гексокиназа, мкмоль/мг белка·час	27,38±1,20 <sup>ΔΔ§</sup>	36,22±0,54 <sup>**</sup>	32,30±1,72 <sup>*</sup>	27,91±0,76 <sup>ΔΔ</sup>	33,33±1,59 <sup>**</sup>	29,30±1,46
	КФК, мккатол/г белка в час	106,13±18,71	138,95±1,24 <sup>§§</sup>	122,12±1,82 <sup>ΔΔ</sup>	120,25±3,71 <sup>§§</sup>	129,21±7,62	138,98±4,22 <sup>**</sup>
	ФФК, ммоль/мг белка в в час	12,97±0,54 <sup>ΔΔ§§</sup>	16,38±0,71 <sup>**§</sup>	18,87±0,71 <sup>**Δ</sup>	12,01±0,67 <sup>ΔΔ§§</sup>	19,47±0,40 <sup>**</sup>	16,71±1,15
	Пируват, мкмоль/г ткани	0,16±0,01	0,19±0,01	0,18±0,01	0,14±0,01 <sup>§§</sup>	0,14±0,00 <sup>§§</sup>	0,17±0,00 <sup>**ΔΔ</sup>
	Лактат, мкмоль/г ткани	3,10±0,34 <sup>Δ§§</sup>	2,09±0,24 <sup>§§</sup>	4,48±0,19 <sup>**ΔΔ</sup>	2,60±0,22 <sup>Δ§§</sup>	1,66±0,20 <sup>**§§</sup>	4,84±0,17 <sup>**ΔΔ</sup>
	АТФ, мкмоль/л	3,08±0,24 <sup>ΔΔ</sup>	1,18±0,08 <sup>**§§</sup>	3,16±0,09 <sup>ΔΔ</sup>	2,03±0,09 <sup>ΔΔ</sup>	1,06±0,03 <sup>**§§</sup>	2,30±0,17 <sup>ΔΔ</sup>

Примечание. АТФ – аденозинтрифосфат, АДФ – аденозиндифосфат, 2,3-ДФГ – 2,3-дифосфоглицерат, КФК-МВ – МВ-фракция креатинфосфокиназы, ЛДГ<sub>1</sub> – лактатдегидрогеназа (1 тип), СДГ – сукцинатдегидрогеназа, ЦС – цитратсинтаза, ПДГ – пируватдегидрогеназа, КФК – креатинфосфокиназа, ФФК – фосфофруктокиназа. Достоверность различий: \*p<0,05; \*\* p<0,01 в сравнении с интактными крысами аналогичного возраста; <sup>Δ</sup> p<0,05; <sup>ΔΔ</sup> p<0,01 в сравнении с группой ИБС того же возраста; <sup>§</sup>p<0,05; <sup>§§</sup>p<0,01 в сравнении с группой ИБС+милдронат того же возраста.

В митохондриях также выявили достоверную активацию цитратсинтазы и незначительную активацию сукцинатдегидрогеназы. Полученные данные говорят о мягкой стимуляции процессов окислительного фосфорилирования, что, с одной стороны, обеспечивает клетку энергией, но, с другой, использует только тот кислород, который имеется в наличии, не повышая потребности к нему в условиях тканевой гипоксии. Можно сказать, что милдронат действует весьма гармонично, активируя аэробные процессы энергообеспечения кардиомиоцитов соответственно степени снижения тканевой гипоксии. Кроме того, установлены признаки активации анаэробных механизмов извлечения энергии из углеводов в виде стимуляции процесса гликолиза, о чем свидетельствует повышение активности фосфофруктокиназы, а также повышение захвата лактата миокардом. Таким образом, милдронат у крыс молодого возраста с ишемией миокарда активирует гликолиз, окислительное фосфорилирование и окислительное декарбоксилирование, стабилизирует мембраны кардиомиоцитов, существенно уменьшает степень гипоксии, вследствие

чего восстанавливается исходный уровень АТФ и осуществляется адекватное энергообеспечение миокарда.

У старых крыс с экспериментальной ишемией миокарда введение милдроната приводило к определенной метаболической коррекции с той же направленностью процесса, что и у молодых животных, но с несколько меньшей степенью выраженности. Так, концентрация АТФ восстанавливалась только в миокарде, а в сыворотке крови и эритроцитах не изменялась. Содержание 2,3-ДФГ в эритроцитах снижалось достоверно, но не до уровня интактных крыс соответствующего возраста, что свидетельствует об уменьшении степени гипоксии, но без полной ее ликвидации. Концентрация органоспецифических миокардиальных ферментов в сыворотке крови (КФК-МВ и ЛДГ<sub>1</sub>) изменялась неоднонаправленно: уровень КФК-МВ снижался достоверно, без достижения значений такового у интактных крыс, а уровень ЛДГ<sub>1</sub> недостоверно повышался, что говорит об общей тенденции к стабилизации мембран кардиомиоцитов, но без полного восстановления целостности последних. Энергообеспечение миокарда под действием милдроната

у старых крыс менялось в сторону активации процессов гликолиза (существенное увеличение захвата лактата миокардом), окислительного декарбоксилирования пирувата (активация пируватдегидрогеназы митохондрий) и субстратного фосфорилирования (активация КФК миокарда) без дополнительной стимуляции окислительного фосфорилирования (отсутствие изменения активности митохондриальных ферментов цикла Кребса сукцинатдегидрогеназы и цитратсинтазы), что является весьма целесообразным и экономичным с точки зрения сбережения энергии в условиях нарастающей тканевой гипоксии в старости.

Анализ особенностей влияния милдроната на метаболизм кардиомиоцитов при экспериментальной ишемии миокарда у молодых и старых крыс приводит к мысли, как уже было сказано выше, об удивительной гармоничности изменений. Объяснением полученным данным может послужить механизм действия милдроната. Данный лекарственный препарат блокирует биосинтез карнитина из  $\gamma$ -бутиробетаина, вследствие чего возникает двойной позитивный эффект [11, 12]. Во-первых, уменьшается концентрации карнитина — переносчика жирных кислот через митохондриальные мембраны, что обуславливает кислородсберегающие эффекты препарата [11, 12]. Во-вторых, увеличивается концентрация  $\gamma$ -бутиробетаина, который раздражает ацетилхолиновые рецепторы и стимулирует биосинтез оксида азота (NO) — медиатора NO-эргической стресс-лимитирующей системы, универсального регулятора процесса адаптации [11–14]. В наших предыдущих клинических исследованиях была показана способность милдроната оказывать адаптогенный эффект через регуляцию биосинтеза NO [15]. Возможно, данный механизм вносит свой определенный вклад в реализацию столь эффективного влияния препарата на метаболизм кардиомиоцитов в условиях ишемии миокарда как у молодых, так и у старых крыс. Ограничение адаптационных возможностей клеток к восстановлению своих энергетических и пластических

ресурсов в старости обуславливает снижение возможностей милдроната корректировать метаболизм при ишемии миокарда у старых животных.

### Заключение

Милдронат у крыс молодого возраста (10 мес) с ишемией миокарда активирует гликолиз, окислительное фосфорилирование и окислительное декарбоксилирование пирувата, стабилизирует мембраны кардиомиоцитов, существенно уменьшает степень гипоксии, вследствие чего восстанавливается исходный уровень АТФ и осуществляется адекватное энергообеспечение миокарда.

Введение милдроната старым крысам (24 мес) с экспериментальной ишемией миокарда сопровождается менее выраженными изменениями метаболизма: активацией гликолиза и окислительного декарбоксилирования пирувата без стимуляции ферментов цикла Кребса, что является достаточным для восстановления пула АТФ в миокарде без изменения его содержания в сыворотке крови и эритроцитах, с признаками стабилизации мембран кардиомиоцитов и умеренного уменьшения степени тканевой гипоксии.

Милдронат весьма гармонично корректирует метаболизм кардиомиоцитов при экспериментальной ишемии миокарда с учетом исходного энергетического статуса, степени тканевой гипоксии и возраста животных.

*Работа выполнена при поддержке гранта Белгородского государственного национального исследовательского университета: проект № 419112011 от 17 января 2012 г. «Клинико-фармакологические подходы к персонализации назначения препаратов метаболического ряда при лечении пациентов с ишемической болезнью сердца», выполняемый вузом в рамках государственного задания.*

45

### ЛИТЕРАТУРА

1. Харченко В.И., Какорина Е.П., Корякин М.В., Вирин М.М., Шарапова Г.А. Сверхсмертность населения Российской Федерации от болезней системы кровообращения по сравнению с развитыми странами. *Проблемы прогнозирования*. 2006; 12 (5): 138–151.
2. Ратманова А. Сердечно-сосудистая заболеваемость и смертность — статистика по европейским странам (2008). *Medicine Review*. 2009; 6 (1): 6–12.
3. Диагностика и лечение стабильной стенокардии. Российские рекомендации (второй пересмотр). Разработаны Комитетом экспертов Всероссийского научного общества кардиологов. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2008; 7 (8): 40.
4. Асташкин Е.И. Коррекция энергетического обмена в миокарде — новое направление в лечении сердечно-сосудистых заболеваний. *Сердце и метаболизм*. 2008; 21: 1–3.
5. Мазур Н.А. Терапия больных хронической ишемической болезнью сердца и реальное состояние проблемы в практическом здравоохранении. *Клинич. медицина*. 2007; 8: 19–25.
6. Гаман Д.В., Конопенко М.И., Тюбка Т.Ю. Особенности морфофункциональной ультраструктуры сердца при экспериментальной ишемии миокарда. *Укр. биофармацевтический журн*. 2011; 10 (5): 16–20.
7. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. Докл. АН СССР. 1979; 6: 1513–1516.
8. Практикум по биохимии. Под ред. проф. Н.П. Мешковой, С.Е. Северина. М.: Изд-во МГУ. 1979. 485 с.
9. Мранова И.С. Определение 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах. *Лабораторное дело*. 1975; 7: 652–654.
10. Методы биохимических исследований. Под ред. проф. М.И. Прохоровой. Ленинград: Изд-во ЛГУ. 1982. 270 с.
11. Калвиньш И.Я. Милдронат и механизмы оптимизации клеточного производства энергии в условиях кислородного голодания. Цереброкardiaльная патология — новое в диагностике и лечении: Мат-лы III Междунар. Симпозиума. Судак. 2001. С. 3–16.
12. Калвиньш И.Я. Синтез и биологическая активность нового биорегулятора — милдроната. *Эксперим. и клинич. фармакотерапия*. 1991; 19: 7–14.
13. Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота. *Биохимия*. 1998; 63 (7): 992–1006.
14. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю. Стресс-лимитирующая система оксида азота. *Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова*. 2000; 86 (10): 1283–1292.
15. Гейченко В.П., Курята А.В., Мужчиля (Ромашенко) О.В. Сердечная недостаточность. Механизмы развития, роль нарушений метаболизма и адаптации, стратегии лечения: Монография. Днепрпетровск: Лира-ЛТД. 2007. 216 с.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Кукес Владимир Григорьевич**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАМН, заведующий кафедрой клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, директор Института клинической фармакологии НЦ ЭСМП Росздравнадзора, директор филиала «Клиническая фармакология» НЦ биомедицинских технологий РАМН

**Адрес:** 119048, Москва, ул. Трубецкая, д. 8

**Жернакова Нина Ивановна**, доктор медицинских наук, профессор, декан медицинского факультета Белгородского государственного национального исследовательского университета

**Адрес:** 308015, Белгород, ул. Победы, д. 85

**Горбач Татьяна Викторовна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии Харьковского государственного медицинского университета

**Адрес:** Украина, 61022, Харьков, проспект Ленина, д. 4

**Ромащенко Олеся Викторовна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии и фармакологии Белгородского государственного национального исследовательского университета

**Адрес:** 308015, Белгород, ул. Победы, д. 85; **E-mail:** Romashenko@bsu.edu.ru

**Румбешт Вадим Валерьевич**, кандидат технических наук, доцент кафедры математического и программного обеспечения информационных систем Белгородского государственного национального исследовательского университета

**Адрес:** 308015, Белгород, ул. Победы, д. 85

М.А. Афанасьев, С.Л. Кузнецов

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

## Эффекты реальной и моделируемой микрогравитации на некоторые структурно-метаболические параметры скелетных мышц

*В настоящей работе обобщены результаты экспериментов с реальными и моделируемыми эффектами невесомости на двигательный аппарат человека и других млекопитающих. В частности, проанализировано ее влияние на скоростно-силовые характеристики скелетных мышц в зависимости от их метаболической активности.*

**Ключевые слова:** микрогравитация, мышечные волокна, энергетические субстраты.

Современные проблемы влияния космических полетов на организм человека, связанные с длительным пребыванием в необычных для него условиях, а также усложнением работы, выполняемой экипажем на борту, и трудность адаптации астронавтов после возвращения на Землю, составляют одну из главных задач авиакосмической медицины. Для их решения необходимо максимально подробное изучение морфофункциональных изменений, происходящих в организме при воздействии гравитационной разгрузки.

Эволюция двигательной системы — результат противоборства живых организмов с гравитацией, приведший к формированию мощного скелета, достаточно сильной мышечной системы, действующей на него, а также эффективных сенсомоторных систем, позволяющих, воспринимая информацию об изменяющейся обстановке окружающей среды, управлять движениями, адаптируясь к ней.

Изучение воздействия невесомости на двигательный аппарат организма животных (в т.ч. человека) как наиболее гравитационно-зависимого является предметом особого раздела физиологии двигательной системы, получившего свое активное развитие в связи с началом эры космических полетов, — гравитационной физиологии. Одновременно с этим изучение влияния микрогравитации на организм в целом занимает одно из центральных направлений авиакосмической биологии и медици-

ны как прикладной науки. Кроме того, профилактика и коррекция схожих изменений (в частности, снижение скоростно-силовых характеристик мышц, их выносливости), наблюдающихся после длительной постельной гипокинезии, является важным моментом в реабилитации группы пациентов, находящихся на продолжительном постельном режиме.

Изучение влияния микрогравитации в условиях эксперимента реализуется по 4 путям:

- реальный космический полет — воспроизводит все эффекты невесомости;
- вывешивание животного в антиортостатическом (головой вниз) положении; при этом объем движений, в отличие от первого пути, почти не ограничен [1, 2];
- антиортостатическая гипокинезия; в этой модели имеет место перераспределение опоры вместо стоп на более широкие области тела;
- метод «сухой иммерсии» — наиболее близкий к космическому полету по влиянию на двигательную систему, поскольку в полной мере воспроизводит безопорность и механическую разгрузку [3].

Вестибулярные расстройства ни один из последних 3 путей не воспроизводит.

Для изучения состава мышечных волокон использовались 2 основных способа получения биоматериала: у человека (у космонавтов, здоровых добровольцев после «сухой иммерсии») брали биопсию исследуемых мышц,

M.A. Afanasyev, S.L. Kuznetsov

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russian Federation

## Effects of a real and modeled microgravity influencing on some structural and metabolic parameters of skeletal muscles

*The aim of present publication is summarization of experimental results on real and modeled effects of zero gravity on the impellent device of a man and other mammals. In particular, its effects on high-speed and power characteristics of skeletal muscles depending on their metabolic activity are analyzed.*

**Key words:** microgravity, muscle fibres, energetic substrates.

у лабораторных животных — посредством изъятия целой мышцы с последующей их эвтаназией. Полученный биоматериал либо готовили с использованием традиционных гистологических методик (парафинизация, проведение через батарею спиртов), либо сразу же замораживали в жидком азоте и впоследствии готовили криостатные срезы. Полученные мышечные микропрепараты окрашивали в зависимости от изучаемого параметра различными способами [4–7].

Все скелетные мышцы условно принято делить на «быстрые» и «медленные», в зависимости от преобладающего типа волокон, входящих в их состав. «Медленные» мышцы (камбаловидная, трехглавая мышца плеча) главным образом состоят из медленно сокращающихся окислительных волокон (волокна типа I). К «быстрым» мышцам, содержащим в основном быстро сокращающиеся волокна двух типов с окислительным и гликолитическим типом метаболизма (соответственно, тип Па и тип Пб), относится большинство мышц организма млекопитающих. В соответствии с этим в разных типах мышечных волокон присутствует различное количество энергетических субстратов. Эти особенности, обуславливающие в том числе механо-функциональные свойства волокон, определяются типом экспрессируемой изоформы молекул миозина. Так, в «быстром» волокне экспрессируется миозин быстрого типа и, наоборот, в «медленном» — миозин медленного типа [8]. Миозиновые изоформы имеют различную АТФазную активность, что, несомненно, влияет на физиологические характеристики мышечных волокон, в которых они экспрессируются, обеспечивая молекулярные основы функционального разнообразия мышечных волокон [9]. Волокна «медленного» типа содержат большое число митохондрий и много миоглобина, поскольку они характеризуются окислительным типом метаболизма, при котором происходит аэробный распад энергетических субстратов. Соответственно, в этих волокнах количество триглицеридов значительно превышает количество гликогена. В свою очередь, в «быстрых» волокнах мышц (тип Пб), напротив, отмечается сравнительно небольшое число митохондрий, миоглобина и оксидативных ферментов. Это обусловлено тем, что преимущественный тип метаболизма в данных волокнах — анаэробное окисление глюкозы (гликолиз). В связи с этим главными энергетическими субстратами для волокон типа Пб являются запасы полисахаридов. Следовательно, в «быстрых» волокнах имеет место относительно высокое содержание гликогена и низкое — жиров. Волокна типа Па, занимающие промежуточное положение между крайними типами (I и Пб), как было показано, имеют смешанный энергетический обмен [10].

Скелетные мышцы задних конечностей, выполняющие прежде всего разгибательную функцию, затрагиваются при космических полетах больше, чем мышцы, осуществляющие функцию сгибания [11]. Хотя оба вида мышечных волокон истощаются после полета, медленно сокращающиеся волокна более восприимчивы к нему, нежели сокращающиеся быстро [12]. Это было продемонстрировано в более ранних экспериментах по изучению активности цитратсинтазы в волокнах I типа, выполненных коллективами зарубежных авторов [13, 14]. Кроме того, группой российских исследователей было показано, что при гравитационной разгрузке наблюдается снижение сократительных свойств мышц и выносливости [15].

В одном из исследований установили, что следствие устранения опорной нагрузки — снижение активности «медленных» двигательных (моторных) единиц, что в свою очередь неизбежно приводит к бездействию или обездвиживанию мышечных волокон соответствующего типа [16]. Вместе с тем в отсутствии физических нагрузок, что, в частности, встречается в условиях невесомости и при антиортостатической гипокинезии, в скелетных мышцах наблюдается гипотрофия вплоть до полной атрофии. К тому же, как было продемонстрировано ранее на примере камбаловидной мышцы, содержащей до 90–95% «медленных» волокон, при гипокинезии происходит детренированность скелетных мышц и снижение их работоспособности [17].

Интересным представляется сравнение эффектов реальной и моделируемой невесомости на содержание гликогена в волокнах камбаловидной мышцы. Продолжительная антиортостатическая (постельная) гипокинезия людей (bed rest) приводит к накоплению некоторых энергетических субстратов в камбаловидной мышце. Так, в эксперименте с 17-суточным реальным космическим полетом и 17-суточным бездремом (bed rest) сравнивали содержание гликогена в волокнах камбаловидной мышцы человека [18]. Оказалось, что после бездрема происходит увеличение количества гликогена в волокнах обоих типов камбаловидной мышцы. В то же самое время авторами отмечено, что реальный полет не сопровождается колебаниями уровня гликогена в волокнах типа I («медленных»), и снижением такового в волокнах типа II, что, по их мнению, могло быть связано с особенностями пищевого рациона астронавтов, его энергетической ценностью. На последнее указывает снижение веса астронавтов. В противоположность этому, в другом исследовании, выполненном на лабораторных животных (крысах), было показано, что после их полета на спутниках происходит накопление гликогена в камбаловидной мышце [19, 20].

Одновременно с этими данными авторами было обнаружено накопление другого субстрата — триглицеридов (жиров) — после 17-суточного полета в волокнах камбаловидной мышцы [19] и широкой мышцы бедра [20].

В отсутствии физических нагрузок вообще и в условиях невесомости (т.н. гравитационная разгрузка) и гипокинезии в частности в скелетных мышцах наблюдается гипотрофия вплоть до полной атрофии, выражающаяся в снижении площади поперечного сечения мышечных волокон и уменьшении содержания мышечных белков [11, 21, 22]. Особенно сильно это выражено в гравитационно-зависимых мышцах (например, в камбаловидной). Показано также, что при гравитационной разгрузке, вероятно, в результате атонии, снижается интенсивность протеосинтеза мышечных белков и усиливается протеолиз [23, 24]. Вместе с тем для волокон быстросокращающихся мышц были установлены иные закономерности. Так, Widrick J.J. и соавт., изучив волокна икроножных мышц астронавтов-мужчин после 17-суточного космического полета, сообщили что данное воздействие не приводит к существенной их атрофии (снижению диаметра волокон) и потере абсолютной силы сокращения [25], но сопровождается повышением скорости сокращения скинированных (одиночных) мышечных волокон.

В одном из исследований на самцах крыс линии Sprague–Dawley зарубежными авторами было продемонстрировано, что 6-дневный космический полет приводит к следующим изменениям в камбаловидной мышце:



уменьшению максимального изометрического напряжения, увеличению максимальной скорости сокращения (укорочения), а также к экспрессии *de novo* изоформы типа IIх тяжелых цепей миозина (ТЦМ) на фоне незначительно экспрессии ТЦМ типа I и IIa [26]. Здесь же было показано небольшое увеличение числа «быстрых» волокон относительно «медленных» при одновременно выраженной атрофии последних. Таким образом, по заключению авторов, сократительные свойства изучаемой мышцы оказываются высокочувствительными к условиям микрогравитации; полученные изменения частично можно объяснить вариабельностью экспрессии сократительного белка.

Атрофия мышц, понимаемая как редукция мышечной массы, является естественным и постоянным следствием пребывания млекопитающего в условиях гипокинезии различного характера, гравитационной разгрузки (реальной или моделируемой) или иммобилизации мышцы. Эта редукция, как было отмечено выше, сопровождается снижением сократительных возможностей как целой мышцы, так и ее отдельных волокон.

Атрофия камбаловидной мышцы при вывешивании (разгрузке) задних конечностей у крыс происходит, как правило, за счет уменьшения размеров мышечных волокон, а не их числа [27]. Если через 7 сут вывешивания атрофия волокон I типа в этой мышце выражена не более, чем волокон II типа, и составляет примерно 35–45%, то в дальнейшем она оказывается более существенной и достигает 60–70%, тогда как у мышечных волокон II типа она остается примерно на прежнем уровне [28, 29]. Уменьшение размеров мышечных волокон обнаружено также после пребывания крыс в реальном космическом полете.

Показано, что площадь поперечного сечения отдельных мышечных волокон в большей степени уменьшается в медленно, чем в быстро сокращающихся волокнах, причем как в реальной космической обстановке, так и при ее моделировании на Земле [30]. Именно уменьшение площади волокон является одним из наиболее известных последствий пребывания млекопитающих в условиях реальной и моделируемой невесомости. К тому же, было доказано, что общая активность сукцинатдегидрогеназы (т.е. активность сукцинатдегидрогеназы — площадь поперечного сечения волокна) существенно снижается в медленно сокращающихся волокнах при космическом полете и в быстро сокращающихся волокнах при антиортостатическом вывешивании крыс (главным образом из-за атрофии волокна) [31]. В то же время А. Ishihara и соавт. было установлено, что площадь поперечного сечения всех типов мышечных волокон меньше у вывешенных крыс линии **WISTAR—Hannover**, чем у контрольных животных, а активность сукцинатдегидрогеназы во всех типах волокон не изменяется после 16-суточного антиортостатического вывешивания [32].

Известно, что при уменьшении механической активности мышц происходит их атрофия и соотношение волокон, содержащих «быстрые» и «медленные» изоформы ТЦМ, меняется в «быструю» сторону [33, 34]. Установлена преимущественная инактивация двигательных (моторных) единиц медленного типа в условиях гравитационной разгрузки [22, 35–37].

Было обнаружено увеличение электромиографического ответа постуральных синергистов мышц конечностей при искусственной стимуляции опорных зон стопы методом оказания пневматического давления на стопу

во время космического полета [38–40]. Весовая нагрузка на мышцы при этом отсутствовала. Показано, что сама опорная стимуляция целиком или частично предотвращает атрофию скелетных мышц при реальной или моделируемой гравитационной разгрузке в отсутствие нагруженного сокращения мышцы. Однако осталось невыясненным, предотвращает ли такое профилактическое воздействие изменение соотношения тяжелых цепей миозина в «быструю» сторону. Вопрос о соотношении вклада центрального и локального уровня регуляции мышечной деятельности в поддержание ее миозинового фенотипа остается открытым.

Известно, что камбаловидная мышца в условиях постгипокинетической реадaptации испытывает весьма существенные нагрузки вплоть до значительного вклада эксцентрического компонента. В ряде экспериментальных работ было установлено, что опорная стимуляция, проводимая на фоне антиортостатической разгрузки, предотвращает атрофию камбаловидной мышцы [14, 41].

Пребывание в условиях реальной или смоделированной микрогравитации приводит к развитию структурно-функциональных изменений волокон постуральных мышц вследствие снижения их сократительной активности. Так, недавно было показано, что продолжительная моделируемая гравитация (3 мес и более) помимо дистрофических изменений в волокнах поперечно-полосатых мышц ведет к их дегенерации и развитию жировой дистрофии [42]. Сократительная активность мышечных волокон может быть оценена по накоплению или истощению внутриклеточных энергетических субстратов, таких как триглицериды и гликоген. В одной из таких работ, выполненной на самцах крыс Wistar [43], было исследовано внутриклеточное содержание энергетических субстратов в волокнах разного типа, как в камбаловидной (постуральной) мышце, так и в ее основном антагонисте — передней большеберцовой мышце при 3- и 14-суточном вывешивании крыс в антиортостатическом положении, и проведено сопоставление полученных изменений с электромиографической активностью этих мышц [44, 45]. В результате эксперимента выявлено небольшое увеличение содержания триглицеридов в «быстрых» волокнах передней большеберцовой мышцы после 3 сут вывешивания и дальнейшее их накопление в течение 14 сут. В «медленных» волокнах передней большеберцовой мышцы накопление триглицеридов было незначительным. Одновременно в камбаловидной мышце отмечалась тенденция к нарастанию содержания жиров после 3-суточного вывешивания в «быстрых» волокнах и снижению на 14-е сут вывешивания. В «медленных» волокнах этой мышцы содержание триглицеридов практически не изменилось. В то же время в этом же исследовании было показано снижение содержания полисахарида гликогена в «быстрых» и «медленных» волокнах камбаловидной мышцы и в «быстрых» волокнах передней большеберцовой мышцы в результате 3-суточного вывешивания. К 14-м сут моделируемой в наземных условиях разгрузки содержание гликогена в обеих мышцах практически не отличалось от значений, полученных в контрольной группе. В данной работе впервые была проанализирована внутриклеточная концентрация энергетических маркеров в «быстрых» и «медленных» волокнах мышц-антагонистов при 3- и 14-суточном антиортостатическом вывешивании лабораторных животных.

В то же время механическая стимуляция опорных зон стопы в режимах естественной локомоции предотвращает

большинство негативных эффектов на мышцы, включая их атрофию [16].

Резюмируя сказанное выше, следует еще раз подчеркнуть, что и реальная, и моделируемая гравитационная разгрузка значимо меняют параметры энергообмена в волокнах скелетных мышц, особенно в т.н. антигравитационных (например, в камбаловидной). Это выражается в изменении содержания таких энергетических субстратов, как полисахариды и жирные кислоты. Вместе с тем регуляторные механизмы данных метаболических сдвигов до сих пор не в полной мере раскрыты. Не исключено, что такие трансформации обусловлены физиологической

активностью митохондрий, в которых происходит заключительный этап окисления энергетических субстратов. В свою очередь, функции митохондрий зависят от такого цитоскелетного белка (белка промежуточных филаментов мышечных волокон), как десмин, определяющего локализацию митохондрий в мышечных волокнах. Концентрация последнего, как было показано, регулирует  $Ca^{2+}$ -зависимые протеазы — кальпаины [46].

В заключении отметим, что изучение процессов, происходящих в скелетной мышце в условиях отсутствия нагрузки, имеет огромное прикладное значение как для клинической, так и для профилактической медицины.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Ильин Е.А., Новиков В.Е. Стенд для моделирования физиологических эффектов невесомости в лабораторных экспериментах с крысами. *Косм. биол. и авиакосм. мед.* 1980; 14 (3): 79–80.
- Morey E.R., Sabelman E.E., Turner R.T., Baylink D.J. A new model simulating some aspects of spaceflight. *The Physiologist.* 1979; 22: 23–24.
- Шульженко Е.Б., Виль-Вильямс И.Ф. Возможность проведения длительной водной иммерсии методом «сухого» погружения. *Косм. биол. и авиакосм. мед.* 1976; 10: 82–84.
- Beckett E.B., Bourne G.H. Some observations on normal and pathological human muscle, using a combined McManus Periodic acid-Schiff reaction and Sudan Black stain on gelatine sections. *Acta Anat.* 1956; 34 (1–2): 111–124.
- Lippi U., Burlina A. On the histochemical possibilities of revealing connective fibrillar structures with Sudan B black. *Riv. Anat. Patol. Oncol.* 1960; 17: 555–563.
- Koopman R., Schaart G., Hesselink M.K. Optimization of oil red O staining permits combination with immunofluorescence and automated quantification of lipids. *Histochem. Cell Biol.* 2001; 116 (1): 63–68.
- Schaart G., Hesselink R.P., Keizer H.A., van Kranenburg G., Drost M.R., Hesselink M.K. A modified PAS stain combined with immunofluorescence for quantitative analyses of glycogen in muscle sections. *Histochem. Cell Biol.* 2004; 122 (1): 161–169.
- Pette D., Staron R.S. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 1990; 116: 71–76.
- Schiaffino S., Gorza L., Sartore S., Saggin L., Ausoni S., Vianello M., Gundersen K., Lomo T. Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal muscle fibres. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 1989; 10: 197–205.
- Mochan W.L., Brudny V.L. Comment on «noncausal time response in frustrated total internal reflection?» *Phys. Rev. Lett.* 2001; 87 (11): 119–121.
- Ohira M., Hanada H., Kawano F., Ishihara A., Nonaka I., Ohira Y. Regulation of the properties of rat hindlimb muscles following gravitational unloading. *Jpn. J. Physiol.* 2002; 52: 235–245.
- Falempin M, Mounier Y. Muscle atrophy associated with microgravity in rat: basic data for countermeasures. *Acta Astronaut.* 1998; 42: 489–502.
- Desplanches D., Mayet M.H., Sempore B., Flandrois R. Structural and functional responses to prolonged hindlimb suspension in rat muscle. *J. Appl. Physiol.* 1987; 63 (2): 558–563.
- Stump C.S., Overton J.M., Tipton C.M. Influence of single hindlimb support during simulated weightlessness in the rat. *J. Appl. Physiol.* 1990; 68: 627–634.
- Kozlovskaya I.B., Kirenskaya A.V. Mechanisms of disorders of the characteristics of fine movements in long-term hypokinesia. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2004; 34 (7): 747–754.
- Григорьев А.И., Козловская И.Б., Шенкман Б.С. Роль опорной афферентации в организации тонической мышечной системы. *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2004; 90 (5): 508–521.
- Templeton G.H., Padalino M., Manton J., Glasberg M., Silver C.J., Silver P., DeMartino G., Leconey T., Klug G., Hagler H. Influence of suspension hypokinesia on rat soleus muscle. *J. Appl. Physiol.* 1984; 56 (2): 278–286.
- Fitts R.H., Riley D.R., Widrick J.J. Microgravity and skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 2000; 89: 823–839.
- Grichko V.P., Heywood-Cooksey A., Kidd K.R., Fitts R.H. Substrate profile in rat soleus muscle fibers after hindlimb unloading and fatigue. *J. Appl. Physiol.* 2000; 88 (2): 473–478.
- Musacchia X.J., Steffen J.M., Fell R.D., Dombrowski M. J., Oganov V. S., Ilyina-Kakueva E. I. Skeletal muscle atrophy in response to 14 days of weightlessness: vastus medialis. *J. Appl. Physiol.* 1992; 73 (2): 44–50.
- Шенкман Б.С., Немировская Т.Л., Чеглова И.А., Белозерова И.Н., Козловская И.Б. Морфологическая характеристика *m. vastus lateralis* человека в безопорной среде. *Докл. Акад. Наук.* 1999; 364 (4):563–565.
- Ohira Y., Nomura T., Kawano F., Sato Y., Ishihara A., Nonaka I. Effects of nine weeks of unloading on neuromuscular activities in adult rats. *J. Gravit. Physiol.* 2002; 9: 49–60.
- Goldspink D.F., Morton A.J., Loughna P., Goldspink G. The effect of hypokinesia and hypodynamia on protein turnover and the growth of four skeletal muscles of the rat. *Pflugers Archiv.* 1986; 407: 333–340.
- Tesch P.A., von Walden F., Gustafsson T., Linnehan R.M., Trappe T.A. Skeletal muscle proteolysis in response to short-term unloading in humans. *J. Appl. Physiol.* 2008; 105 (3): 902–906.
- Widrick J.J., Romatowski J.G., Norenberg K.M., Knuth S.K., Bain J.L., Riley D.A., Trappe S.W., Trappe T.A., Costill D.L., Fitts R.H. Functional responses of slow and fast human gasrocnemius muscle fibers to a 17 day spaceflight. *J. Appl. Physiol.* 2001; 90: 2203–2211.
- Caiozzo V.J., Baker M.J., Herrick R.E., Tao M., Baldwin K.M. Effects of spaceflight on skeletal muscle: mechanical properties and myosin isoform content of a slow muscle. *J. Appl. Physiol.* 1994; 76: 1764–1777.
- Darr K.C., Schultz E. Hindlimb suspension suppresses muscle growth and satellite cell proliferation. *J. Appl. Physiol.* 1989; 67: 1827–1834.
- Hauschka E.O., Roy P.P., Edgerton V.R. Periodic weight support effects on rat soleus fibers after hindlimb suspension. *J. Appl. Physiol.* 1988; 65 (3): 1231–1237.
- Riley D.A., Slocum G.R., Bain J.L., Sedlac F.R., Sowa T.E., Mellender J.W. Rat hindlimb unloading: soleus histochemistry, ultrastructure and electromyography. *J. Appl. Physiol.* 1990; 69 (1): 58–66.

30. Ohira Y., Jiang B., Roy R.R., Oganov V., Ilyina-Kakueva E., Marini J. F., Edgerton V. R. Rat soleus muscle fiber responses to 14 days of spaceflight and hindlimb suspension. *J. Appl. Physiol.* 1992; 73 (2): 51–57.
31. Flynn D.E., Max S.R. Effects of suspension hypokinesia hypodynamia on rat skeletal muscle. *Aviat. Space Environ. Med.* 1985; 56: 1065–1069.
32. Ishihara A., Ohira Y., Tanaka M., Nishikawa W., Ishioka N., Higashibata A., Izumi R., Shimazu T., Iyata Y. Cell body size and succinate dehydrogenase activity of spinal motoneurons innervating the soleus muscle in mice, rats, and cats. *Neurochem. Res.* 2002; 26: 1301–1304.
33. Martin T.P., Edgerton V.R., Grindlerland R.E. Influence of spaceflight on rat skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 1988; 65: 2318–2325.
34. Оганов В.С. Исследование влияния невесомости на сократительные свойства скелетных мышц различного функционального назначения: нервный контроль структурно-функциональной организации скелетных мышц. *Л.: Наука.* 1980. С. 142–162.
35. Kugelberg E. Histochemical composition, contraction speed and fatiguability of rat soleus motor units. *J. Neurol. Scien.* 1973; 20: 177–198.
36. Picquet F., Canu M.H., Falempin M. Phenotypic changes in the composition of muscular fibres in rat soleus motor units after 14 days of hindlimb unloading. *Pflugers Archiv.* 2000; 440: 229–235.
37. Ohira Y. Neuromuscular adaptation to microgravity. *Jpn. J. Physiol.* 2000; 50: 303–314.
38. Kyparos A., Feedback D.L., Layne C.S., Martinez D.A., Clarke M.S. Mechanical stimulation of the plantar foot surface attenuates soleus muscle atrophy induced by hindlimb unloading in rats. *J. Appl. Physiol.* 2005; 99: 739–746.
39. Nemirovskaya T.L., Shenkman B.S. Influence of single hindlimb support on fiber characteristics of unloaded skeletal muscle. *J. Gravit. Physiol.* 1999; 6: 151–152.
40. Тьяпкина О.В., Бухараева Е.А., Никольский Е.Е. Effects of support unloading on effectiveness of secretion mediator modulation via the autoreceptors system. *Biofizika.* 2006; 51 (5): 827–832.
41. Oganov V.S., Skuratova S.A., Murashko L.M., Shirvinskaia M.A., Siladi T. Change of composition and properties of myofibrillar proteins after space flight. *Biofizika.* 1982; 27 (1): 26–30.
42. Babakova L.L., Krasnov I.B., Pozdniakov O.M. Impact of 3-month simulation of the microgravity effects on the 42. neuromuscular junction structure in rat's m. soleus. *Aviakosm. Ekolog. Med.* 2008; 42 (4): 31–35.
43. Тавитова М.Г., Фокина Н.М., Шенкман Б.С. Содержание энергетических субстратов в волокнах постуральной камбаловидной мышцы и ее антагониста в условиях устранения опоры. *Авиакосм. и экол. мед.* 2011; 45 (1): 55–59.
44. Alford E.K., Roy R.R., Hodgson J.A., Edgerton V.R. Electromyography of rat soleus, medial gastrocnemius and tibialis anterior during hindlimb suspension. *Exp. Neurol.* 1987; 96: 635–649.
45. Alford E.K., Roy R.R., Chiang P.C., Edgerton V.R. Hindlimb suspension effects on integrated electromyographic activity in selected rat hindlimb muscles. *The Physiologist.* 1985; 28: 315.
46. Goll D.E., Thompson V.F., Li H., Wei W., Cong J. The calpain system. *Physiol. Rev.* 2003; 83 (3): 731–801.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Афанасьев Максим Александрович**, аспирант очной формы подготовки кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГБОУ ВПО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова

**Адрес:** 125009, Москва, ул. Моховая, д. 11, стр. 3; **e-mail:** am-mma@mail.ru; **тел.:** (495) 291-15-56

**Кузнецов Сергей Львович**, д.м.н., профессор, член-корр. РАМН, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ГБОУ ВПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

**Адрес:** 125009, Москва, ул. Моховая, д. 11, стр. 3; **e-mail:** kuznetsov@ramn.ru; **тел.:** (495)629-75-69

Д.В. Гарбузенко

Челябинская государственная медицинская академия, Российская Федерация

## Механизмы адаптации сосудистого русла к гемодинамическим нарушениям при портальной гипертензии

*Представлены данные литературы о механизмах структурной перестройки сосудистого русла в ответ на гемодинамические нарушения, обусловленные портальной гипертензией. Несмотря на то, что эти изменения служат компенсаторно-приспособительной реакцией на ухудшающиеся условия кровообращения, они приводят к ее прогрессированию, способствуя развитию тяжелых осложнений, одним из которых являются кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода.*

**Ключевые слова:** цирроз печени, портальная гипертензия, патогенез, ремоделирование сосудов, ангиогенез.

52

Большинство тяжелых осложнений цирроза печени (ЦП) непосредственно связано с характерными для него нарушениями гемодинамики, в основе которых лежит портальная гипертензия (ПГ) [1]. Она развивается в результате повышения печеночного сосудистого сопротивления вследствие разнообразных анатомических и функциональных факторов. Синтез компонентов внеклеточного матрикса приводит к грубым изменениям в архитектонике печени, а сопутствующая этому процессу гипоксия при участии фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) индуцирует патологический ангиогенез. Кроме того, дисфункция эндотелия синусоидов при ЦП нарушает баланс между продуцируемыми его клетками вазоконстрикторами и вазодилататорами, среди которых наиболее изученными в настоящее время являются эндотелин 1 (ЭТ 1) и монооксид азота (NO) [2].

Последующее развитие гипердинамического циркуляторного статуса, несмотря на формирование естественных портосистемных шунтов, способствует прогрессированию ПГ. Возникающие при этом расстройства кровообращения обусловлены как эндотелиальной дисфункцией, так и реструктуризацией сосудистого русла, включающей в себя ремоделирование сосудов и ангиогенез [3].

Термин «ремоделирование», который стали использовать начиная с 80-х гг. прошлого столетия, главным образом в кардиологии, в строгой интерпретации озна-

чает процесс переустройства существующей структуры, когда к ней либо присоединяется новый материал, либо она целиком изменяется [4]. Процесс ремоделирования сосудов представляет собой адаптивную реакцию в ответ на длительные гемодинамические нарушения и включает несколько стадий [5]:

- восприятие сигналов о модификации условий кровообращения и циркулирующих гуморальных факторов;
- передачу сигналов внутри клетки и между соседними клетками;
- синтез, высвобождение или активацию веществ, которые влияют на рост, гибель, миграцию клетки или построение внеклеточного матрикса;
- структурные изменения сосудистой стенки (как клеточного, так и внеклеточного компонента), ее механики и функции.

Эндотелиальные клетки служат основными сенсорами, воспринимающими изменения характера кровотока и воздействие различных гуморальных факторов. Для их постоянной активации требуются механические стимулы, такие как напряжение сдвига и внутрисосудистое давление, которые в эндотелиальных клетках трансформируются во внутриклеточные и межклеточные химические сигналы, являясь ранней стадией процесса механотрансдукции [6]. В него вовлечены разнообразные физиологические элементы, в т.ч. ионные каналы, молекулы

D.V. Garbuzenko

Chelyabinsk State Medical Academy, Russian Federation

## The mechanisms of adaptation of the vascular bed to hemodynamic changes in portal hypertension

*The data of the literature on the mechanisms of restructuring of vascular bed in response to hemodynamic changes due to portal hypertension. Despite the fact that these changes are compensatory-adaptive reaction to the deteriorating conditions of blood circulation, they contribute to its progression, promoting the development of serious complications, one of which was bleeding from esophageal varices.*

**Key words:** liver cirrhosis, portal hypertension, pathogenesis, vascular remodeling, angiogenesis.

клеточно-матриксного и межклеточного взаимодействия (интегрины; PECAM 1 — от англ. platelet-endothelial cell adhesion molecule-1, или CD31; адгерентные соединения), тирозинкиназные рецепторы, кавеолы, рецепторы, связанные с G-белками (GPCRs), и G-белки, гликокаликс, компоненты эндотелиального цитоскелета и др. Ответом на механотрансдукцию будет образование и выделение синтезированных эндотелием биологически активных веществ, которые регулируют развитие внеклеточного матрикса, пролиферацию, миграцию и организацию эндотелиальных и гладкомышечных клеток и их чувствительность к факторам роста — ключевых событий сосудистой ремоделирования. Самыми известными из них в настоящее время являются вазодилататоры NO и простаглицин ( $PGI_2$ ), а также вазоконстриктор ЭТ 1 [7].

Изменение структуры сосудов заключается в эу-, гипер- и гипотрофическом ремоделировании. При внутреннем эутрофическом ремоделировании наружный диаметр и просвет сосуда уменьшаются, а толщина медиального слоя не меняется. Внутреннее гипертрофическое ремоделирование характеризуется увеличением отношения медиа/просвет сосуда за счет утолщения медиального слоя. Наружному гипотрофическому ремоделированию свойственно расширение просвета сосуда и уменьшение площади его поперечного сечения [8].

Растяжимость — важная механическая характеристика сосудов, которая определяется как степень увеличения его объема при повышении давления на 1 мм рт.ст. Она прежде всего зависит от жесткости сосудистой стенки, основными компонентами которой являются коллаген, эластин и гладкомышечные клетки. На экспериментальной модели спонтанно гипертензивных крыс было показано, что если в крупных артериях снижение растяжимости связано с увеличением содержания эластина и изменением его структуры, то ее редукция в резистивных сосудах брыжейки, как правило, обусловлена модификацией строения эластина и, возможно, накоплением коллагена [9].

Ангиогенез — сложный физиологический процесс образования новых кровеносных сосудов. Он происходит посредством активации эндотелиальных клеток, экспрессии в них протеаз, разрушения внеклеточного матрикса, пролиферации, миграции и образования эндотелиальными клетками первичных высокопроницаемых сосудистых структур, которые после стабилизации и «взросления» за счет привлечения перicyтов и гладкомышечных клеток трансформируются в трехмерную сосудистую сеть [10].

Основным индуктором ангиогенеза как в физиологических условиях, так и при различных патологических состояниях, является гипоксия. Клетки реагируют на недостаток кислорода несколькими способами, в т.ч. накоплением гипоксия-индуцибельных факторов (HIFs), что стимулирует экспрессию ангиогенных факторов роста. Семейство HIFs включает 3  $\alpha$ -субъединицы, которые сопряжены с общей  $\beta$ -субъединицей (HIF-1 $\beta$ ). Если HIF-1 $\alpha$  экспрессируется повсеместно, то HIF-2 $\alpha$  обнаружена в ограниченном числе типов клеток, в частности в сосудистых эндотелиальных клетках, гепатоцитах, пневмоцитах II типа и макрофагах. Роль HIF-3 $\alpha$  в гипоксических состояниях изучена достаточно плохо [11].

К наиболее исследованным ангиогенным факторам роста относится семейство VEGF, состоящее из 5 гомологов: VEGF-A, -B, -C, -D и плацентарного фактора роста (PlGF). Все VEGFs соединены с различными родственными им рецепторами: VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, из которых только первые 2 отвечают за передачу ангиогенных сигналов. При этом связывание VEGF-A

с VEGFR-2 и повышение проницаемости сосудов посредством NO являются механизмами, запускающими процессы ангио- и васкулогенеза [12].

Стимулировать ангиогенез также способны члены семейства фактора роста фибробластов (FGF). Клеточный ответ на FGFs происходит через специфическое связывание с рецепторами FGF (FGFR), обладающими внутренней тирозинкиназной активностью. Димеризация FGFR является предпосылкой для фосфорилирования и активации сигнальных молекул при участии гепарин-связывающих белков. Это стимулирует миграцию, пролиферацию, дифференцирование клеток и разрушение внеклеточного матрикса. Следует отметить, что если члены семейства VEGF задействованы главным образом в формировании капилляров, то FGF вовлечены прежде всего в ангиогенез [13].

Хотя ангиогенный эффект тромбоцитарного фактора роста (PDGF) не столь выражен, как VEGF и FGF, в исследованиях *in vivo* показали, что он может стимулировать формирование кровеносных сосудов и регулировать их тонус [14].

В координации ангиогенных процессов важную роль играют экспрессируемый эндотелиальными клетками тирозинкиназный рецептор Tie2 (Tek) и его лиганды — ангиопоэтины (Ang). Ангиопоэтин первого типа (Ang-1) ингибирует апоптоз эндотелиоцитов и стимулирует формирование их ростка, способствуя стабилизации сосудов. Напротив, Ang-2, являясь антагонистом Ang-1, посредством смещения эндотелиальных клеток от устойчивого состояния до пролиферативного фенотипа вызывает сосудистую дестабилизацию. Вместе с тем при наличии VEGF Ang-2 может стимулировать ангиогенез [15].

$\alpha_v\beta_3$ - и  $\alpha_v\beta_5$ -интегрины долгое время рассматривали как положительные регуляторы ангиогенеза. Однако в недавних исследованиях продемонстрировали их ингибирующую роль в этом процессе [16].

Белок клеточной адгезии эндотелия сосудов VE-кадгерин способствует межклеточному контакту во время неоваскуляризации и управляет проходом молекул через эндотелиальную выстилку [17].

Тромбоспондин 1 (TSP-1), являясь антиангиогенным белком, оказывает непосредственное влияние на миграцию и апоптоз эндотелиальных клеток. Кроме того, подавляя активацию матриксных металлопротеиназ, он препятствует высвобождению VEGF из внеклеточного матрикса [18]. Ингибиторами ангиогенеза также служат эндостатин — C-терминальный фрагмент коллагена XVIII типа и ангиостатин — продукт деградации плазминогена [19].

Первым шагом в формировании новых кровеносных сосудов является вазодилатация. Под влиянием Ang-2 и VEGF в эндотелии образуются фенестры. Увеличенная сосудистая проницаемость приводит к экстравазации плазменных белков, которые в дальнейшем будут служить каркасом для мигрирующих эндотелиальных клеток, причём информацию о наличии ангиогенных участков им предоставляют интегрины. На следующем этапе происходит разрушение активированными матриксными металлопротеиназами базальной мембраны и внеклеточного матрикса. Это индуцирует последующую миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток, чему способствуют ангиогенные факторы роста, такие как VEGF, FGF и эпидермальный фактор роста (EGF). Эндотелиальные клетки-предшественники дифференцируются в эндотелиальные клетки, VE-кадгерин и интегрины координируют их связывание, а фактор некроза опухолей  $\alpha$  (ФНО  $\alpha$ ), FGF и PDGF создают условия для

формирования новых капиллярных трубок. При участии окружающих эндотелиальных клеток перицитов образуются новая базальная мембрана и внеклеточный матрикс. Окончательную сосудистую стабилизацию обеспечивает Ang-1 [10].

На ранних стадиях развития ПГ умеренный подъем портального давления приводит к перераспределению кровотока в тонкой кишке по направлению к мышечному слою. Возникает гипоксия слизистой оболочки, вызывающая значительное увеличение в ней активности NAD(P)H-оксидазы — главного источника реактивных форм кислорода — и повышает выработку артериолами VEGF и NO, что способствует спланхической вазодилатации [20]. Кроме того, происходит стимуляция многочисленных сигнальных проводящих путей, например митоген-активируемых протеинкиназ, тирозинкиназ и факторов транскрипции, которые вовлечены в VEGF-индуцированную неоваскуляризацию [21]. Было доказано, что у больных ЦП избыточная экспрессия Krippel-подобного фактора 2 в ткани двенадцатиперстной кишки при участии микроРНК вызывает интеграцию гемодинамических стимулов и VEGF-опосредованный ангиогенез [22]. Помимо стенки тонкой кишки [23], повышенное содержание VEGF, VEGFR-2 и CD31 (PECAM-1) отмечено и в ее брыжейке [24].

54

Данные патофизиологические нарушения могут стать начальным звеном в развитии портосистемного коллатерального кровообращения при ПГ [25]. На поверхности активированных эндотелиальных клеток происходит адгезия моноцитов, которые продуцируют факторы роста и протеиназы, такие как урокиназный активатор плазминогена и матриксные металлопротеиназы, способствуя миграции и делению гладкомышечных клеток. Содействуют росту коллатеральных сосудов провоспалительные цитокины (хемотаксический для макрофагов белок 1; фактор, стимулирующий колонии макрофагов — гранулоцитов; трансформирующий фактор роста  $\beta_1$ , ТФР  $\beta_1$ , ФНО  $\alpha$ ), а также факторы роста типа PIGF, которые стимулируют рост эндотелиальных и гладкомышечных клеток (FGF — через повышенную регуляцию экспрессии рецептора PDGF, VEGF — при взаимодействии с Ang-1). В то же время противовоспалительные цитокины (например, интерлейкин 10, ИЛ 10) ингибируют этот процесс [26].

В экспериментальных исследованиях на животных с моделью внепеченочной ПГ, вызванной частичным лигированием воротной вены, было показано, что блокада VEGFR-2 анти-VEGFR-2 моноклональными антителами в течение 5–7 дней и торможение VEGF/VEGFR-2-сигнализации с использованием ингибитора аутофосфорилирования VEGFR-2 в течение 5 дней после операции приводили к 50% снижению образования портосистемных коллатеральных сосудов [27, 28]. Также этому способствовала блокада NAD(P)H в связи с уменьшением спланхической экспрессии VEGF, VEGFR-2 и CD31 [29].

Следует отметить, что формирующиеся шунты являются чрезвычайно динамичным сосудистым руслом за счет экспрессии на поверхности выстилающего их эндотелия различных типов рецепторов, например  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторов, 5-HT<sub>2</sub>-рецепторов. Кроме того, на их тонус могут влиять такие вазоактивные вещества, как NO, ЭТ 1, простагландины [30]. В частности, было отмечено, что избыточный сброс крови по портосистемным коллатералам вследствие постпрандиального спланхического полнокровия способствует их дилатации в результате индуцированной напряжением сдвига гиперпродукции эндотелиальными клетками NO [31].

Хотя естественные портосистемные анастомозы встречаются у всех больных с ПГ, наибольшую клиническую значимость они приобретают прежде всего при наличии пищеводно-желудочных варикозов, разрыв которых приводит к жизнеугрожающим кровотечениям. Следует отметить, что определяющим фактором в их развитии служит характер гепатофугального кровотока, причем наиболее важным здесь является гастроэзофагальный путь шунтирования. Главную роль в его формировании играет левая желудочная вена. Она дренирует обе желудочные поверхности, восходит по малой кривизне влево в малый сальник к пищеводному отверстию диафрагмы, где сообщается с венами пищевода, и затем, изгибаясь обратно вниз и вправо позади сальниковой сумки, впадает в воротную вену. Соустья между левой и правой желудочной веной и левой и короткими желудочными венами, обозначенные терминами, соответственно, «коронарная вена» и «задняя желудочная вена», имеют клиническое значение лишь при ПГ, поскольку участвуют в образовании пищеводных и связанных с ними околопищеводных варикозов [32].

Иммуногистохимические исследования, проведенные у больных с ПГ, позволили установить существование выраженной экспрессии PDGF, основного фактора роста фибробластов (FGF-2), EGF и трансформирующего фактора роста  $\alpha$  (ТФР  $\alpha$ ) в стенке коронарной вены желудка. Это говорит о том, что повышение давления в ней активирует гладкомышечные клетки, индуцируя выход факторов роста, которые стимулируют их пролиферацию, дифференцировку и миграцию, а также способствуют нарушению метаболизма коллагеновых и эластических волокон. Фенотипические изменения гладкомышечных клеток, которые являются хроническим ответом на механические стимулы, приводят к утолщению венозной стенки, снижая ее эластичность [33].

Анатомия венозной системы дистальной части пищевода включает внутриэпителиальные вены, поверхностное венозное сплетение, глубокие вены подслизистого сплетения и адвентициальное венозное сплетение. Наиболее крупные варикозы обычно локализуются на 2–3 см выше и на 2 см ниже кардии, преимущественно поверхностно в собственной пластинке слизистой оболочки, и имеют вид либо палисадника, либо полос. Для первого типа характерны расширенные внутриэпителиальные каналы и мелкие множественные поверхностные вены, для второго — несколько расширенных субэпителиальных поверхностных и глубоких подслизистых вен, перфорирующих эпителий [34].

Структурные изменения сосудов венозных сплетений дистальной части пищевода при ПГ характеризуются утолщением медиального слоя вследствие гиперплазии эластических и коллагеновых волокон. Непосредственно в варикозно расширенных венах пищевода наблюдается фрагментация и резкая извитость эластических волокон на фоне нарастающего склероза сосудистой стенки [35].

В месте перехода пищевода в желудок описано 4 интрамуральные сосудистые зоны, которые обозначают как желудочную, палисадную, перфорирующую и стволовую. При повышении давления в системе воротной вены здесь формируются естественные портокавальные шунты [36].

- Вены **желудочной зоны** локализуются в собственной пластинке слизистой оболочки и подслизистой основе проксимального отдела желудка и расположены продольно. Ближе к пищеводу они более многочисленны, имеют малый диаметр и образуют группы из нескольких небольших продольных сосудов. В дистальной же части желудочной зоны вены в подслизистом слое

сливаются, формируя большие извилистые стволы, дренирующиеся в сосуды системы воротной вены.

- **Палисадная зона** является продолжением желудочной зоны. Она начинается в проекции гастроэзофагеального соединения и простирается на 2–3 см выше его. Вены здесь расположены беспорядочно, в непосредственной близости друг от друга и проходят параллельно и продольно, как палисадник.

Обнаружены многочисленные анастомозы как между ними, так и между сосудами желудочной зоны. В области гастроэзофагеального соединения они локализируются в подслизистой основе, пронизывают мышечную пластинку слизистой оболочки и проходят в собственной пластинке преимущественно в продольном направлении.

В проксимальной части палисадной зоны вены одновременно сходятся в одной точке и, перфорируя мышечную пластинку слизистой оболочки, переходят опять в подслизистую основу в виде 4 или 5 больших стволов. Между ними существуют поперечные дугообразные анастомозы. В этой зоне не обнаружено вен, перфорирующих мышечную оболочку пищевода.

- Вены **перфорирующей зоны**, расположенной на 3–5 см выше гастроэзофагеального соединения, не так однородны и постоянны. В собственной пластинке слизистой оболочки пищевода (как продолжение вен палисадной зоны) сосуды формируют 5 полигональных сетей и перфорируют мышечную оболочку, сообщаясь с адвентициальными венами, расположенными на наружной поверхности пищевода. Ввиду их сходства с музыкальными символами, они были обозначены как вены в виде «скрипичных ключей» (от англ. *treble clef veins*).

Перфорирующая зона является «критической территорией» для разрыва варикозно расширенных вен пищевода при ПГ. Это связано с увеличенным сопротивлением кровотоку в данной анатомической области, а также повышенной хрупкостью и поверхностным расположением перфорантных вен [37].

- **Стволовая зона** определена как область от 8 до 10 см в длину с нижним краем на 5 см выше гастроэзофагеального соединения. Большие продольные венозные стволы, обнаруженные здесь в собственной пластинке, представляют собой продолжение полигональных сосудистых сетей перфорирующей зоны. В проксимальной части у них небольшой диаметр. Между ними имеют место несколько поперечно ориентированных анастомозов. Перфоранты, расположенные беспорядочно вдоль этой зоны, проходят из подслизистой основы на внешнюю поверхность пищевода и сообщаются с адвентициальным венозным сплетением.

В физиологических условиях палисадная зона является наиболее важным звеном в сосудистой структуре гастроэзофагеального соединения. Вены здесь находятся преимущественно в собственной пластинке. Их поверхностное расположение снижает до минимума сопротивление венозному кровотоку, которое в противном случае возникло бы в зоне высокого давления в области нижнего пищеводного сфинктера.

Большое число сосудов мелкого калибра в палисадной зоне, имеющих продольный ход параллельно друг другу, идеально приспособлены к физиологическим колебаниям давления при дыхании и приводят к двунаправленности циркуляции. Когда венозный отток осуществляется в каудальном направлении, желудочная зона собирает и дренирует кровь в систему воротной вены.

При ПГ в результате оттока в краниальном направлении расширенные глубокие вены подслизистого сплетения через многочисленные вены, прободающие мы-

шечную оболочку пищевода в перфорирующей зоне, посылают кровь в расширенные вены адвентициального сплетения (перизофагеальные коллатеральные вены), сообщающиеся с параэзофагеальными коллатеральными венами, расположенными в заднем средостении. От них кровь обычно дренируется в непарную вену [38], структурные изменения которой в ответ на усиленный кровоток характеризуются очаговой деструкцией, гиперплазией и хаотичным расположением эластических волокон [35].

Развитие портосистемного коллатерального кровотока — компенсаторный механизм, направленный на декомпрессию повышенного портального давления. Однако этого не происходит. Напротив, наблюдается гипердинамическое состояние кровотока, сопровождающееся усилением сердечного выброса, уменьшением периферического сосудистого сопротивления и раскрытием артериовенозных коммуникаций, что усугубляет ПГ. Причиной данных нарушений может быть как поступление через сеть портосистемных шунтов сосудорасширяющих веществ, в частности глюкагона, эндоканнабиноидов, предсердного натрийуретического пептида, бактериального эндотоксина, так и увеличение интенсивности выработки эндотелием местно действующих вазодилаторов, например NO, монооксида углерода, PGI<sub>2</sub>, гиперполяризующего фактора, синтезированного эндотелием, а также адреномедуллина и сероводорода. Кроме того, несмотря на повышенный уровень циркулирующих эндогенных вазоконстрикторов (норадреналина, ЭТ 1, ангиотензина II), чувствительность к ним сосудов значительно снижена [39].

При развитии гипердинамического циркуляторного статуса адаптационный ответ брюшной аорты на индуцированное током напряжение сдвига может быть связан с оксидативным стрессом. Выработка реактивных форм кислорода, таких как супероксид и перекись водорода, являющихся токсическими продуктами метаболизма клетки, приводит к неспецифическому повреждению нуклеиновых кислот, белков, липидов и других ее компонентов. Реактивные формы кислорода регулируют сосудистый тонус, чувствительность эндотелиальных клеток к кислороду, их рост, пролиферацию и апоптоз. Кроме того, они посредством факторов транскрипции, в т.ч. NF-κB, вызывают экспрессию индуцибельных генов, ведущих к синтезу провоспалительных цитокинов, хемокинов, рецепторов хемокинов и адгезионных молекул, индуцируя воспалительный ответ. Их потенциальными источниками являются различные клеточные ферментные системы: NAD(P)H-оксидаза, ксантинооксидаза, ферменты метаболизма арахидоновой кислоты (липоксигеназа и циклооксигеназа), а также митохондриальная респираторная цепь [40].

Увеличение содержания ФНО α, ИЛ 1β и ИЛ 6 в аорте как результат оксидативного стресса играет важную роль в индукции иммунно-опосредованного системного сосудистого процесса при ПГ. Последующее увеличение в ней уровня экспрессии фактора роста соединительной ткани (CTGF) может усиливать синтез белков внеклеточного матрикса, в частности коллагена I типа, а снижение уровня комплекса MMP-2/TIMP-2 (тканевой ингибитор металлопротеиназ 2) будет способствовать уменьшению степени деградации белков внеклеточного матрикса. Это приводит к существенным гистологическим изменениям в аорте. Толщина ее стенки уменьшается так же, как отношение толщины медиального слоя к просвету сосуда. Эластические волокна теряют их упорядоченное расположение, а хорошо выраженные коллагеновые волокна становятся более узкими и разделенными за счет увеличения

внеклеточного матрикса в интерстиции медиального слоя со значительным снижением числа гладкомышечных клеток [41, 42].

Аналогичные нарушения происходят и в брыжеечных резистивных артериях. Механические стимулы, генерированные напряжением сдвига, активируют эндотелиальные клетки и индуцируют гиперпродукцию ими NO и простагландинов, вызывая вазодилатацию [43]. Значительно уменьшенная изометрическая жесткость сосудов и повышенная их растяжимость могут оказаться причиной структурных изменений во внутренней эластической мембране и увеличения в ней фенестраций [44]. Это способствует избыточной NO-опосредованной сосудистой проницаемости и ангиогенным процессам в брыжейке тонкой кишке и из-за высокого уровня экспрессии eNOS и VEGF в расположенных здесь микрососудах [45].

Спланхническое полнокровие приводит к увеличению портального венозного притока. При этом воротная вена расширяется, ее интима и медиальный слой из-за повышенного содержания здесь коллагеновых волокон, гипертрофии и гиперплазии гладкомышечных клеток утолщаются, что существенно уменьшает эластичность сосудистой стенки [46]. Вместе с тем в результате развития коллатеральной циркуляции снабжающей печень портальный кровоток снижается [47], а постоянство печеночной перфузии поддерживается за счет т.н. печеночного артериального буферного ответа. Этот феномен, впервые описанный в 1981 г. W. Lauth, был зафиксирован как в физиологических условиях, так и при различных патологических состояниях, в т.ч. при ЦП. Он позволяет поддерживать доставку кислорода к печени, обеспечивая защиту структуры и функции органа [48]. Однако значительно увеличенный кровоток в печеночной артерии со временем приводит к ее ремоделированию и уменьшению эластичности [49].

Существенные гистопатологические изменения претерпевают и кровеносные сосуды селезенки. По-

врежденная интима селезеночной артерии утолщается, и в нее прорастают гладкомышечные клетки. Внутренняя эластическая мембрана расслаивается, причем входящие в ее состав (как и локализованные в медиальном слое) эластические волокна разрушаются. Беспорядочно расположенные в медиальном слое гладкомышечные клетки имеют различный размер и морфологию, а содержание разделяющих их коллагеновых волокон так же, как и внеклеточного матрикса, значительно увеличивается, вызывая «коллагенизацию» сосудистой стенки, ее утолщение и ригидность [50]. Селезеночная вена расширяется, ее интима и медиальный слой за счет повышенного содержания коллагеновых волокон, гипертрофии и гиперплазии гладкомышечных клеток утолщаются [51]. Указанные патологические изменения в кровеносных сосудах селезенки приводят к значительному снижению их эластичности.

В заключении следует отметить, что в последние годы наблюдается очевидный прогресс в понимании механизмов гемодинамических нарушений, возникающих при ЦП. Было установлено, что помимо патофизиологических расстройств, связанных с дисфункцией эндотелия, происходит структурная перестройка сосудистого русла, включающая в себя ремоделирование сосудов и ангиогенез. Несмотря на то, что эти изменения служат компенсаторно-приспособительной реакцией на ухудшающиеся условия кровообращения, в совокупности они способствуют развитию и прогрессированию ПГ, вызывая тяжелые осложнения, одним из которых является кровотечение из варикозно расширенных вен пищевода. Хотя исследованные в настоящее время патогенетически обоснованные методы ее коррекции в большинстве своем были изучены лишь на молекулярном и клеточном уровне, а также в экспериментах на животных, можно ожидать, что их клиническое внедрение позволит повысить эффективность консервативных мероприятий, направленных на профилактику и лечение осложнений ПГ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гарбузенко Д.В. Мультиорганные гемодинамические нарушения при циррозе печени. *Тер. архив.* 2007; 79 (2): 73–77.
2. Bosch J., Abraldes J.G., Fernandez M., Garcia-Pagan J.C. Hepatic endothelial dysfunction and abnormal angiogenesis: New targets in the treatment of portal hypertension. *J. Hepatol.* 2010; 53 (3): 558–567.
3. Iwakiri Y. Endothelial dysfunction in the regulation of cirrhosis and portal hypertension. *Liver Int.* 2012; 32 (2): 199–213.
4. Флоря В.Г. Роль ремоделирования левого желудочка в патогенезе хронической недостаточности кровообращения. *Кардиология.* 1997; 37 (5): 63–70.
5. Gibbons G.H., Dzau V.J. The emerging concept of vascular remodeling. *N. Engl. J. Med.* 1994; 330 (20): 1431–1438.
6. Davies P.F., Barbee K.A., Volin M.V., Robotewskyj A., Chen J., Joseph L., Griem M.L., Wernick M.N., Jacobs E., Polacek D.C., de Paola N., Barakat A.I. Spatial relationships in early signaling events of flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Annu. Rev. Physiol.* 1997; 59: 527–549.
7. Ngai C.Y., Yao X. Vascular responses to shear stress: the involvement of mechanosensors in endothelial cells. *Open Circ. Vasc. J.* 2010; 3: 85–94.
8. Mulvany M.J. Small artery remodelling in hypertension. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2012; 110 (1): 49–55.
9. Briones A.M., Gonzalez J.M., Somoza B., Giraldo J., Daly C.J., Vila E., Gonzalez M.C., McGrath J.C., Arribas S.M. Role of elastin in spontaneously hypertensive rat small mesenteric artery remodeling. *J. Physiol.* 2003; 552 (1): 185–195.
10. Folkman J. Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery? *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007; 6 (4): 273–286.
11. Skuli N., Majmundar A.J., Krock B.L., Mesquita R.C., Mathew L.K., Quinn Z.L., Runge A., Liu L., Kim M.N., Liang J., Schenkel S., Yodh A.G., Keith B., Simon M.C. Endothelial HIF-2 $\alpha$  regulates murine pathological angiogenesis and revascularization processes. *J. Clin. Invest.* 2012; 122 (4): 1427–1443.
12. Bootle-Wilbraham C.A., Tazzyman S., Thompson W.D., Stirk C.M., Lewis C.E. Fibrin fragment E stimulates the proliferation, migration and differentiation of human microvascular endothelial cells in vitro. *Angiogenesis.* 2001; 4 (4): 269–275.
13. Klein S., Roghani M., Rifkin D.B. Fibroblast growth factors as angiogenesis factors: new insights into their mechanism of action. *EXS.* 1997; 79: 159–192.
14. Hellberg C., Ostman A., Heldin C.H. PDGF and vessel maturation. *Recent Results Cancer Res.* 2010; 180: 103–114.
15. Kim I., Moon S.O., Koh K.N., Kim H., Uhm C.S., Kwak H.J., Kim N.G., Koh G.Y. Molecular cloning, expression, and characterization of angiopoietin-related protein. angiopoietin-related protein induces endothelial cell sprouting. *J. Biol. Chem.* 1999; 274 (37): 26523–26528.
16. Reynolds L.E., Wyder L., Lively J.C., Taverna D., Robinson S.D., Huang X., Sheppard D., Hynes R.O., Hodivala-Dilke K.M. Enhanced pathological angiogenesis in mice lacking beta3 integrin or beta3 and beta5 integrins. *Nat. Med.* 2002; 8 (1): 27–34.
17. Kevil C.G., Payne D.K., Mire E., Alexander J.S. Vascular permeability factor/vascular endothelial cell growth factor-mediated permeability occurs through disorganization of endothelial junctional proteins. *J. Biol. Chem.* 1998; 273 (24): 15099–15103.



18. Greenaway J., Lawler J., Moorehead R., Bornstein P., Lamarre J., Petrik J. Thrombospondin-1 inhibits VEGF levels in the ovary directly by binding and internalization via the low density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP-1). *J. Cell Physiol.* 2007; 210 (3): 807–818.
19. Eriksson K., Magnusson P., Dixelius J., Claesson-Welsh L., Cross M.J. Angiostatin and endostatin inhibit endothelial cell migration in response to FGF and VEGF without interfering with specific intracellular signal transduction pathways. *FEBS Lett.* 2003; 536 (1–3): 19–24.
20. Abraldes J.G., Iwakiri Y., Loureiro-Silva M., Haq O., Sessa W.C., Groszmann R.J. Mild increases in portal pressure upregulate vascular endothelial growth factor and endothelial nitric oxide synthase in the intestinal microcirculatory bed, leading to a hyperdynamic state. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2006; 290 (5): 980–987.
21. Angermayr B., Mejias M., Gracia-Sancho J., Garcia-Pagan J.C., Bosch J., Fernandez M. Heme oxygenase attenuates oxidative stress and inflammation, and increases VEGF expression in portal hypertensive rats. *J. Hepatol.* 2006; 44 (6): 1033–1039.
22. Kobus K., Kopycinska J., Kozłowska-Wiechowska A., Urasinska E., Kempinska-Podhorodecka A., Haas T.L., Milkiewicz P., Milkiewicz M. Angiogenesis within the duodenum of patients with cirrhosis is modulated by mechanosensitive Kruppel-like factor 2 and microRNA-126. *Liver Int.* 2012; 32 (8): 1222–1232.
23. Huang H.C., Haq O., Utsumi T., Sethasine S., Abraldes J.G., Groszmann R.J., Iwakiri Y. Intestinal and plasma VEGF levels in cirrhosis: The role of portal pressure. *J. Cell Mol. Med.* 2012; 16 (5): 1125–1133.
24. Fernandez M., Semela D., Bruix J., Colle I., Pinzani M., Bosch J. Angiogenesis in liver disease. *J. Hepatol.* 2009; 50 (3): 604–620.
25. Chan C.C., Tsai S.C., Cheng L.Y., Lee F.Y., Lin H.C. Hemodynamic assessment of the development of portal-systemic collaterals in portal hypertensive rats. *Dig. Dis. Sci.* 2011; 56 (2): 417–424.
26. Carmeliet P. Manipulating angiogenesis in medicine. *J. Intern. Med.* 2004; 255 (5): 538–561.
27. Fernandez M., Vizzutti F., Garcia-Pagan J.C., Rodes J., Bosch J. Anti-VEGF receptor-2 monoclonal antibody prevents portal-systemic collateral vessel formation in portal hypertensive mice. *Gastroenterology.* 2004; 126 (3): 886–894.
28. Fernandez M., Mejias M., Angermayr B., Garcia-Pagan J.C., Rodes J., Bosch J. Inhibition of VEGF receptor-2 decreases the development of hyperdynamic splanchnic circulation and portal-systemic collateral vessels in portal hypertensive rats. *J. Hepatol.* 2005; 43 (1): 98–103.
29. Angermayr B., Fernandez M., Mejias M., Gracia-Sancho J., Garcia-Pagan J.C., Bosch J. NAD(P)H oxidase modulates angiogenesis and the development of portosystemic collaterals and splanchnic hyperaemia in portal hypertensive rats. *Gut.* 2007; 56 (4): 560–564.
30. Chan C.C. Portal-systemic collaterals and angiogenesis. *J. Chin. Med. Assoc.* 2009; 72 (5): 223–224.
31. Albillos A., Banares R., Gonzalez M., Catalina M.V., Pastor O., Gonzalez R., Ripoll C., Bosch J. The extent of the collateral circulation influences the postprandial increase in portal pressure in patients with cirrhosis. *Gut.* 2007; 56 (2): 259–264.
32. Chiang J.H., Lee R.C., Huang S.S., Chiou Y.Y., Tseng T.S., Wang J.H., Tiu C.M., Chou Y.H., Chang C.Y., Teng M.H. Hepatofugal collaterals in advanced liver cirrhosis: Identification with CT portography. *Chin. J. Radiol.* 2006; 31: 1–13.
33. Yang Z., Tian L., Peng L., Qiu F. Immunohistochemical analysis of growth factor expression and localization in gastric coronary vein of cirrhotic patients. *J. Tongji. Med. Univ.* 1996; 16 (4): 229–233.
34. Hashizume M., Kitano S., Sugimaschi K., Sueishi K. Three-dimensional view of the vascular structure of the lower esophagus in clinical portal hypertension. *Hepatology.* 1988; 8 (6): 1482–1487.
35. Турмаханов С.Т., Асадулаев Ш.М., Ахметкалиев М.Н. Морфо-структурные изменения непарной вены и вен гастроэзофагеальной зоны при портальной гипертензии. *Анналы хирургической гепатологии.* 2008; 13 (2): 58–65.
36. Vianna A., Hayes P.C., Moscoso G., Driver M., Portmann B., Westaby D., Williams R. Normal venous circulation of the gastroesophageal junction. *Gastroenterology.* 1987; 93 (4): 876–889.
37. Noda T. Angioarchitectural study of esophageal varices with special reference to variceal rupture. *Virchows Arch.* 1984; 404 (4): 381–392.
38. Kimura T., Moriyasu F., Kawasaki T., Someda H., Tamada T., Yamashita Y., Ono S., Kajimura K., Nishida O., Okuma M. Relationship between esophageal varices and azygos vein evaluated by cineportography. *Hepatology.* 1991; 13 (5): 858–864.
39. Gatta A., Bolognesi M., Merkel C. Vasoactive factors and hemodynamic mechanisms in the pathophysiology of portal hypertension in cirrhosis. *Mol. Aspects. Med.* 2008; 29 (1–2): 119–129.
40. Libby P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr. Rev.* 2007; 65 (12 Pt.2): 140–146.
41. de Las Heras N., Aller M.A., Martin-Fernandez B., Miana M., Ballesteros S., Regadera J., Cachofeiro V., Arias J., Lahera V. A wound-like inflammatory aortic response in chronic portal hypertensive rats. *Mol. Immunol.* 2012; 51 (2): 177–187.
42. Fernandez-Varo G., Ros J., Morales-Ruiz M., Cejudo-Martin P., Arroyo V., Sole M., Rivera F., Rodes J., Jimenez W. Nitric oxide synthase 3-dependent vascular remodeling and circulatory dysfunction in cirrhosis. *Am. J. Pathol.* 2003; 162 (6): 1985–1993.
43. Piva A., Zampieri F., Di Pascoli M., Gatta A., Sacerdoti D., Bolognesi M. Mesenteric arteries responsiveness to acute variations of wall shear stress is impaired in rats with liver cirrhosis. *Scand. J. Gastroenterol.* 2012; 47 (8–9): 1003–1013.
44. Resch M., Wiest R., Moleda L., Fredersdorf S., Stoelcker B., Schroeder J.A., Scholmerich J., Endemann D.H. Alterations in mechanical properties of mesenteric resistance arteries in experimental portal hypertension. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2009; 297 (4): 849–857.
45. Geerts A.M., De Vriese A.S., Vanheule E., Van Vlierberghe H., Mortier S., Cheung K.J., Demetter P., Lameire N., De Vos M., Colle I. Increased angiogenesis and permeability in the mesenteric microvasculature of rats with cirrhosis and portal hypertension: an in vivo study. *Liver Int.* 2006; 26 (7): 889–898.
46. He X.J., Huang T.Z., Wang P.J., Peng X.C., Li W.C., Wang J., Tang J., Feng N., Yu M.H. Morphological and biomechanical remodeling of the hepatic portal vein in a swine model of portal hypertension. *Ann. Vasc. Surg.* 2012; 26 (2): 259–267.
47. Vorobioff J., Bredfeldt J.E., Groszmann J. Hyperdynamic circulation in portal hypertensive rat model: a primary factor for maintenance of chronic portal hypertension. *Am. J. Physiol.* 1983; 244 (1): 52–57.
48. Eipel C., Abshagen K., Vollmar B. Regulation of hepatic blood flow: the hepatic arterial buffer response revisited. *World J. Gastroenterol.* 2010; 16 (48): 6046–6057.
49. He X.J., Yu M.H., Li W.C., Wang H.Q., Li J., Peng X.C., Tang J., Feng N., Huang T.Z. Morphological and biomechanical remodeling of the hepatic artery in a swine model of portal hypertension. *Hepatol. Int.* 2012; 6 (3): 631–638.
50. Li T., Ni J.Y., Qi Y.W., Li H.Y., Zhang T., Yang Z. Splenic vasculopathy in portal hypertension patients. *World J. Gastroenterol.* 2006; 12 (17): 2737–2741.
51. Yang Z., Zhang L., Li D., Qiu F. Pathological morphology alteration of the splanchnic vascular wall in portal hypertensive patients. *Chin. Med. J. (Engl.).* 2002; 115 (4): 559–562.

**КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**

**Гарбузенко Дмитрий Викторович**, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры факультетской хирургии ГБОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия» МЗ РФ  
**Адрес:** 454092, Челябинск, ул. Воровского, д. 64; **тел.:** (351) 268-77-72; **e-mail:** garb@inbox.ru

Т.А. Бодрова<sup>3,4</sup>, Д.С. Костюшев<sup>1</sup>, Е.Н. Антонова<sup>1</sup>, Д.А. Гнатенко<sup>1</sup>, М.О. Бочарова<sup>1</sup>, Ю.М. Лопухин<sup>6</sup>,  
М.А. Пальцев<sup>5</sup>, С.В. Сучков<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Российская Федерация

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

<sup>3</sup> Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Российская Федерация

<sup>4</sup> Университет мировой политики и права Дипломатической академии МИД России, Москва, Российская Федерация

<sup>5</sup> Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Российская Федерация

<sup>6</sup> Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА РФ, Москва, Российская Федерация

## Введение в предиктивно-превентивную медицину: опыт прошлого и реалии дня завтрашнего

Сегодня здравоохранение стоит на пороге больших перемен. Активное внедрение достижений геномики, протеомики, метаболомики и биоинформатики в практическую деятельность существенно расширило и продолжает расширять наше представление о патологических процессах, происходящих на уровне биоструктур. Этот прогресс в скором времени даст клиницисту возможность фокусировать внимание на доклиническом этапе заболевания, т.е. на самых ранних стадиях развития патологии. Основными звеньями работы с пациентом должны стать предикция риска заболевания, доклиническая диагностика с определением стадии и как можно более раннее таргетное фармакотерапевтическое вмешательство с целью профилактики развития заболевания или его перехода в более тяжелую стадию. Эти принципы легли в основу принципиально новой стратегии «трех П»: предиктивной, превентивной и персонафицированной медицины.

**Ключевые слова:** превенция, предикция, доклиническая диагностика, биомаркеры, геномика, протеомика, метаболомика, биоинформатика.

58

T. Bodrova<sup>3,4</sup>, D. Kostushev<sup>1</sup>, E. Antonova<sup>1</sup>, D. Gnatenko<sup>1</sup>, M. Bocharova<sup>1</sup>, Y. Lopukhin<sup>6</sup>, M. Paltsev<sup>5</sup>,  
S. Suchkov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> A.I. Evdokimov Moscow State Medical Stomatological University Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russian Federation

<sup>3</sup> National Research University «Higher School of Economics», Moscow, Russian Federation

<sup>4</sup> University of World Politics and Law, The Diplomatic Academy of the Ministry of Foreign Affairs of Russian Federation, Moscow, Russian Federation

<sup>5</sup> National Research Centre «Kurchatov Institute», Moscow, Russian Federation

<sup>6</sup> Scientific-Research Institute of Physical Chemical Medicine Moscow, Russian Federation

## Introduction into PPPM: experience of the past and tomorrow's reality

Health service today is on the verge of broad changes. The intensive practical application of the achievements of genomics, proteomics, metabolomics and bioinformatics has significantly deepened and continues to deepen our view of the pathological processes taking place at a level of biostructures. In the nearest future this progress will give medical practitioners the opportunity to focus on a subclinical stage of the disease, i.e. on the earliest stages of the pathological process. This will require the prediction of disease development risks, subclinical diagnostics with the precise staging of the pathological process, and, finally, the application as early as possible of targeted pharmacotherapeutic methods in order to prevent the manifestation of the disease or its progression into more severe stages. All these principles create the framework of a fundamentally new «3P» strategy in medicine: predictive, preventive and personalized medicine.

**Key words:** prevention, prediction, preclinical diagnostics, genomics, proteomics, metabolomics, bioinformatics.

## Введение

В медицине на протяжении ее исторического развития основное внимание уделяли уже заболевшему человеку, делая акцент на учении о болезни (*нозологии*), и поэтому информация о здоровом человеке и т.н. *донозологических* состояниях, предшествующих болезни, оставалась в тени. Кардинальный перелом во взглядах на роль и место медицины в структуре охраны здоровья произошел на рубеже 80–90-х гг. XX века [1]. Причиной этому послужило активное внедрение в практику достижений *геномики*, *протеомики*, *метабономики* и *биоинформатики*, позволяющих проникать внутрь биоструктур и создавать в них условия для визуализации очагов поражения, скрытых от глаз клинициста [2, 3].

Тенденции развития современной медицины плотно концентрируются вокруг достижений активно разрабатываемого направления, получившего название предиктивно-превентивной и персонифицированной медицины (ПППМ) [4]. Так, Национальные институты здоровья (НИН, США) включили ПППМ в пятерку самых приоритетных областей развития медицины в XXI в., а директор НИН и основатель международной программы «Геном человека» профессор Ф. Коллинз заявил, что «...медицинская аудитория испытывает острый недостаток в развитии средств и методов предиктивной медицины...».

Концепция ПППМ заинтересовала и организаторов международных конференций, включивших профильные доклады в программы форумов по инновациям в Кембриджском и Оксфордском университетах (2010 и 2012 гг.), а также в программы 10-го Международного симпозиума по биопредикторам (Дрезден, Германия, 2011) и Первого Европейского конгресса по ПППМ, который прошел в сентябре 2011 г. в Бонне, учредив Европейскую ассоциацию по ПППМ (ЕРМА) и дав жизнь новому международному журналу.

Современная ситуация в сфере здравоохранения такова, что традиционная медицинская помощь адресована, как правило, уже заболевшему человеку. А ключевой момент — звено мониторинга индивидуального здоровья, в основе которого лежат активно разрабатываемые в мире технологии ПППМ, — попросту отсутствует. Именно это звено, основанное на доклиническом выявлении заболевания, этапе прогнозирования (предикции) и последующих превентивных мероприятий, способно реально стабилизировать показатели заболеваемости и снизить инвалидность трудоспособного населения, существенно сократив традиционно высокие расходы на лечение уже заболевших людей [5].

Для достижения вышеуказанной цели — разработки и реализации на практике концепции ПППМ — должна быть создана принципиально новая стратегия, основанная на доклиническом определении биоиндикаторов скрытой патологии задолго до реального проявления признаков болезни. Стратегия такого рода дает врачу реальную возможность вовремя принимать ПППМ-меры, персонализация которых может оказать существенное влияние на демографическую ситуацию, что, в частности, активно поддерживается и пропагандируется Еврокомиссией, Национальными институтами здоровья и Фармакомитетом США.

Таким образом, в основные задачи ПППМ входит:

- определение признаков заболевания на стадии доклинической патологии с идентификацией мишеней, адекватных для фармакопревенции;
- фармакокоррекция установленных нарушений с целью фармакопрофилактики, что относится к кате-

гории превентивных мероприятий, способствующих подавлению патологического процесса на доклинической стадии.

## Фундаментальные основы предиктивной, превентивной и персонифицированной медицины

### Геномика

Общие принципы построения и функционирования геномов изучает геномика, где анализируют структуру ДНК при помощи секвенирования и анализа генетических полиморфизмов, что в итоге позволяет конструировать алгоритмы для ПППМ и в дальнейшем идентифицировать фармакотерапевтические мишени с созданием на их основе средств превентивной генотерапии [6].

### Протеомика

Для протеомики, которая составляет не меньшую по значимости квоту для развития ПППМ, основополагающую роль играют методы идентификации индивидуальных белков и находящихся в их составе антигенных детерминант (эпитопов). Протеомика, по сути, — продолжение функциональной геномики и одновременно вводная часть к следующему разделу — метаболомике [7].

### Метабономика

Метабономика иллюстрирует функциональное состояние клетки на уровне ее метаболизма в реальном времени, требуя применения, на первый взгляд, не совсем понятного по звучанию термина «метаболома», отражающего совокупность всех метаболических путей в клетке на данный момент времени [8]. Как же осмыслить данные метабономики и, естественно, геномики и протеомики в целом?

### Биоинформатика

Эту задачу призвана решать биоинформатика, применяя методы математического моделирования. Уже в ближайшее время результаты гено- и фенотипирования, подвергнутые компьютерной обработке, будут применяться в создании единых информационных баз, необходимых для биомониторинга индивидуального здоровья, т.е. в рамках задач ПППМ, базирующейся на принципах биопредикции и биопревенции с этапом доклинической диагностики [9].

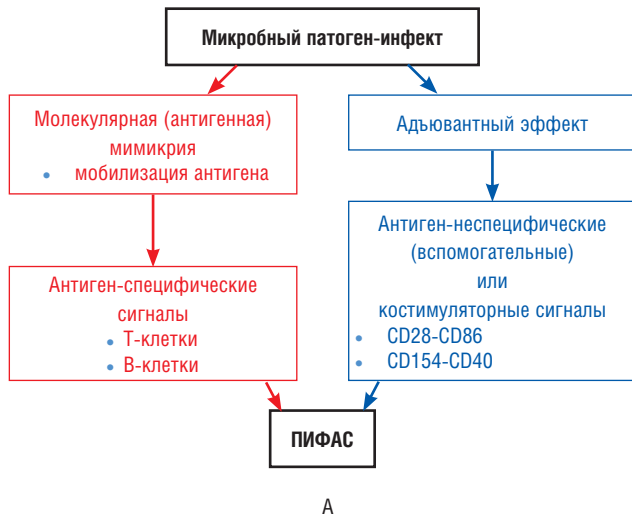
## Цели, задачи и инструментарий доклинической диагностики

Основой доклинической диагностики должны стать базовые алгоритмы, которые существенно отличаются от клинического подхода, позволяя использовать структуру поликлиник для целевых обследований [10]. Что же должна делать доклиническая диагностика для решения вышеуказанных задач?

- Во-первых, уметь своевременно определять генетическую предрасположенность к возникновению конкретной патологии [11].
- Во-вторых, с высокой достоверностью определять количественный показатель риска возникновения патологии на ее доклиническом (и, как правило, бессимптомном) этапе.
- И, в-третьих, в ходе слежения за динамикой содержания биомаркеров и биопредикторов контролировать ответные реакции лиц из группы риска на фармакопревентивные мероприятия.

**Развитие постинфекционного аутоиммунного синдрома (ПИФАС)**

Первичный инфекционный патоген участвует в индукции и развитии ПИФАС двумя путями:(а) за счет ресурсов молекулярной мимикрии со стороны перекрестно-реагирующих (мимикрирующих) АГ-детерминант патогена (красные стрелки);(б) способности патогена генерировать АГ-неспецифические сигналы (синие стрелки), способствующие индукции воспалительного процесса с дальнейшим прогрессированием иммунного ответа через т.н. адьювантный эффект



60

**Основные стадии развития сахарного диабета.** На доклинической стадии диабета бета-клетки получают первый повреждающий стресс (далее пока неизвестно, к какому типу диабета приведут последствия этого стресса, что зависит от генетической предрасположенности организма); точка зрения на сегодня: иммуно-опосредованный (аутоагрессивный) удар приводит к повреждению бета-клеток и развитию их дисфункции при формировании сахарного диабета 1-го типа; причинные факторы, вызывающие формирование диабета 2-го типа, пока неизвестны; тем не менее, поврежденные бета-клетки в обоих случаях имеет одинаковую судьбу, ибо подвергаются действию окислительного стресса и цитокинов с цитотоксическим эффектом, что ведет в итоге к некрозу или апоптозу бета-клеток



**Рис. 1. А.** Модель постинфекционного аутоиммунного синдрома. **Б.** Модель хронического заболевания аутоиммунной природы, сахарного диабета 1 типа. АГ — антиген, ИЛ — интерлейкин.

На первом этапе необходимо, используя технологию генетического полиморфизма и секвенирования ДНК, а также информацию, полученную из 3 основополагающих источников — генеалогического древа, анамнеза *morbi* и анамнеза *vita*, идентифицировать людей, предрасположенных к развитию данного заболевания, сформировав для второго этапа соответствующие группы риска. В ходе же первого этапа анализ ассоциаций генного полиморфизма с конкретным заболеванием и разработка на этой основе комплекса превентивных мероприятий составляют генетическую основу персонализированной медицины [12].

Технологически такие задачи решают с использованием микробиочипов. При этом каждая болезнь характеризуется своим «штрих-кодом» — изменением уровня транскрипции набора генов, характерного для данной нозологии. Именно поэтому микрочипы могут быть использованы для оценки динамики транскрипции генов, связанной с развитием заболевания на всех его стадиях, включая стадию доклинической патологии [13]. В результате индивидум становится обладателем информации о рисках развития у него предполагаемого заболевания, а врач с учетом результатов молекулярно-генетического анализа принимает решение о выборе превентивного протокола.

На данный момент по механизму раскрыты те заболевания, которые затрагивают кодирующую часть гена. Возможно, не меньшее число мутаций, вызывающих болезни, будет найдено и в участках регуляции транскрипции, сплайсинга и т.н. стабильности ДНК, что внесет неоценимый вклад в конструирование протоколов доклинической генодиагностики, и чему способствуют новые методы ДНК-анализа, привязанные к метагеномному скринингу. Так, например, GWAS (genome wide association studies) — полногеномный скрининг ассоциаций с помощью высокоэффективных методов ДНК-секвенирования, который рассматривает и учитывает каждого индивидума как динамическую экосистему с эндогенным микробиомом, требующим надзора [14].

Отобранные по итогам первого (молекулярно-генетического) этапа лица подвергаются обследованию с использованием целевых панелей фенотипических биомаркеров (задачи протеомики). При этом отслеживают потенциальных больных, а также лиц, предрасположенных к развитию заболевания, и/или лиц, находящихся на стадии доклинической патологии.

В качестве наиболее перспективных моделей, иллюстрирующих возможности доклинической диагностики и превентивной фармакопревенции, могут быть использованы хронические заболевания аутоиммунной природы (рис. 1 А, Б):

- рассеянный склероз (РС);
- системные аутоиммунные заболевания (системная красная волчанка и ревматоидный артрит);
- сахарный диабет 1-го типа (СД1).

К двум наиболее значимым факторам, способствующим индукции таких заболеваний, отнесены:

- генетическая предрасположенность к формированию постинфекционного аутоиммунного синдрома (ПИФАС), диктуемая локусами *HLA*;
- особенности микробиома, а именно носительство патогенов с мимикрирующим потенциалом, которые способны провоцировать развитие ПИФАС [15].

**Отраслевые задачи доклинической диагностики**

Рассмотрим 2 примера, наглядно иллюстрирующих возможности доклинической диагностики: СД1 и РС

(рис. 2 А, Б и рис. 3). В основе аутоиммунных заболеваний лежит универсальный дегенеративно-воспалительный процесс, состоящий из ряда основных стадий, включая стадию доклинической патологии.

- **Стадия 1 (доклиническая стадия)** — повреждение функционально значимых клеток (инсулин-продуцирующих β-клеток) в случае СД1 и миелиновой оболочки — в случае РС (олигодендроцитов и аксонов факторами смешанной природы, например патогенами с мимикрирующими свойствами) с последующим запуском механизмов аутоагрессии и развитием хронического воспаления, сопровождающегося:
  - в случае СД1 — истощением популяции β-клеток и снижением уровня секреции инсулина,
  - а в случае РС — демиелинизацией.

На этих стадиях определяют:

- в случае доклинической стадии СД1 — появление и рост титров антиостровковых аутоантител как важнейшего фактора биопредикции СД1;
- в случае доклинической стадии РС — продукты экспрессии мишеней генного уровня (например, функционально значимые транскрипты) и анти-миелиновые аутоантитела с протеолитической в отношении миелина активностью (АТ-протеазы).

Это позволяет лечащему врачу работать с лицами из групп риска еще на доклинической стадии, в связи с чем совокупность данных геномики, протеомики и метаболомики оказывается важным методом оценки рисков для членов семей пациентов с диагнозами СД1 и РС.

- **Стадии 2 и 3 (клинические)** — стадии клинической манифестации, ассоциированной:
  - в случае СД1 — с гибелью β-клеток и прекращением секреции инсулина;
  - в случае РС — с массивной демиелинизацией и нейродегенерацией.

Нами была предложена универсальная модель аутоиммунного заболевания с учетом ассоциированного с основным заболеванием ПИФАС (см. рис. 1 А) как одного из ключевых факторов, предшествующих клинической картине заболевания и способствующих его хронизации. Такая модель значительно облегчает поиск и определение биопредикторов хронизации, необходимых для формулировки прогноза и разработки протоколов фармакопревенции [16].

На сегодняшний день достаточно хорошо определены почти все гены, мутации в которых увеличивают риск развития СД1, а именно следующие локусы:

- обеспечивающий защиту β-клеток от апоптоза — *TNFAIP3*;
- отвечающий за секрецию инсулина и его метаболизм — *INS*;
- контролирующий состояние иммунитета и отвечающий за риски развития ПИФАС — *ERBB3*, *PTPN22*, *IL2RA*, *SH2B3*, *PTPN2*, *CTLA4* и др.;
- *DR4* — влияющий на процессы синтеза антиинсулиновых аутоантител и формирования синдрома инсулинорезистентности;
- *DR3* — влияющий на процессы биосинтеза антиостровковых аутоантител и тем самым способствующий формированию доклинической картины ПИФАС;
- *DQ* — определяющий риски аутоагрессии, ассоциируемой с СД1, и способствующий таким образом формированию ПИФАС (в частности, *DR3-DQ2* и *DR4-DQ8*);
- *DR2*, *DR6*, *DR7* — диабетопротективные локусы.

Наиболее информативными из списка генетическими маркерами СД1 являются *HLA*-локусы, опреде-



**Рис. 2.** А. Модель развития аутоиммунного заболевания. Б. Стадии развития сахарного диабета (СД) 1 типа. НТГ — нарушенная толерантность к глюкозе.

ленные комбинации которых способствуют формированию доклинической картины ПИФАС как биопредиктора СД1.

К не менее значимым факторам предикции СД1 относится сфера протеомики. Так, наличие и положительная динамика титров циркулирующих в крови антиостровковых и иных аутоантител, дают возможность предсказывать развитие СД1 у серопозитивных лиц-носителей с вероятностью 65–70%. А появление антител к двум или более островковым аутоантигенам значительно достовернее иллюстрируют риски перехода доклинической стадии в «болезнь», чем высокие титры антител к отдельно взятому антигену.

К генам, мутации которых являются факторами предрасположенности к РС, относят:

- гены иммунной системы (*DRB1*, *OPN*, *CD44*, *CD24*, *CCR 5oe 32*);
- гены, ответственные за метаболизм миелиновых белков (*MBP*, *CTLA4*, *ICAM1*);
- гены, контролирующие секрецию провоспалительных цитокинов (*TGFB1*, *TNF*) и др.

Еще более информативны некоторые комбинации генов, ассоциированные с развитием РС, а именно:

- *509 TGFB1*, *C DRB\*18(3)*, *CTLA4\*G*;
- *238TNF\*B1*, *308TNF\*A2*, *CTLA4\*G*.

Такие комбинации способствуют формированию картины ПИФАС (см. рис. 1 А) на доклинической стадии, что

Современная модель патогенеза РС

Доклиническая стадия:

- у генетически предрасположенного индивидуума мимикрирующие с миелиновыми аутоАГ микробные АГ активируют АПК через TPP (TLRs), что ведет к индукции и прогрессированию аутоиммунного хронического воспаления;
- формируемый иммунорегуляторный дефект (снижение уровня Treg Лц) обуславливает персистирующее образование АР-ЦТЛ и аутоАТ, т.е. самоподдержание хронического аутоиммунного воспаления с демиелинизацией.

Стадия клинической манифестации:

- активированные миелин-адресованные АР-ЦТЛ мигрируют в область ЦНС, где распознают аутоАГ, презентируемый АПК микроглии; воспаление поддерживается также секрецией Th1-Лц цитокинов, запускающих воспалительный каскад;
- самоподдержание процесса хронического воспаления обеспечивается природными механизмами, включающими в себя АР-ЦТЛ, секретирующих Th3 или Tr1 Т-Лц, аккумулируемых в ЦНС и подавляющих (красные стрелки) провоспалительные АР-Т-Лц (зеленые стрелки).

62

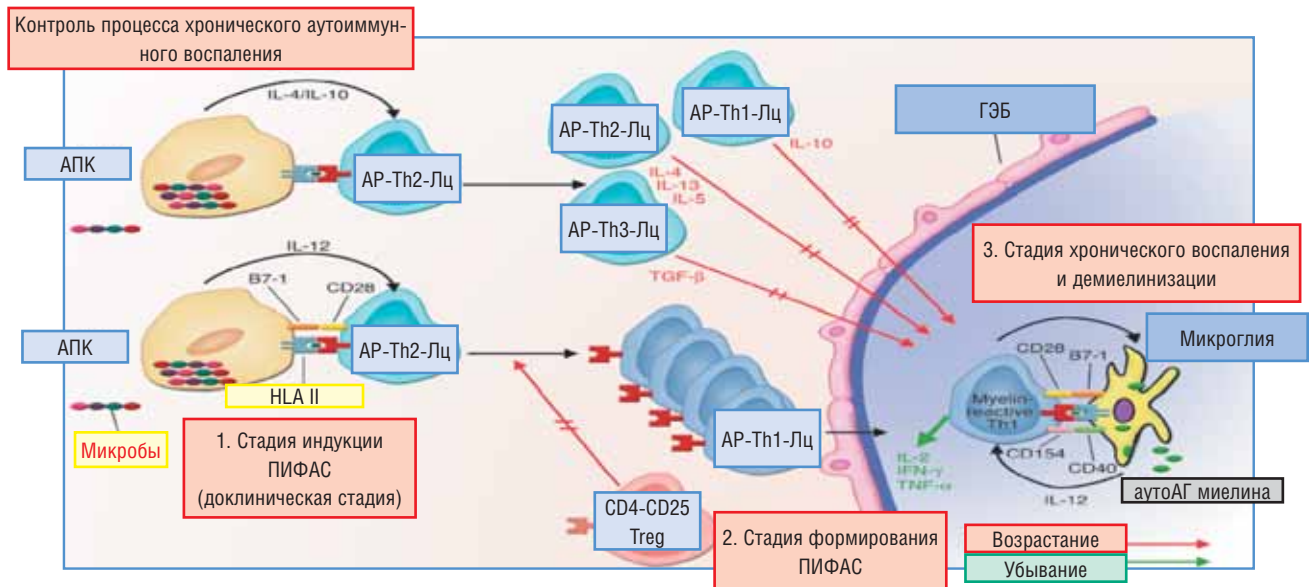


Рис. 3. Современная модель патогенеза рассеянного склероза (РС). АПК — антиген-презентирующий комплекс, АутоАГ — аутоантигены, ГЭБ — гематоэнцефалический барьер, ПИФАС — постинфекционный аутоиммунный синдром, Treg — Т-регуляторные клетки, IL-12 — интерлейкин-12, IFN- $\gamma$  — интерферон- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , $\beta$  — фактор некроза опухоли- $\alpha$ , $\beta$ , АР-Лц — аутореактивные лейкоциты, HLA — человеческий лейкоцитарный антиген.

может служить весьма информативным биопредиктором демиелинизации.

Не менее важным методом оценок рисков являются аутоантитела к основному белку миелина (ОБМ), в особенности те, которые обладают протеолитической активностью в отношении основного белка миелина как аутоантигенного субстрата (АТ-протеазы), демонстрируя достоверную корреляцию:

- с конкретным типом течения заболевания;
- с масштабом инвалидизации пациента (на основе анализа шкалы EDSS).

При этом АТ-протеазы впервые регистрируют на доклинических стадиях демиелинизации (за 1–2 года до появления первых МРТ-признаков РС) [17].

Сочетанное гено- и фенотипирование лиц из групп риска на биопредикторы обеих категорий (геномики и протеомики одновременно) существенно повышает предиктивный индекс (до 85–90%), облегчая селекцию лиц из групп риска для последующей фармакопревенции [18].

Отраслевые задачи превентивной фармакотерапии

При построении стратегии и тактики фармакопревенции заболеваний аутоиммунной природы врач должен учитывать 2 основополагающих момента, составляющих основу доклинической диагностики, а именно:

- необходимость приостановки/блокады аутоагрессии;
- восстановление морфофункционального ресурса ткани.

Сохранность структурной архитектоники и функций пораженной ткани может быть достигнута с использованием:

- клеточной и/или генной трансплантации;
- фармакоконструкций с регенераторным и/или репаративным потенциалом;
- стволовых клеток, включая технологию трансдифференцировки [19].

И, наконец, принципиально новая стратегия — использование АТ-протеаз в качестве инструментов фармакопревенции, тем более что АТ-протеазы возможно перепрограммировать в целях оптимизации их лечебного эффекта на различных стадиях заболевания.

Перспективы предиктивной, превентивной и персонифицированной медицины как глобального инструмента реструктуризации всей системы здравоохранения

Реализация программы ПППМ потребует технологии правильной интерпретации результатов перед тем, когда существующая модель взаимодействия лечащего врача и пациента постепенно будет вытесняться моделью «медицинский советник—здоровый человек». Именно

по этой причине очевидна еще одна необходимость — потребность в организации комплексных (исследовательских, клинических и учебно-образовательных) проектов в сфере ПППМ, раскрывающих содержание нового направления, поскольку только системный подход к формированию инновационной инфраструктуры, ориентированной на алгоритмы предикции и превенции, внесет существенный вклад в модернизацию здравоохранения.

Ориентировочные расчеты показывают, что лица, которые находятся под регулярным наблюдением, позволяющим обнаружить патологические сдвиги на доклинических этапах болезни, и по отношению к которым принимаются меры по их своевременному устранению, получают дополнительно не менее 8–15 лет полноценной и активной трудоспособности к общей продолжительности жизни. Это позволит обществу и государству экономить на каждом таком индивидууме от нескольких тысяч до нескольких десятков тысяч долларов США ежегодно. А широкое внедрение ПППМ с обязательным этапом доклинической диагностики в медицинскую практику позволит достичь социальной экономии, исчисляемой десятками миллиардов долларов США в год на каждом миллионе лиц, находящихся под профилактическим наблюдением [20].

В связи с этим одной из приоритетных составляющих в сфере инноваций в числе прочих следует считать развитие профилактического направления медицинской помощи. В основе данного подхода должны лежать постулаты, которые изменяют саму культуру и ментальность общества. В первую очередь, это осознание ответственности человека за свое здоровье и здоровье своих детей, активное участие населения в проводимых медицинскими учреждениями профилактических мероприятиях по укреплению общественного здоровья и биобезопасности страны [21].

Вместе с тем идеи ПППМ сегодня не могут быть реализованы среди всех групп населения страны, поскольку в силу своей ресурсоемкости ПППМ требует больших финансовых вливаний, в т.ч. и со стороны пациента. Поэтому без государственной и гражданской поддержки подобная национальная идея останется без должного внимания, несмотря на всю свою перспективность и социальную направленность.

Реализация данного проекта требует решения нескольких первоочередных задач. Во-первых, это создание нормативно-правовой базы, которая будет отвечать всем запросам общества по охране индивидуального здоровья — регламент госгарантий системе ПППМ. Во-вторых, каналы финансирования отрасли, включающие в себя как государственные, так и частные источники. В-третьих, нормы регулирования отношений врача и пациента. И, наконец, система ознакомления с новой дисциплиной в структуре здравоохранения.

Кроме того, в силу новизны данного направления, стоит не только совершенствовать, но и радикально менять систему подготовки медицинских кадров, качественно меняя уровень квалификации и расширяя технологический спектр предоставляемых населению услуг, а также разрабатывая принципиально новые подходы к формированию академических школ нового поколения в целом.

Местом реализации и разработки данной стратегии могут стать кафедры, а позднее — факультеты ПППМ на базе ведущих медицинских вузов, поликлинических и консультативно-диагностических центров страны, ранее имевших опыт профилактической работы. При этом стоит помнить, что для выхода из кризиса мало одних лишь организационно-финансовых мер. Необходимо целостное изменение всей идеологии здравоохранения, в т.ч. идеологии, напрямую затрагивающей систему подготовки профессиональных медицинских кадров нового поколения.

## Заключение

В настоящее время мы находимся на грани глобальных перемен, которые иллюстрируют переход от системы здравоохранения, ориентированной на лечение заболеваний, к системе, сосредоточенной на защите индивидуального здоровья путем управления собственным. Не исключено, что следующие поколения будут говорить о XXI в. как о времени, когда лечение стало превентивным и персонифицированным, а его результаты — предсказуемыми и гарантированными.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ray R. The future of medicine. *Am. J. Med.* 2012; 125 (3): 236–239.
2. Jones T, Price P. Development and experimental medicine applications of PET in oncology: a historical perspective. *Lancet Oncol.* 2012 Mar; 13 (3): 116–125.
3. Patel N.R., McPhail M.J., Shariff M.I., Keun H.C., Taylor-Robinson S.D. Biofluid metabolomics using (1)H NMR spectroscopy: the road to biomarker discovery in gastroenterology and hepatology. *Exp. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2012 Apr; 6 (2): 239–251.
4. Henderson J. Health economics and Policy. *Cincinnati, Ohio: South-Western College publishing.* 1999. P. 1–30, 290–321, 378–414.
5. Hood L., Balling R., Auffray C. Revolutionizing medicine in the 21(st) century through systems approaches. *Biotechnol. J.* 2012; 002/biot.201100306.
6. Tran B., Dancy J.E., Kamel-Reid S., McPherson J.D., Bedard P.L., Brown A.M., Zhang T., Shaw P., Onetto N., Stein L., Hudson T.J., Neel B.G., Siu L.L. Cancer genomics: technology, discovery, and translation. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30 (6): 647–660.
7. Hagmann H., Thadhani R., Benzing T., Karumanchi S.A., Stepan H. The promise of angiogenic markers for the early diagnosis and prediction of preeclampsia. *Clin. Chem.* 2012; 58 (5): 837–845.
8. Moons K.G., Kengne A.P., Woodward M., Royston P., Vergouwe Y., Altman D.G., Grobbee D.E. Risk prediction models: I. Development, internal validation, and assessing the incremental value of a new (bio)marker. *Heart.* 2012; 98 (9): 683–690.
9. Moons K.G., Kengne A.P., Grobbee D.E., Royston P., Vergouwe Y., Altman D.G., Woodward M. Risk prediction models: II. External validation, model updating, and impact assessment. *Heart.* 2012; 98 (9): 691–698.
10. Saubermann A.J., Lagasse R.S. Prediction of rate and severity of adverse perioperative outcomes: «normal accidents» revisited. *Mt. Sinai J. Med.* 2012; 79 (1): 46–55. doi: 10.1002/msj.21295.
11. Farra N., Manickaraj A.K., Ellis J., Mital S. Personalized medicine in the genomics era: highlights from an international symposium on childhood heart disease. *Future Cardiol.* 2012; 8 (2): 157–160.
12. Сучков С.В., Мартынов Л.А., Винокуров И.А., Костюше Д.С., Андреева А.А., Гаджиева С.И., Гнатенко Д.А., Шонфилд И., Лопухин Ю.М., Ноткинс А., Пальцев М.А. О перспективах развития доклинической диагностики в рамках задач превентивно-профилактической и предиктивной медицины. *Эфферентная и физико-химическая медицина* 2010. С. 63–74.

13. Maeng J.H., Lee B.C., Ko Y.J., Cho W., Ahn Y., Cho N.G., Lee S.H., Hwang S.Y. A novel microfluidic biosensor based on an electrical detection system for alpha-fetoprotein. *Biosens Bioelectron.* 2008; 23 (9): 1319–1325. Epub 2007 Dec 5.
14. Stewart S.E., Yu D., Scharf J.M., Neale B.M., Fagerness J.A., Mathews C.A., Arnold P.D., Evans P.D., Gamazon E.R., Osiecki L., McGrath L., Haddad S., Crane J., Hezel D., Illman C., Mayerfeld C., Konkashbaev A., Liu C., Pluzhnikov A., Tikhomirov A., Edlund C.K., Rauch S.L., Moessner R., Falkai P., Maier W., Ruhrmann S., Grabe H.J., Lennertz L., Wagner M., Bellodi L., Cavallini M.C., Richter M.A., Cook E.H. Jr., Kennedy J.L., Rosenberg D., Stein D.J., Hemmings S.M., Lochner C., Azzam A., Chavira D.A., Fournier E., Garrido H., Sheppard B., Umana P., Murphy D.L., Wendland J.R., Veenstra-Vanderweele J., Denys D., Blom R., Deforce D., Van Nieuwerburgh F., Westenberg H.G., Walitza S., Egberts K., Renner T., Miguel E.C., Cappi C., Hounie A.G., Conceicao do Rosario M., Sampaio A.S., Vallada H., Nicolini H., Lanzagorta N., Camarena B., Delorme R., Leboyer M., Pato C.N., Pato M.T., Voyiaziakis E., Heutink P., Cath D.C., Posthuma D., Smit J.H., Samuels J., Bienvenu O.J., Cullen B., Fyer A.J., Grados M.A., Greenberg B.D., McCracken J.T., Riddle M.A., Wang Y., Coric V., Leckman J.F., Bloch M., Pittenger C., Eapen V., Black D.W., Ophoff R.A., Strengman E., Cusi D., Turiel M., Frau F., Macciardi F., Gibbs J.R., Cookson M.R., Singleton A., Hardy J., Crenshaw A.T., Parkin M.A., Mirel D.B., Conti D.V., Purcell S., Nestadt G., Hanna G.L., Jenike M.A., Knowles J.A., Cox N., Pauls D.L. Genome-wide association study of obsessive-compulsive disorder. *Mol. Psychiatry.* 2012; doi: 10.1038/mp.2012.85.
15. Pal'tsev M.A., Cherepakina N.E., Shoenfeld Y., Shogenov Z.S., Tabaksoeva Zh.A., Agirov M.M., Suchkov S.V. Post-infection clinico-immunologic syndrome: fundamentals of etiopathogenesis and immunogenodiagnostic strategy *Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk.* 2009; 10: 25–31.
16. Suchkov S., Kostyushev D., Gnatenko D., Gadzhieva S. and Paltsev M. Preclinical and predictive algorithms in monitoring patients with autoimmune diseases and their relatives-at-risk. Autoimmune disorders — current concepts and advances from bedside to mechanistic insights. Fang-Ping Huang (ed.). 2011. ISBN: 978-953-307-653-9, InTech.
17. Kostyushev D., Tsarev I., Gnatenko D., Paltsev M., Suchkov S. Myelin-associated serological targets as applicable to diagnostic tools to be used at the preclinical and transient stages of multiple sclerosis progression. *Open J. Immunol.* 2011; 1 (3): 80–86. doi:10.4236/oji.2011.13010 Copyright.
18. Kelloff G.J., Sigman C.C. Cancer biomarkers: selecting the right drug for the right patient. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2012; 11 (3): 201–214.
19. Robinton D.A., Daley G.Q. The promise of induced pluripotent stem cells in research and therapy. *Nature.* 2012; 481 (7381): 295–305.
20. Sheiman I., Shishkin S. New challenges and new objectives problems of economic transition. *Russian Health Care.* 2010; 52 (12): 4–49.
21. Pozgar, George D. Legal aspects of health care administration. 10th ed. N.-Y. 2007. Chapter 21.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Татьяна Александровна Бодрова**, магистр-исследователь Национального исследовательского университета «Высшая школа экономики»

**Адрес:** 101000, Москва, ул. Мясницкая, д. 20; **тел.:** (495) 771-32-32, **факс:** (495) 628-79-31

**e-mail:** tatianabodrova@gmail.com

**Дмитрий Сергеевич Костюшев**, стажер-исследователь кафедры патологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова

**Адрес:** 119991, Москва, ул. Трубевская, д. 8, стр. 2; **e-mail:** dkostushev@gmail.com

**Елена Николаевна Антонова**, стажер-исследователь кафедры патологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова

**Адрес:** 119991, Москва, ул. Трубевская, д. 8, стр. 2; **тел.:** (495) 609-67-00

**Дмитрий Александрович Гнатенко**, стажер-исследователь кафедры патологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова

**Адрес:** 119991, Москва, ул. Трубевская, д. 8, стр. 2; **e-mail:** gnatenkodmitrij@gmail.com

**Мария Олеговна Бочарова**, стажер-исследователь кафедры патологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова

**Адрес:** 119991, Москва, ул. Трубевская, д. 8, стр. 2; **e-mail:** maria.bocciarova@gmail.com

**Пальцев Михаил Александрович**, д.м.н., академик РАН и РАМН, заместитель директора по медико-биологическим исследованиям НИЦ «Курчатовский институт»

**Адрес:** 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1; **тел.:** (499) 196-95-39

**Лопухин Юрий Михайлович**, д.м.н., академик РАМН, почетный директор НИИ физико-химической медицины ФМБА РФ

**Адрес:** Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а; **Тел.:** (499) 246-45-16, **e-mail:** yuri.lopukhin@ripcm.org.ru

**Сучков Сергей Викторович**, д.м.н., профессор кафедры патологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова и профессор кафедры клинической иммунологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова

**Адрес:** 119991, Москва, ул. Трубевская, д. 8, стр. 2; **Тел.:** (495) 708-31-56

**e-mail:** ssuchkov57@gmail.com



С.В. Сучков<sup>1,2</sup>, Д.А. Гнатенко<sup>1</sup>, Д.С. Костюшев<sup>1</sup>, С.А. Крынский<sup>1</sup>, М.А. Пальцев<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

<sup>2</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Российская Федерация

<sup>3</sup> РНЦ «Курчатовский институт», Москва, Российская Федерация

# Протеомика как фундаментальный инструмент доклинического скрининга, верификации анализов и оценки применяемой терапии

*Протеомика — наука, изучающая белки живых организмов, их функции и взаимодействие, на сегодняшний день является незаменимым компонентом в создании протоколов доклинической диагностики. В сочетании с достижениями геномики, биоинформатики, использование технологий протеомики — мощный инструмент ранней диагностики заболеваний, а также динамической оценки протекания патологических процессов (в частности, на фоне проводимой фармакотерапии). В статье рассмотрены общие и частные аспекты протеомики, основанные на базе моделей кардио- и онкозаболеваний.*

**Ключевые слова:** протеомика, диагностика, предикция, трансляционная медицина.

65

## Введение

Известно, что абсолютное большинство патологических изменений в функционировании клеток, тканей и органов сопровождается отклонением от физиологического белкового профиля нормального здорового организма. В современных условиях анализ и прогнозирование подобных изменений выходят на первый план при создании протоколов доклинического скрининга (т.е. определение скрытых и латентных белковых «предвестников» заболевания, а также оценка эффективности применяемых методов терапии). Поиск, определение, разделение, количественное и качественное определение белковых молекул, играющих роль в обеспечении чувствительности либо непосредственно в формировании заболевания, являются основными задачами протеомики.

Протеомика (англ. *proteomics*) — наука, изучающая белковый состав биологических объектов, а также структурно-функциональные свойства белковых молекул. Ее задачей является идентификация и количественное определение совокупных индивидуальных белков, которые содержатся в биологических образцах (сыворотка крови, спинномозговая жидкость, моча, биоптаты) на разных стадиях развития заболевания, а также на фоне проводимой терапии. Совокупность всех белков организма, т.е., по сути, его белковый профиль, носит название «протеом».

## Современный технологический арсенал протеомики

Фракционирование и разделение белков, содержащихся в конкретном биологическом образце, осуществляют

S.V. Suchkov<sup>1,2</sup>, D.S. Kostushev<sup>1</sup>, S.A. Krynskiy<sup>1</sup>, D.A. Gnatenko<sup>1</sup>, M.A. Paltsev<sup>3</sup>

<sup>1</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russian Federation

<sup>2</sup> A.I. Evdokimov Moscow State Medical Dental University, Russian Federation

<sup>3</sup> Kurchatov's Scientific Institute, Moscow, Russian Federation

## Proteomics as a fundamental tool for subclinical screening, tests verification and assessment of applied therapy

*Proteomics is a science which studies proteins of the body, interactions of proteins and their biological functions. Today, it is an essential partner in establishing preclinical diagnosis protocols. In conjunction with other sciences such as genomics and bioinformatics it will be possible to diagnose diseases on the earliest stages before its clinical onset or to gain the dynamics of pathological processes in the body and response to drug therapy. This article discusses general aspects of proteomics as well as special ones on the basis of models of cardiac diseases and cancer.*

**Key words:** proteomics, diagnostics, prediction, translation medicine.

посредством электрофореза в полиакриламидном геле. Для идентификации же выделенных белков применяют широкую панель методов, среди которых следует выделить:

- микросеквенирование белков;
- жидкостную хроматографию высокого давления (HPLC) и высокого разрешения;
- методы иммунохимического тестирования с использованием моноклональных антител к индивидуальным антигенным детерминантам;
- масс-спектрометрию.

В последние годы процедуру детекции белковых молекул существенно оптимизировали, разработав для этой цели широкую панель микробиочипов с различными типами детекции, например SELDI (surface-enhanced laser desorption/ionization) и/или MALDI (matrix-assisted laser desorption/ionization). Подходы такого рода позволили анализировать одновременно до 10 000 индивидуальных белков в одном образце, фиксируя при этом мельчайшие сдвиги в их концентрациях под влиянием различных факторов. В итоге, если белки различаются хотя бы по одному из присущих им параметров (суммарному заряду молекулы или молекулярной массе), вышеуказанный подход позволяет добиваться их разделения с последующей идентификацией и характеристикой.

Одним из наиболее перспективных методов идентификации белков является масс-спектрометрия, основанная на формировании в вакуумном пространстве ионизированных частиц анализируемого вещества с последующим анализом отношения массы ионов к их заряду. Существуют различные модификации масс-спектрометрии, которые подразделяются в зависимости от используемых методов ионизации и детекции частиц. Время-пролетный масс-спектрометр регистрирует отдельные ионы с указанием значения отношения массы к заряду ( $m/z$ ) иона, числа ионов и времени пролета ионов от источника до детектора ионов [1].

Меньшим разрешением обладают хроматографические методы, позволяющие осуществить разделение белков по физическим свойствам молекул: заряду (ионообменная хроматография), параметрам гидрофобности (гидрофобная хроматография), размеру (гель-фильтрация), способности к связыванию с различными лигандами, например антителами (аффинная хроматография). Речь в этих случаях идет о вариантах жидкостной хроматографии, т.к. в газовой фазе молекулы белка не существуют. В протеомном анализе часто используют комбинацию масс-спектрометрии и жидкостной хроматографии (хромато-масс-спектрометрия): то есть, по сути, создание и внедрение в практику масс-спектрометрии привело к скачку в развитии протеомики.

Наконец, к методам протеомики относится иммунохимический анализ с использованием моноклональных антител к индивидуальным антигенным детерминантам, к линейным и конформационно-зависимым, включая ряд криптопептидов.

Важную роль при работе со срезами тканей играют иммуногистохимические методы исследования, основанные на специфических взаимодействиях антиген-антитело. Иммуногистохимические методы обладают высокой чувствительностью и специфичностью, позволяют определить практически любой интересующий антиген (рамки применения метода ограничиваются только имеющейся в распоряжении библиотекой антител).

Выявление связанных антител осуществляют с помощью ферментных или флуоресцентных меток. В клинической практике более распространены ферментные метки, поскольку метод иммунофлуоресценции, хотя

и является более чувствительным и специфичным, но требует дорогостоящего оборудования. К тому же, флуоресцентные красители имеют короткое время хранения. Некоторые методики включают применение полимерных носителей для антител, что увеличивает чувствительность реакции [2].

Конечным этапом столь трудоемкого и многоступенчатого исследования является идентификация белка при помощи баз данных (биоинформатика).

Биоинформатика с позиции прикладной науки позволяет не только хранить, анализировать и обрабатывать гигантские объемы данных, необходимые для проведения научных и диагностических процедур, но также способна обеспечивать получение информации о функциональных свойствах определенных белковых молекул на основании некоторых данных по структуре генома. Таким образом, не имея практически никакой информации по взаимодействию групп молекул между собой, их функциям и свойствам, в некоторых случаях можно достоверно, с высокой степенью вероятности, определить характеристики изучаемого объекта.

### Протеомика как фундамент для научных исследований с последующим внедрением результатов в клиническую практику в рамках принципов и задач трансляционной медицины

В исследованиях нередко необходим анализ большого числа однотипных образцов. Между тем каждое исследование требует материальных и временных затрат, минимизировать которые позволяет метод тканевых матриц, подразумевающий создание библиотек образцов тканей с последующей возможностью одновременного (на одном стекле) исследования множества срезов [2]. Типовая последовательность операций при исследовании такого рода, такова:

- отбор образца (клетки, ткань, биологическая жидкость);
- приготовление образца (лизис клеток, экстракция белков);
- двумерный электрофорез в полиакриламидном геле;
- проявление белковых пятен на геле;
- анализ электрофореграммы (число пятен, их расположение);
- выделение участков геля, содержащих индивидуальные белковые пятна;
- расщепление индивидуальных белков (трипсинизация) непосредственно в геле;
- масс-спектрометрический анализ (определение аминокислотных последовательностей фрагментов индивидуальных белков);
- идентификация каждого белка и измерение его концентрации, документирование, обработка результатов;
- интерпретация полученных данных с помощью методов биоинформатики — анализ баз данных, получение дифференциального профиля белков.

С помощью такой процедуры уже открыты новые белковые маркеры и получены впечатляющие результаты в области кардиоваскулярной протеомики и онкопротеомики.

### Частные аспекты протеомики

Двумя основными разновидностями протеомики являются структурная и функциональная. Первая изучает

структуру индивидуальных белков, в то время как вторая рассматривает их во взаимодействии с другими белками, исследует происходящие при этом конформационные, биохимические и функциональные изменения. Совокупность всех белков клетки, взаимодействующих с конкретной белковой молекулой-мишенью, носит название «интерактом».

Первичным диагностическим целям служит прежде всего структурная протеомика, в то время как функциональная является в большей степени стезей научных исследований, а также фундаментом для разработок принципиально новых лекарственных средств, работающих с конкретными и индивидуальными фармакотерапевтическими мишенями клеточного и молекулярного уровня.

### **Протеомика плазмы крови**

Среди всех тканей организма плазма крови в наибольшей степени отражает белковый состав: протеом плазмы включает около 1/10 всех присутствующих в организме белков. Среди присутствующих в плазме белков выделяют:

- белки, функционирующие в плазме;
- иммуноглобулины;
- гормоны;
- цитокины;
- транзиторно проходящие через плазму белки;
- внутриклеточные белки, попадающие в плазму при разрушении или повышении проницаемости клеток;
- белки, отсутствующие в норме и секретируемые малигнизированными клетками;
- чужеродные белки [3].

Не меньше 1/2 белков плазмы существует в виде мультипротеиновых комплексов. С помощью особых молекулярных меток, вводимых в молекулу белка, возможны выделение и изоляция таких комплексов в целях их дальнейшего исследования на предмет особенностей конкретного интерактома.

К настоящему времени идентифицировано более 10 000 белков плазмы на основе масс-спектрометрического анализа одного или двух пептидов каждого белка и более 3000 белков — при идентификации двух и более пептидов. Почти 900 белков плазмы идентифицированы с достоверностью 95%.

Возможности, открываемые протеомным анализом плазмы крови, весьма заманчивы. Однако плазма как типовой тест-образец имеет и ряд существенных недостатков. К таковым относится очень большой (до 10 порядков) разброс концентраций белков и преобладание среди них диагностически мало значимых. При изучении изменений протеома плазмы, например при сердечно-сосудистой патологии, сначала нужно найти способ отделить эти незначимые белки, что представляет значительную трудность. Следовательно, оптимальным по чувствительности и специфичности будет исследование образца, полученного при биопсии органа—мишени, что, однако, не всегда применимо.

Следует отметить, что, несмотря на интенсивные исследования в данной области, темпы внедрения новых биомаркеров в клиническую практику остаются низкими [4]. Это объясняется как объективными, так и субъективными причинами. Одной из них следует считать преимущественно эмпирический подход к организации исследований без их должного теоретического обоснования, а также недостаточное развитие инфраструктурных связей между исследовательскими центрами, отсутствие унифицированной номенклатуры и проблемы с систематизацией имеющихся данных. Фактические данные в немалой

мере остаются разрозненными, поскольку темпы их накопления опережают возможности науки к их интеграции.

### **Кардиоваскулярная протеомика**

Этот раздел протеомики относится к развивающимся наиболее интенсивно. Уже созданы базы данных по сотням белков протеома миокарда, уровни которых изменяются при хронических и острых сердечно-сосудистых патологиях. Наибольшие успехи достигнуты в изучении дилатационной кардиомиопатии. При этом заболевании изменяется содержание более 100 белков, которые можно разделить на 3 основные группы:

- белки, связанные с энергией и метаболизмом;
- белки, индуцируемые стрессом;
- белки, обеспечивающие контрактильные функции и формирование цитоскелета.

Такие результаты вполне соответствуют современным представлениям о патогенезе дилатационной кардиомиопатии.

Не столь значительны успехи в изучении патогенеза ишемической болезни сердца и хронической сердечной недостаточности. Не всегда имеется возможность адекватно моделировать приведенные виды патологии: некоторые результаты, получаемые на животных моделях, не согласуются с таковыми на человеке. Большая часть достоверных результатов связана с ролью в развитии и предотвращении ишемической болезни сердца и хронической сердечной недостаточности т.н. белков теплового шока (Hsp 27) [5]. Особое внимание уделяют изучению протеома при реперфузионном синдроме. После реперфузионной травмы обнаруживают изменения структуры сократительных белков: MLC-2 (легкая цепь миозина 2), всех трех белков тропонинового комплекса. Исследуют сигнальные механизмы, задействованные в патогенезе реперфузионного синдрома, хотя целостная картина белковых взаимодействий до конца все еще не установлена. Проводились исследования по изучению феномена дистантного прекодиционирования миокарда перед ишемической травмой, когда гипоксическое состояние создают сначала в каком-либо ином органе, а затем в сердце. При этом уменьшается реперфузионное повреждение. Однако до настоящего времени выявить кандидатные молекулы на роль гуморальных медиаторов прекодиционирования не удалось.

Изучение протеомики атеросклероза затруднено вследствие значительной функциональной гетерогенности фенотипа эндотелиальной ткани. Тем не менее, получены модели белкового профиля атеросклеротических бляшек, в которых обнаруживают изменения содержания таких белков, как Hsp27, кристаллинов, фактора некроза опухолей  $\alpha$ , катепсинов, пероксиредоксинов и др., всего около 80 белков [5]. Для создания биомаркеров атеросклероза предлагается исследовать профили белков плазмы, связанных с воспалением. Также изучается секреция белков атеросклеротическими бляшками *in vitro*.

При хронической сердечной недостаточности единственным клинически приемлемым биомаркером является В-натрийуретический пептид. Что касается ишемической болезни сердца, то здесь число биомаркеров значительно больше: сердечные тропонины, креатинкиназа и др. Однако их содержание повышается лишь на поздних стадиях ишемии, поэтому ведется поиск новых биомаркеров, позволяющих диагностировать ее ранние стадии. Другая область интересов — биомаркеры, специфичные именно для ишемии (а не некроза миокарда). На данный момент существует только один такой маркер — модифицированный ишемией альбумин (ischemic-

modified albumin, IMA). Тем не менее, невысокая специфичность затрудняет его использование вне комплекса с традиционными биомаркерами.

Исследование протеома сердца сопряжено со значительными трудностями. Наиболее точным методом анализа могла бы стать биопсия, но она трудновыполнима. В случае же исследования плазмы крови выделение среди огромной массы белков тех, которые могли бы иметь клиническое значение, представляет собой чрезвычайно непростую задачу. В связи с этим в исследованиях на животных нередко используют перфузию изолированных сердец кровезамещающими растворами с последующим исследованием выделенных тканями в раствор белков. Другим направлением является исследование перикардиальной жидкости. Так, у пациентов, которым проводилось кардиохирургическое вмешательство, исследовали уровень в перикардиальной жидкости белка H-FABP (белок, связывающий жирные кислоты, сердечный тип). Было обнаружено, что при ишемии уровень этого отсутствующего в плазме крови белка перикардиальной жидкости повышается [6].

### *Протеомика заболеваний легких*

При исследованиях заболеваний легких, с точки зрения протеомики, в качестве образцов используют легочную ткань, жидкость, выстилающую эпителий, альвеолы, плазму крови.

Для изучения протеома жидкости, выстилающей эпителий, в качестве образца применяют бронхоальвеолярную жидкость. Некоторые специфичные для легочной ткани белки, такие как глутатион-S-трансфераза и белок сурфактанта В, представлены в этой жидкости значительно больше, чем в плазме. Исследуют изменения бронхоальвеолярной жидкости при различных заболеваниях: саркоидозе, муковисцидозе, мезотелиоме, идиопатическом фиброзирующем альвеолите и др. Исследование бронхоальвеолярной жидкости также позволяет выделять альвеолярные макрофаги для последующей оценки их протеомного профиля [7].

Для получения образцов легочной ткани необходимо использование инвазивных технологий. Эти исследования в основном направлены на оценку изменений протеома при раке легкого. В исследовании D.P. Carbone [8] обнаружено, что содержание белков SUMO-2 (малый убиквитинподобный белок-2), тимозина-β4 и убиквитина коррелирует с прогнозом при немелкоклеточном раке легкого. Проводились исследования для определения белковых паттернов, отличающих инвазивные опухоли от нормального эпителия бронхов [9, 10]. Для повышения достоверности результатов при получении образцов использовали лазерную микродиссекцию с целью предотвращения захвата здоровых тканей. Тем не менее, прежде чем станет возможным внедрение новых биомаркеров в клиническую практику, потребуются длительные клинические испытания.

Для построения протеомных профилей аденокарцином также применяют исследование плазмы крови. Так, при мечении радиоактивным кислородом было обнаружено 211 белков, уровень которых при аденокарциноме легкого у мышей повышался, и 246 белков, содержание которых снижалось.

### **Онкопротеомика**

Основные задачи онкопротеомики таковы:

- построение протеомов и анализ их динамики при возникновении и развитии различных опухолей;

- идентификация путей передачи клеточных сигналов, приводящих к онкогенезу;
- идентификация маркеров для диагностики онкологических заболеваний и для мониторинга ответа опухоли и организма на хирургическое вмешательство и на разные типы терапии;
- определение иммунного ответа на онкогенез.

Онкомаркеры — макромолекулы (обычно белки с липидным или углеводным компонентом), наличие и концентрации которых в плазме крови и/или другой биологической жидкости коррелируют в определенной степени с наличием и ростом злокачественной опухоли. Среди большого разнообразия показателей, используемых в диагностике опухолей, есть как специфические онкомаркеры, так и некоторые вещества, концентрация которых может меняться при различных патологических процессах, в т.ч. и опухолевых. К наиболее специфичным онкомаркерам, практически отсутствующим в здоровом организме, относятся эмбриональные антигены (синтез которых прекращается на ранних стадиях эмбрионального развития и дерепрессируется при злокачественной трансформации): раковый эмбриональный антиген, α-фетопротеин. Опухоль-специфические антигены — молекулы (секреторные продукты или мембранные гликопротеины), экспрессируемые опухолевыми клетками более интенсивно, чем нормальными. К ним относятся СА 19-9, СА 15-3 (мембранные гликопротеины), а также простат-специфический антиген (ПСА) — секреторный продукт glanduloцитов простаты. Кроме того, в качестве онкомаркеров могут выступать гормоны (хорионический гонадотропин) и вещества других групп (тиреоглобулин, β<sub>2</sub>-микроглобулин и др.) [11]. Для прогнозирования течения заболевания исследуют белки-маркеры пролиферативной активности и белки-регуляторы апоптоза (рис. 1).

Области клинического применения онкомаркеров следующие:

- ранняя диагностика онкологических заболеваний;
- мониторинг и оценка эффективности лечения;
- определение прогноза.

Исходя из вышесказанного, основными требованиями к онкомаркеру являются достаточно высокая чувствительность и специфичность, корреляция с объемом опухоли, способность давать информацию о локализации опухоли.

Чувствительность и специфичность большинства доступных в настоящее время опухолевых биомаркеров часто оказывается недостаточной. Клинически пригодными считают маркеры, для которых чувствительность при специфичности 95% составляет более 50%, и лишь немногие из них при указанном уровне специфичности способны демонстрировать чувствительность более 70%. Существует 2 подхода к поиску новых онкомаркеров: первый предполагает направленные исследования на основе современных знаний о канцерогенезе, проверку определенных гипотез; второй — эмпирический поиск путем сравнения протеомов нормальных и опухолевых клеток либо путем сравнения белкового профиля сывороток здоровых и больных пациентов, пациентов; имеющих и не имеющих факторы риска.

Рассмотрим возможности применения современных онкомаркеров в 3 указанных выше аспектах.

1. Диагностика. Ввиду недостаточной чувствительности большинство онкомаркеров непригодно для скрининговых исследований в общей популяции. Однако некоторые из них могут эффективно применяться для ранней диагностики в группах риска, где вероятность заболевания изначально выше. Так, скрининг на ПСА

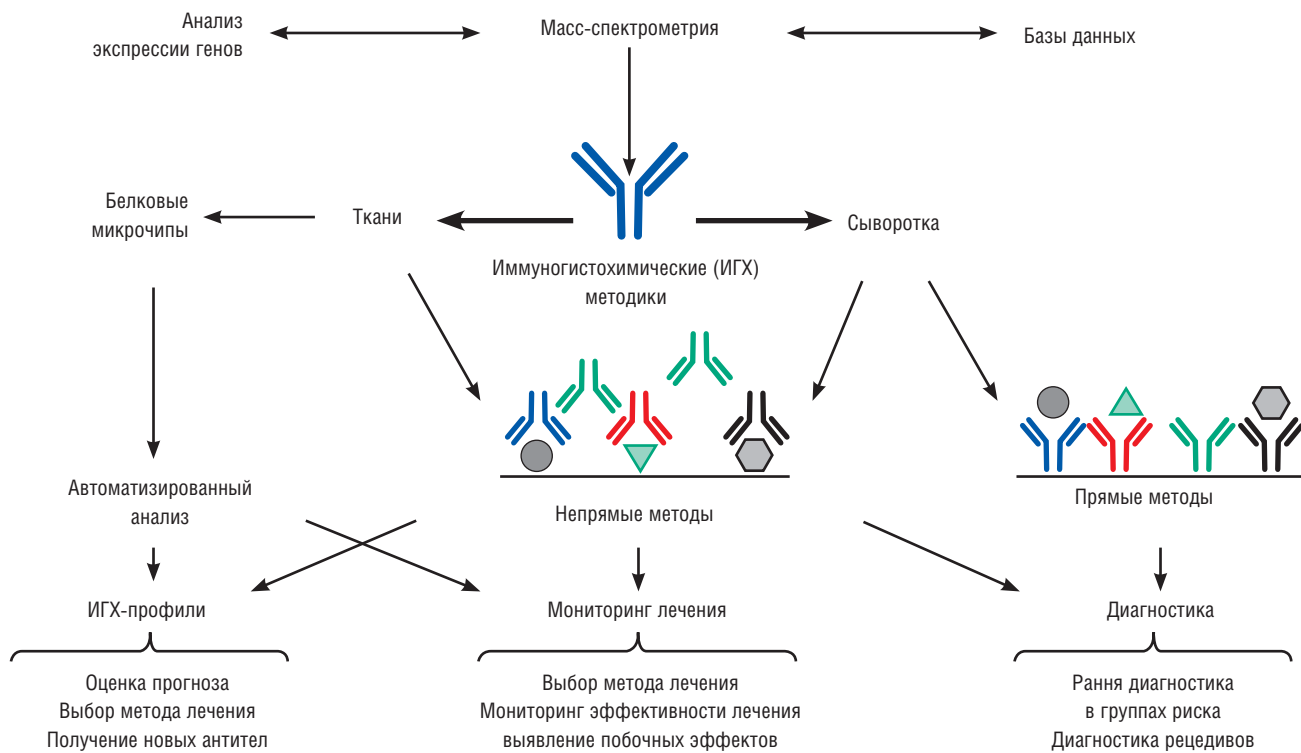


Рис. Технологии протеомики в диагностике онкологических заболеваний.

осуществляют в группе мужчин старше 50 лет; скрининг на  $\alpha$ -фетопротеин (маркер гепатоцеллюлярной карциномы) — у больных циррозом печени; на кальцитонин (маркер медулярного рака щитовидной железы) — у лиц с отягощенным наследственным анамнезом.

2. Мониторинг течения заболевания. В настоящее время именно для этих целей онкомаркеры применяют наиболее широко. Признаком успешной радикальной операции является стойкое снижение концентрации маркера. Последующее ее повышение свидетельствует, в зависимости от времени и скорости нарастания, о наличии резидуальной опухоли, возникновении рецидива или отдаленном метастазировании.

3. Прогнозирование течения заболевания и определение лечебной тактики. Уровень многих онкомаркеров коррелирует с объемом первичной опухоли и резко возрастает при местном и отдаленном метастазировании. Так, к примеру, при хроническом лимфолейкозе содержание маркера сывороточной дезокситимидинсинтетазы коррелирует с вариантом течения заболевания (стабильным или прогрессирующим) [11].

Для прогнозирования течения заболевания определяют также экспрессию маркеров пролиферативной активности: белка Ki-67, PCNA, циклинов (например, циклина D1), ингибиторов циклин-зависимых киназ. Большое прогностическое значение имеют уровни белков-регуляторов апоптоза (Bcl-2, Bcl-x, Bax, Bak и др.) [1]. В последнее время интенсивно исследуют ингибиторы апоптоза — сервивин, теломеразу. Повышение концентрации этих молекул было продемонстрировано для опухолей многих, хотя и не всех локализаций. При этом уровень их экспрессии коррелирует со стадией развития опухоли. Для карцином некоторых типов доказана корреляция течения с уровнем экспрессии белка p53, а также числом мутантных форм этого белка [12].

Тип исследуемого маркера и значимость результата варьируют в зависимости от гистологического строения и локализации опухоли. Окончательное заключение выносится после комплексной оценки с другими факторами. Важной задачей онкологии является идентификация сигнальных путей, вовлеченных в процесс канцерогенеза. Несомненна роль в этом процессе белков-регуляторов апоптоза: p53, белков семейства bcl и др. [1]. В фокусе функциональной протеомики находится изучение интерактомов указанных белков, иными словами — реконструкция молекулярных взаимодействий, в которые эти белки вовлечены.

Основная проблема во внедрении онкопротеомики в практику состоит в сложности обучения онкологов чтению карт онкотранскриптомов и онкопротеомов.

### Виды белковых молекул и особенности интерактомов

Хотя многие белки осуществляют свои функции независимо, подавляющее большинство из них требует высокоспецифичных взаимодействий с другими белками организма для проявления своей биологической активности. Примеры различных белок-белковых взаимодействий, встречающихся в сложных биологических системах:

- белок-белковые интерактомы в строго определенных клеточных компартментах;
- белки-мессенджеры, взаимодействующие с рецепторами на внешней поверхности клеточной мембраны, что является необходимым условием для запуска сигнальных каскадов;
- белки, формирующие сетевые и структурные взаимодействия, структурные взаимосвязи на межклеточном уровне;
- ингибиторы ферментов;

- модификация (часто с последующей денатурацией) в результате действия ферментов;
- взаимодействия белковых субъединиц, приводящих к аллостерическим эффектам в составе мультимерных биокомплексов;
- белок-белковые взаимодействия, лежащие в основе двигательных функций отдельных органелл, органов или организма в целом (мышечное сокращение).

Белковые взаимодействия обычно подразделяют на стабильные и транзиторные, причем оба типа могут обеспечиваться как сильными, так и слабыми межмолекулярными связями [13].

Стабильное взаимодействие наблюдается в белках, состоящих из нескольких субъединиц-комплексов, полипептидных цепей. Типичным примером комплексных белковых молекул, состоящих из нескольких стабильно связанных полипептидных цепей, могут служить гемоглобин и полимеры.

Транзиторные белок-белковые взаимодействия участвуют в контроле большинства внутри- и внеклеточных сигнальных процессов. Транзиторные взаимодействия обычно требуют определенного набора условий, который способствует развитию различных физиологических эффектов, а именно: фосфорилирования, конформационных изменений или локализации на дискретной области клетки. Временно взаимодействующие белки вовлечены в широкий спектр клеточных процессов, в т.ч. в каталитическую модификацию белка, транспортную, резервную, сигнальную, регуляторную, рецепторную и моторную функции.

Транзиторное белок-белковое взаимодействие наблюдается и при транспорте белков через поры мембраны, при деформации нативных белков, на отдельных этапах цикла трансляции, перестроении клеточных структур в ходе клеточного цикла (цитоплазматические микрофиламенты, комплекс ядерных пор и др.) [14].

Белки могут связываться друг с другом с помощью гидрофобных/гидрофильных связей, Ван-дер-ваальсовых сил, ионных мостов между связывающими доменами на каждом белке. Эти домены могут быть представлены небольшим участком поверхности белка и состоять всего лишь из нескольких пептидов. С другой стороны, широко распространены белки с длинными полипептидными участками, охватывающими сотни аминокислот; прочность их связывания зависит от размера и свойств связывающего домена. Одной из самых распространенных внутрибелковых связей, обеспечивающей стабильность всей молекулы, является лейциновая «застежка-молния».

В лейциновой «застежке» аминокислота лейцин находится приблизительно в каждом 8-м положении  $\alpha$ -спирали, в результате чего лейциновые остатки оказываются на одной ее стороне, образуя амфипатическую спираль, в которой одна сторона обладает гидрофобными свойствами. Таким образом, лейциновая «застежка» образует димерный белок благодаря связыванию двух параллельных  $\alpha$ -спиралей подобно застежке-молнии.

Два Src-гомологичных (SH) домена, SH2 и SH3, являются примером временного связывания доменов, которые соединяются короткими пептидными последовательностями и обычно встречаются в сигнальных белках. SH2-домен «признает» только пептидные последовательности с фосфорилированными остатками тирозина, что является признаком активированного белка. Другими словами, область SH2 — наиболее важная на рецепторе, участвующем в сигнальном пути фактора роста, в котором с помощью лиганд-рецептор-опосредованного фосфорилирования остатков тирозина с помощью SH2-доменов распознаются эти остатки. SH3-домены обычно распознают богатые пролином последовательности пептидов и, как правило, встречаются в таких ферментах, как киназы, фосфолипазы и ГТФазы. Они предназначены для выявления целевых белков [15].

## Заключение

Протеомика, будучи наукой фундаментальной, тем не менее, незаменима при решении ряда практических медицинских и прикладных научных задач. Исследование различных биологических жидкостей организма с применением современных технологических приемов протеомики может предоставить врачу-диагносту достаточные объемы информации, необходимые для однозначной постановки диагноза либо оценки рисков определенного заболевания у конкретного пациента. Построение алгоритмов доклинического и клинического мониторинга больных с использованием конгломератов лабораторно-диагностических процедур, включающих геномные, транскриптомные и протеомные методы анализа, а также биоинформационные приемы обработки и анализа данных, является залогом успешного выявления патологического состояния в стадии скрытого течения, верификации диагноза, определения и возможной предикции типа и характера течения болезни, а также мониторинга реакций организма пациента в ответ на применяемый вид терапии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Alaoui-Jamali M.A., Xu Y.J. Proteomic technology for biomarker profiling in cancer: an update. *J. Zhejiang. Univ. Sci. B.* 2006; 6: 411–420.
2. Введение в молекулярную диагностику. Под ред. М.С. Пальцева. М.: Медицина. 2010. 368 с.
3. Anderson N.L., Anderson N.G. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects. *Mol. Cell Proteomics.* 2002; 11: 845–867.
4. Sturgeon C. Perspectives in clinical proteomics conference: translating clinical proteomics into clinical practice. *Exp. Rev. Proteomics.* 2010; 4: 469–471.
5. McGregor E., Dunn M.J. Proteomics of heart disease. *Hum. Mol. Genet.* 2003; 2: 135–144.
6. Edwards A.V., White M.Y., Cordwell S.J. The role of proteomics in clinical cardiovascular biomarker discovery. *Mol. Cell Proteomics.* 2008; 10: 1824–1837.
7. Bowler R.P., Ellison M.C., Reisdorph N. Proteomics in pulmonary medicine. *Chest.* 2006; 2: 567–574.
8. David P. Carbone, Harvey I. Pass, David H. Johnson. Principles and Practice of Lung Cancer: The Official Reference Text of the IASLC. ISBN 0781773652, 9780781773652.
9. Lemon W.J. et al. Identification of candidate lung cancer susceptibility genes in mouse using oligonucleotide arrays. *J. Med. Genet.* 2002; 39: 644–655.
10. Gu Y.M. Elevated thymosin beta15 expression is associated with progression and metastasis of non-small cell lung cancer. *APMIS.* 2008 Jun; 116 (6): 484–90.
11. Фатех-Могдахам А., Стиблер П. Рациональное использование опухолевых маркеров. *Roche Diagnostics.* 2002. 114 с.
12. Brennan D.J., O'Connor D.P., Rexhepaj E., Ponten F. Antibody-based proteomics: fast-tracking molecular diagnostics in oncology. *Nat. Rev. Cancer.* 2010; 9: 605–617.

13. Golemis E. Protein-protein interactions: A molecular cloning manual. *Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press. Ix.* 2002. 682 p.
14. Phizicky E.M., Fields S. Protein-protein interactions: Methods for detection and analysis. *Microbiol. Rev.* 1995; 59: 94–123.
15. Berggard T., Linse S., James P. Methods for the detection and analysis of protein-protein interactions. *Proteomics.* 2007; 16: 2833–2842.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Сучков Сергей Викторович**, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической иммунологии МГМСУ им.А.И. Евдокимова МЗ РФ, профессор кафедры патологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова

**Адрес:** 101000, Москва, ул. Мясницкая, д. 20; **тел.:** (495) 771-32-32, **факс:** (495) 708-31-56;

**e-mail:** ssuchkov57@gmail.com

**Костюшев Дмитрий Сергеевич**, стажер-исследователь кафедры патологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

**Адрес:** 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; **тел.:** (425) 037-08-54; **e-mail:** dkostushev@gmail.com

**Крынский Сергей Андреевич**, студент лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

**Адрес:** 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; **тел.:** (425) 037-08-54

**Гнатенко Дмитрий Александрович**, стажер-исследователь кафедры патологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

**Адрес:** 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; **тел.:** (926) 649-42-82; **e-mail:** gnatenkodmitrii@gmail.com

**Пальцев Михаил Александрович**, академик РАН и РАМН, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»

**Адрес:** 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1; **тел.:** (499) 196-95-39, **факс:** (499) 196-17-04;

**e-mail:** paltsev\_ma@rcki.ru

А.В. Павлышин, В.А. Шидловский, П.А. Герасимчук

Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского, Украина

## Пластическое закрытие ран и трофических язв рельефным аутодермотрансплантатом у больных с синдромом диабетической стопы

*В статье проанализированы результаты аутодермопластики острых и хронических ран рельефным и плоским кожным лоскутом у 185 больных с синдромом диабетической стопы, которые находились на стационарном лечении в клинике общей хирургии Тернопольского государственного медицинского университета им. И.Я. Горбачевского в период с 2007 по 2012 г. Описана усовершенствованная методика аутодермопластики рельефным лоскутом. Применение данного метода позволило получить хорошие косметические и функциональные результаты у 81,7% больных и сократило сроки лечения на 12 койко-дней.*

**Ключевые слова:** сахарный диабет, синдром диабетической стопы, аутодермопластика, рельефный лоскут.

72

### Введение

Во всем мире сахарный диабет занимает четвертое место среди лидирующих причин смертности и признан самым распространенным хроническим заболеванием, которое в структуре эндокринной патологии составляет более 70%. По последним данным экспертов Международной диабетической федерации (The International Diabetes Federation, IDF), к 2030 г. в мире ожидается увеличение числа больных сахарным диабетом до 439 млн [1, 2]. Среди грозных осложнений сахарного диабета большая роль отводится синдрому диабетической стопы, диагностируемому у 40–80% больных, который сопровождается гнойно-некротическими осложнениями. Успешное лечение синдрома диабетической стопы невозможно без адекватного пластического закрытия язв и раневых дефектов стопы. В настоящее время аутодермопластика свободным кожным лоскутом далека от совершенства: часто наблюдается лизис и отторжение лоскута, ретракция и плохая переносимость аутодермотрансплантатами механических нагрузок [1, 3].

Цель исследования: оценить клиническую эффективность методики аутодермопластического закрытия ран стопы при помощи рельефных аутодермотрансплантатов у больных с синдромом диабетической стопы.

### Пациенты и методы

#### Участники исследования

В работе проанализированы результаты аутодермопластического закрытия язв и раневых дефектов у 185 больных сахарным диабетом с синдромом диабетической стопы. Исследования проводились среди больных, которые находились на стационарном лечении в клинике общей хирургии Тернопольского государственного медицинского университета им. И.Я. Горбачевского в период с 2007 по 2012 г. Из них мужчин было 109 (59%), женщин — 76 (41%). Больных сахарным диабетом 2-го типа было 138 (74,6%), 1-го типа — 47 (25,4%). Средний возраст больных сахарным диабетом 1-го типа составил  $33,2 \pm 11,7$  года и  $56,5 \pm 7,6$  года — при сахарном диа-

A.V. Pavlyshyn, V.O. Shidlovskiy, P.O. Herasimchuk

I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine

## Plastic closure of wounds and trophic ulcers in patients with diabetic foot syndrome by relief autoshred

*This article describes the features of the surgical treatment of patients with diabetes mellitus complicated with diabetic foot syndrome. Results of autodermoplasty of acute and chronic skin damages withripped and flat skin graft in 185 patients who were treated in the clinic of general surgery of I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine, in the period from 2007 to 2012. Using of this method leads to improved cosmetic and functional results in 81,7% of patients with reducing of treatment duration up to 12 days.*

**Key words:** diabetes mellitus, diabetic foot syndrome, autodermoplasty, relief transplantant.





Рис. 1. Стандартный клеевой дерматом.



Рис. 2. Модифицированный клеевой дерматом.

бете 2-го типа. Невропатически-инфицированная форма была диагностирована у 63 (34%) пациентов, ишемически-гангренозная — у 122 (66%) больных.

**Методы исследования**

Всем больным были проведены общеклинические, микробиологические исследования, измерение температуры тела, магистрального и регионарного кровотока нижних конечностей. Непосредственно перед аутодермопластическим закрытием проведена радикальная хирургическая обработка гнойно-некротического очага с последующей подготовкой раневой поверхности, что позволило снизить микробное число в ране до  $10^2$ – $10^3$  микроорганизмов на 1 г тканей и добиться цитологической картины воспалительного или воспалительно-регенераторного типа.

Пластическое закрытие ран проводили на 1–3-й день после хирургической обработки равномерно плоским кожным лоскутом (контрольная группа) и рельефным лоскутом, согласно разработанной методике с использованием модифицированного клеевого дерматомата с рельефной рабочей поверхностью. Рельефный кожный аутолоскут получали при помощи модифицированного клеевого дерматомата [4].

С помощью стандартного клеевого дерматомата невозможно произвести забор рельефного аутодермотрансплантата переменного сечения (рис. 1). Поставленную задачу решает модифицированный клеевой дерматом (рис. 2).

Дерматом используется следующим образом. Перед операцией донорскую область кожи моют, обезжиривают эфиром, на нее наносят шар клея и ждут около 3 мин. Ведущий край полуцилиндра с рельефной поверхностью прижимают к покрытой клеем коже и держат 2 мин. В результате происходит деформация кожи, после чего проводят забор аутодермотрансплантата. Полученный таким способом рельефный кожный лоскут состоит в поперечном сечении из двух частей: тонкой, которая быстро и хорошо приживается,

и толстой, которая хорошо выдерживает механические нагрузки.

Аутодермотрансплантат адаптирован к раневой поверхности оригинальным зондом, который позволяет тщательно, с дозированием силы нажима и без травматизации тканей выполнить его пересадку [4–7]. Для фиксации аутодермотрансплантата использован силиконовый адаптер с серебряными полусферами [5, 7].

**Результаты**

Все полученные числовые результаты подлежали статистической обработке общепринятыми методами с использованием значений критерия Стьюдента и непараметрических критериев по программам S-PLUS 2000, Statistica, Excel. Результаты считались достоверными при значениях  $p < 0,05$ .

Результаты аутодермопластического закрытия ран нами были классифицированы следующим образом:

- хорошие (в раннем послеоперационном периоде приживление кожных лоскутов не менее 90% с последующей полной эпителизацией ран);
- удовлетворительные (приживление лоскутов на 50–90% с отсутствием симптомов пролонгации патологического процесса и возможностью дальнейшего самостоятельного заживления раны путем эпителизации);
- неудовлетворительные (приживление кожных лоскутов менее 50%) (табл. 1).

Таким образом, при выполнении аутодермопластики трофических язв и ран рельефным кожным лоскутом хорошие и удовлетворительные результаты составляли 81,7 против 63,6% при использовании лоскута равномерной толщины. Неудовлетворительные результаты были зарегистрированы у 36,4% больных с пластическим закрытием ран плоским кожным аутолоскутом и только у 18,3% при проведении аутодермопластики рельефным лоскутом.

Неудовлетворительные результаты были связаны с отсутствием регенераторных процессов в ране, вторичным

Таблица 1. Результаты пластического закрытия ран

Результаты аутодермопластики	Аутодермопластика лоскутом равномерной толщины (n = 85)	Аутодермопластика рельефным лоскутом (n = 100)
Хорошие	31 (36,4%)	54 (53,4%)
Удовлетворительные	23 (27,2%)	28 (28,3%)
Неудовлетворительные	31 (36,4%)	18 (18,3%)

Таблица 2. Характеристика ранних послеоперационных осложнений аутодермопластики

Вид осложнения	Пластика лоскутом равномерной толщины (n = 85)		Пластика рельефным лоскутом (n = 100)	
	Острая рана (n = 46)	Хроническая рана (n = 39)	Острая рана (n = 66)	Хроническая рана (n = 34)
Смещение кожных лоскутов	3 (6,5%)	4 (10,2%)	3 (4,5%)	3 (9,0%)
Частичный лизис кожных лоскутов	6 (13,0%)	7 (18,0%)	5 (7,5%)	5 (14,7%)
Полный лизис кожных лоскутов	2 (4,3%)	4 (10,2%)	0	2 (5,9%)
Ишемический некроз лоскутов	2 (4,3%)	1 (2,6%)	2 (3,0%)	1 (3,0%)
Общий процент осложнений	28,1%	41,0%	15,0%	32,6%

инфицированием и пролонгацией патологического процесса. Таким больным были произведены повторные хирургические обработки с последующим пластическим закрытием язв и раневых дефектов, что в свою очередь не гарантировало сохранения пораженной конечности. Осложнения, которые встречались в раннем послеоперационном периоде, приведены в табл. 2.

Хроническими ранами мы считали трофические язвы и раневые дефекты, которые не заживали в течение 8 нед с момента начала лечения. Анализ ранних послеоперационных осложнений показал, что смещение кожных лоскутов возникало за счет ранней физической активности больных и несоблюдения врачебных рекомендаций. Чрезмерная физическая активность, нагрузка на пораженную конечность способствовали смещению повязки и кожного трансплантата. При пластическом закрытии острых ран смещение лоскутов наблюдалось реже, что обусловлено лучшей фиксацией кожного трансплантата за счет пленки фибрина и меньшего количества микроорганизмов в ране. Рельефные лоскуты смешались реже.

У больных с хроническими ранами фиксация аутолоскутов происходила хуже, что было связано с особенностями течения раневого процесса, морфологическими изменениями и наличием в ране вторичной микрофлоры. Все эти факторы лежат и в основе лизиса лоскута за счет нарушения трофики и действия протеолитических ферментов вторичной микрофлоры. Рельефные аутолоскуты воздействия этими неблагоприятными факторами выдерживают намного лучше. Это связано с тем, что они являются более стойкими по отношению к протеолитическим ферментам, имеют большой запас питательных веществ, луч-

ше переносят условия ишемии. Ретроспективный анализ причин лизиса кожных аутолоскутов позволил сделать вывод, что причиной этого осложнения были недостаточная подготовка раневой поверхности к пластическому закрытию, а также наличие в ране тканей с плохой васкуляризацией (сухожилия, фасции, кости).

Некрозы лоскутов обнаружены у 6 (3,2%) больных с пограничным или критическим нарушением периферического кровоснабжения. Это было прогностически неблагоприятным симптомом течения патологического процесса. Повторные хирургические обработки у данной группы больных, как правило, позитивного эффекта не имели и в дальнейшем приводили к выполнению высоких ампутаций нижних конечностей.

### Заключение

Приживление рельефных аутодермотрансплантатов с последующей эпителизацией раны отмечали у 81,7% больных со средним сроком эпителизации ран 12,8±3,7 дней, в то время как у пациентов с аутопластикой плоским лоскутом приживление отмечали только у 63,6% со средним сроком эпителизации ран 14,3±4,6 дней. Это позволяет нам рекомендовать методику аутодермопластики рельефным лоскутом при лечении язв и раневых дефектов у больных с синдромом диабетической стопы.

Применение предложенных методик аутодермопластического закрытия раневых дефектов с использованием силиконового адаптера с серебряными полусферами значительно улучшает трофику рельефного трансплантата и способствует его приживлению.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Ляпис М.О., Герасимчук П.О. Синдром стопы диабетика. *Тернопіль: Укрмедкнига*. 2001. 276 с.
2. International Consensus on the Diabetic Foot and Practical Guidelines on the Management and the Prevention of the Diabetic Foot. *Int. Working Group on the Diabetic Foot*. 2007. www.iwgdf.org
3. Царюк Ю.С. Лікування гнійно-некротичних уражень стопи у хворих на цукровий діабет із використанням озонотерапії. *Буковинський медичний вісник*. 2007; 11 (1): 88–90.
4. Коптюх В.В., Перепелиця М.П., Коптюх В.В., Павлишин А.В. Декларацийний патент на корисну модель 9719 Україна, МПК (2005) А61В 17/322. Дерматом рельефний. *Заявник і власник: Приватний вищий навчальний заклад «Медичний коледж»*. № у 2005 02468; заявл. 18.03.2005; опубл. 17.10.2005, Бюл. № 10.
5. Коптюх В.В., Перепелиця М.П., Коптюх В.В., Павлишин А.В. Декларацийний патент на корисну модель 13001 Україна, МПК (2006) А61В17/00. Спосіб трансплантації рельєфного автошматка. *Заявник і власник: Приватний вищий навчальний заклад «Медичний коледж»*. № у 2005 07810.; заявл. 5.08.2005; опубл. 15.03.2006, Бюл. № 3.
6. Коптюх В.В., Перепелиця М.П., Коптюх В.В., Павлишин А.В., Зот М.В., Панасюк А.М. Декларацийний Патент на корисну модель 13458 Україна, МПК (2006) В28В 11/14. Зонд. *Заявник і власник: Приватний вищий навчальний заклад «Медичний коледж»*. № у 2005 10478; заявл. 07.11.2005; опубл. 17.04.2006, Бюл. № 4.
7. Павлишин А.В. Патент на корисну модель 33112 Україна, МПК (2006) А61В 17/00. Спосіб пластики. *Заявник і власник: Павлишин А.В.* № у 2008 01587; заявл. 07.02.2008; опубл. 10.06.2008, Бюл. № 11.

**КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**

*Павлышин Андрей Владимирович*, ассистент кафедры общей и оперативной хирургии с топографической анатомией Тернопольского государственного медицинского университета им. И.Я. Горбачевского

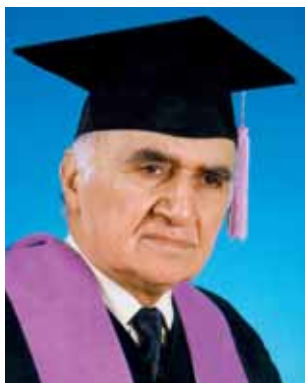
**Адрес:** 46001, Украина, Тернополь, площадь Воли, д. 1; **тел.:** +38(035) 252-44-92; **e-mail:** Pavlyshyn.AV@gmail.com

*Шидловский Виктор Александрович*, доктор медицинских наук, профессор кафедры общей и оперативной хирургии с топографической анатомией Тернопольского государственного медицинского университета им. И.Я. Горбачевского

**Адрес:** 46001, Украина, Тернополь, площадь Воли, д. 1

*Герасимчук Петр Александрович*, доктор медицинских наук, профессор кафедры общей и оперативной хирургии с топографической анатомией Тернопольского государственного медицинского университета им. И.Я. Горбачевского

**Адрес:** 46001, Украина, Тернополь, площадь Воли, д. 1; **тел.:** +38 (035) 252-44-92; **e-mail:** teren30@ukr.net



## Николай Александрович Агаджанян

76

28 января 2008 г. исполняется 85 лет со дня рождения и 62 года научной, научно-организационной, педагогической и общественной деятельности почетного профессора кафедры нормальной физиологии медицинского факультета Российского университета дружбы народов, Заслуженного деятеля науки Российской Федерации, Лауреата премии Правительства РФ, члена бюро отделения медико-биологических наук РАМН, академика РАМН, доктора медицинских наук, профессора Николая Александровича Агаджаняна.

Н.А. Агаджанян родился в 1928 г. в городе Хачмас (Азербайджан). Окончив в 1951 г. Дагестанский государственный медицинский институт, поступил в аспирантуру Института нормальной физиологии АМН СССР, но вскоре, в связи с призывом в Советскую армию, был откомандирован в Институт авиационной и космической медицины ВВС (ныне Научно-исследовательский испытательный институт военной медицины МО РФ). В этом институте Н.А. Агаджанян в 1956 г. успешно защитил кандидатскую диссертацию и прошел путь от младшего научного сотрудника до начальника лаборатории. В 1963 г. был прикомандирован в Институт медико-биологических проблем Минздрава СССР и в 1968 г. защитил докторскую диссертацию на тему «Физиологическое обоснование общего давления и кислородного режима в обитаемых кабинах летательных аппаратов»; в 1968 г. ему присвоено звание профессора и полковника медицинской службы. В 1981 г. профессор Н.А. Агаджанян возглавил кафедру нормальной физиологии Университета дружбы народов (ныне РУДН). В 1986 г. был избран членом-корреспондентом, а в 1993 г. — академиком РАМН.

Н.А. Агаджанян внес крупный научный вклад в медицину экстремальных состояний, исследование проблем авиационной и космической медицины. Он принимал непосредственное творческое участие в подготовке и медицинском обеспечении первых космических полетов человека, и ряд его рекомендаций по изучению резервных возможностей организма при адаптации к экстремальным условиям и в аварийных ситуациях был внедрен в практику, а адаптация в горах прочно вошла в практику подготовки и тренировки космонавтов.

Деятельность Н.А. Агаджаняна высоко оценена правительством: он награжден орденами Красной Звезды, Дружбы народов, орденом Почета. За большой вклад в медико-биологическое обеспечение космических полетов — медалями Ю.А. Гагарина, С.П. Королева, М.В. Келдыша, И.П. Павлова, А.Д. Сперанского и Сент-Дьер-ди, 5 медалями ВДНХ СССР, в том числе золотой и серебряной, и многими другими знаками отличия.

Многочисленные сложные и весьма ответственные эксперименты позволили академику Агаджаняну сформулировать представление об «экологическом портрете человека» как совокупности генетически обусловленных свойств и структурно-функциональных особенностей индивидуума, характеризующих специфику адаптации к конкретным условиям среды обитания. Он дал новое определение понятию «здоровье», в котором наряду с полноценным физическим, психическим и социальным благополучием впервые указал на необходимость учета нравственного здоровья. Значимость и высокая оценка работ по эколого-физиологическим проблемам адаптации, которые выполняет возглавляемый Н.А. Агаджаняном коллектив, привели к созданию в Российском университете дружбы народов первого в стране экологического факультета. По инициативе и под общей редакцией Н.А. Агаджаняна вышли в свет первые учебники по экологии человека, экологической и этнической физиологии. Он избран Почетным работником высшего образования России.

Н.А. Агаджанян, будучи учеником таких крупных отечественных ученых, как академики В.В. Парин, Н.Н. Сиротинин, А.В. Лебединский, А.Л. Яншин, А.Г. Кузнецов, сам является создателем крупной научной школы. Под его руководством подготовлены 75 докторских и 112 кандидатских диссертаций.

*Отдавая должное большому вкладу Николая Александровича Агаджаняна в развитие отечественной авиакосмической медицины, редакционная коллегия, редакционный совет и читатели журнала желают Николаю Александровичу Агаджаняну долгих лет жизни, здоровья и дальнейших творческих успехов.*



## Владимир Игоревич Злобин

6 января отпраздновал свой юбилей Владимир Игоревич Злобин — академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии и кафедрой клинической лабораторной диагностики Иркутского государственного медицинского университета.

После окончания Свердловского государственного медицинского института (1968) Владимир Игоревич в течение трех лет работал по распределению главным санитарным врачом Мелеузовского района Башкирской АССР, затем был принят младшим научным сотрудником в Свердловский НИИ вирусных инфекций МЗ РСФСР. Свою кандидатскую диссертацию Владимир Игоревич посвятил вирусологии: «Генетическая характеристика штаммов вируса полиомиелита, выделенных в период применения живой полиомиелитной вакцины». В опытах *in vitro* и на модели обезьян В.И. Злобиным были получены важные для определения стратегии и тактики эрадикации этого заболевания данные о возможности реверсии вирулентности до уровня «дикого» типа вакцинных штаммов полиовируса при их циркуляции среди невакцинированных детей. Дальнейшие исследования, в частности по генетике вирусов комплекса клещевого энцефалита, были развернуты на базе возглавляемой им лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций (1980). Одновременно Владимир Игоревич участвовал в разработке диагностикумов некоторых особо опасных арбовирусов (вирусов американских энцефаломиелитов лошадей) и стал соавтором технической документации.

Напряженная работа в Омском НИИ природно-очаговых инфекций (1984–1988), совместные исследования с сотрудниками Новосибирского Института биоорганической химии СО АМН СССР привели В.И. Злобина к разработке метода молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот для определения и дифференциации вирусов комплекса клещевого энцефалита и ряда других флавивирусов. Материалы многочисленных экспедиционных работ В.И. Злобина были заложены в основу уникальной коллекции географических изолятов вируса клещевого энцефалита, охватывающей весь аре-

ал вируса на территории бывшего СССР. В настоящее время значительная часть штаммов депонирована в Государственную коллекцию вирусов. Результатом работ явились отечественные и зарубежные публикации, авторские свидетельства и патенты, а также докторская диссертация «Молекулярно-биологическое определение и генетическая дифференциация вируса клещевого энцефалита» (1992).

В 1988 г. В.И. Злобин был приглашен на должность директора Института эпидемиологии и микробиологии Восточно-Сибирского научного центра СО АМН СССР (Иркутск). Им проведена реорганизация структуры института, внедрены актуальная научная тематика и новейшие методы исследования, сформировано новое научное направление — молекулярная эпидемиология клещевого энцефалита. Впервые работами научной группы В.И. Злобина выявлены и описаны генотипы вируса клещевого энцефалита, с помощью классических и молекулярно-биологических методов изучен большой набор штаммов, изолированных на территории страны и зарубежных государств. Развернуты исследования по проблеме сочетанных вирусных, бактериальных, риккетсиозных и протозойных инфекций, переносимых иксодовыми клещами. На основе внедрения новых экспресс-методов исследования в Иркутске организована эффективная экстренная профилактика клещевых инфекций, позволившая существенно снизить заболеваемость. Одновременно с административной и научной работой Владимир Игоревич ведет подготовку научных кадров и преподавательскую работу: в 1994 г. им основана и возглавлена кафедра эпидемиологии и бактериологии Иркутского ГИДУВа, с 1995 г. преподает молекулярную вирусологию на кафедре физико-химической биологии Иркутского государственного университета.

В 2002 г. В.И. Злобин перешел на работу в Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов РАМН, где занимал должность заместителя директора по научной работе и возглавлял лабораторию эпидемиологии и профилактики энцефалитов. Работы этого периода посвящены анализу современной эпидемиологической обстановки по природно-очаговым вирусным инфекциям в Россий-

ской Федерации и отдельных регионах, оценке эффективности стратегии и тактики профилактики, а также используемых в практике вакцин и препаратов антител. В.И. Злобин разработал предложения по усовершенствованию профилактического комплекса, активно сотрудничал с Роспотребнадзором, участвовал в региональных научно-практических конференциях с целью продвижения новых идей, имеющих целью повысить результативность профилактических мероприятий, возглавлял лабораторию иммунологии НИИ вирусологии им. Д.И. Иванова РАМН (2006–2009).

Академик РАМН В.И. Злобин имеет 680 научных работ, включая 10 монографий и руководств, изданных в России и за рубежом, 8 изобретений. Подготовил 7 докторов и 13 кандидатов наук. Является членом редколлегии журналов «Вопросы вирусологии» (Москва), «Эпидемиология и вакцинопрофилактика» (Москва), «Прикладная энтомология» (Москва), «Сибирский медицинский журнал» (Иркутск), «Журнал инфекционной патологии» (Иркутск). Входит в состав проблемных комиссий РАМН «Клещевой и другие вирусные энцефалиты» (зам. председателя), «Арбовирусы», «Природно-очаговые болезни», «Инфекционные и природно-очаговые болезни» (СО РАМН). Организовал ряд крупных

российских и международных научных конференций. Владимир Игоревич — член экспертного совета ВАК; в качестве консультанта Всемирной организации здравоохранения работал в Болгарии, Сербии, Боснии и Герцеговине, Македонии, Украине, Узбекистане, Таджикистане, Туркмении.

За научные достижения и их внедрение в здравоохранение В.И. Злобин награжден медалью Монголии, медалью Республики Южная Осетия, медалью им. Роберта Коха (Германия), ведомственными почетными грамотами и дипломами российского и регионального уровней; удостоен почетных званий «Заслуженный деятель науки Республики Бурятия», «Почетный профессор Уральской государственной медицинской академии»; является лауреатом научной премии РАМН по молекулярной вирусологии им. В.М. Жданова, премии Губернатора Иркутской области в сфере науки и техники, также удостоен золотого знака и благодарности ВОЗ за вклад в искоренение полиомиелита в регионе Европы.

*Редколлегия журнала «Вестник РАМН», друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют Владимира Игоревича с юбилеем, желают ему здоровья и долгих лет жизни, новых творческих успехов на благо медицинской науки и здравоохранения.*



## Лев Владимирович Кактурский

24 января 2013 г. исполнилось 70 лет со дня рождения директора ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН, члена-корреспондента РАМН, профессора Льва Владимировича Кактурского. Лев Владимирович окончил лечебный факультет Первого Московского медицинского института им. И.М. Сеченова в 1967 г., после чего вся его трудовая деятельность была связана с Институтом морфологии человека, где он после ординатуры последовательно прошел путь от младшего научного сотрудника до директора института. Льву Владимировичу посчастливилось работать под руководством известных отечественных патологоанатомов. Главным учителем, связавшим его профессиональную судьбу с патологической анатомией, был выдающийся отечественный патологоанатом академик АМН СССР Анатолий Иванович Струков. Большое влияние на профессиональную деятельность Льва Владимировича оказали академики АМН СССР А.П. Авцын, В.В. Серов, Н.К. Пермяков.

Л.В. Кактурский — один из ведущих специалистов в области патологической анатомии, им разработаны новые направления исследований внезапной сердечной смерти, острого коронарного синдрома, кардиомиопатий, васкулитов, микроэлементозов, ревматических заболеваний. В 1973 г. Л.В. Кактурский защитил кандидатскую, а в 1987 г. докторскую диссертацию. В 1992 г. ему было присвоено звание профессора, а в 2005 г. он был избран членом-корреспондентом РАМН. Он установил, что механизм танатогенеза при внезапной коронарной смерти связан с провоцирующим эффектом феномена реперфузии ишемизированного миокарда, индуцирующего фатальную фибрилляцию желудочков; выявил положительный эффект на репарацию сердечной мышцы при инфаркте миокарда антиоксидантов —  $\alpha$ -токоферола и селенита натрия; описал морфологические проявления микроангиопатий при системной красной волчанке, ревматоидном артрите, псориазе. Его прикладные

разработки посвящены вопросам организации и совершенствования патологоанатомической службы и востребованы здравоохранением. Он автор более 250 научных работ, в том числе 3 монографий, учебного пособия для врачей «Формулировка и сопоставление клинического и патологоанатомического диагнозов», титульный редактор и соавтор ряда глав в Национальном руководстве по патологической анатомии, автор глав в ряде других руководств. Результаты научных работ Л.В. Кактурского, вошедшие в руководство «Общая патология человека», отмечены дипломом премии АМН СССР имени И.В. Давыдовского, монография «Внезапная сердечная смерть» удостоена диплома премии РАМН имени А.И. Струкова, главы в руководстве «Микроскопическая техника» — диплома ММА им. И.М.Сеченова.

Л.В. Кактурский ведет большую научно-общественную и административную работу. Он председатель диссертационного совета при Институте морфологии человека, председатель Научного совета по морфологии человека РАМН, заместитель главного редактора журнала «Архив патологии», главный редактор журнала «Клиническая и экспериментальная морфология», президент Российского общества патологоанатомов, член Российского от-

деления Международной академии патологии, главный внештатный специалист-эксперт Росздравнадзора по патологической анатомии. Научную работу Л.В. Кактурский совмещает с педагогической и практической деятельностью, возглавляя с 2000 г. кафедру патологической анатомии факультета послевузовского профессионального образования врачей Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, заведующая патологоанатомическим отделением Центральной клинической больницы Московского Патриархата.

За многолетнюю и плодотворную научную и общественную работу Л.В. Кактурский награжден знаком «Отличник здравоохранения», юбилейной медалью «В память 850-летия Москвы», медалью Рудольфа Вирхова Европейской академии естествознания, медалью им. А.Д. Сперанского, орденом Сергея Радонежского III степени Русской Православной Церкви.

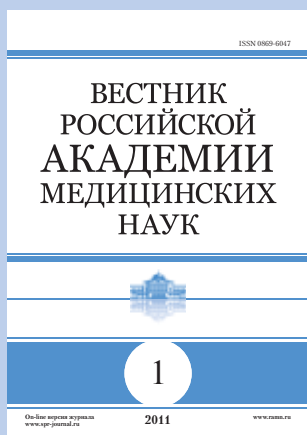
Л.В. Кактурский пользуется высоким авторитетом в коллективе и заслуженным уважением профессионального сообщества патологоанатомов России.

*Редколлегия журнала «Вестник РАМН», друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют Льва Владимировича с юбилеем, желают ему крепкого здоровья и долгих лет жизни.*

# Льготная редакционная подписка



Предлагаем редакционную подписку на Журнал «Вестник Российской медицинской академии наук». Журнал входит в Перечень ВАК. Периодичность выхода журналов 12 раз в год.  
**Адрес редакции:** 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2/62.  
**Телефон/факс:** 8 (499) 132-72-04, e-mail: sales@nczd.ru



Извещение	Форма №ПД-4
	<p align="center"><b>ООО Издательство «ПедиатрЪ»</b>  <small>(наименование получателя платежа)</small>                  7728798571  <small>(ИНН получателя платежа)</small>                  № 40702810738110016525  <small>(номер счета получателя платежа)</small>  <b>В Сбербанке России ОАО, г. Москва</b>  <small>(наименование банка и банковские реквизиты)</small>                  к/с 30101810400000000225                  БИК 044525225</p> <p>Подписка на журнал  <input type="checkbox"/> Вестник Российской медицинской академии наук                  Срок: <input type="checkbox"/> полгода <input type="checkbox"/> год Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г.                  Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г.  <small>(наименование платежа, нужное отметить)</small></p> <p>Дата _____ Сумма платежа: _____ руб. _____ коп.</p> <p>Информация о плательщике:                  _____  <small>ФИО, электронная почта, телефон</small></p> <p>Плательщик (подпись) _____</p>
кассир	
Извещение	Форма №ПД-4
	<p align="center"><b>ООО Издательство «ПедиатрЪ»</b>  <small>(наименование получателя платежа)</small>                  7728798571  <small>(ИНН получателя платежа)</small>                  № 40702810738110016525  <small>(номер счета получателя платежа)</small>  <b>В Сбербанке России ОАО, г. Москва</b>  <small>(наименование банка и банковские реквизиты)</small>                  к/с 30101810400000000225                  БИК 044525225</p> <p>Подписка на журнал  <input type="checkbox"/> Вестник Российской медицинской академии наук                  Срок: <input type="checkbox"/> полгода <input type="checkbox"/> год Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г.                  Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г.  <small>(наименование платежа, нужное отметить)</small></p> <p>Дата _____ Сумма платежа: _____ руб. _____ коп.</p> <p>Информация о плательщике:                  _____  <small>ФИО, электронная почта, телефон</small></p> <p>Плательщик (подпись) _____</p>
Кассир	

## Редакционная подписка это:

### Подписка с любого номера

Теперь подписаться можно с любого номера — на год, на полгода, или на любое количество номеров.

### Оплаты и заполнение квитанции

По квитанции в любом отделении Сбербанка РФ. Разборчивым почерком впишите в квитанцию свои личные данные: ФИО получателя, адрес для доставки журнала с индексом, контактный телефон. Отметьте период подписки или отдельно выбранный номер журнала и укажите стоимость. Подтвердите оплату по факсу 8 (499) 132-72-04 или по электронной почте sales@nczd.ru

### Сервис обслуживания подписчиков

В случае возникновения вопросов, касающихся Вашей подписки, позвоните нам по телефону 8 (499) 132-72-04. Мы ответим на все Ваши вопросы.

### Обратная связь

Вы можете сообщить свои пожелания относительно тематического наполнения журнала. Мы обязательно учтем Ваши пожелания при подготовке будущих номеров. Ваше мнение очень важно для нас.

### Стоимость

#### За текущий год:

полгода (6 номеров) — 4500 рублей;  
 год (12 номеров) — 9000 рублей

**За один номер** — 750 рублей