



Учредители:  
Первый Санкт-Петербургский государственный  
медицинский университет им. акад. И. П. Павлова  
ООО «СП Минимакс»

Основан в ноябре 2001 года

научно-  
практический  
журнал

том 20

2021

№ 3 (79)

Содержание Contents

Обзоры

Reviews

- Хубулава Г. Г., Козлов К. Л., Шишкевич А. Н., Михайлов С. С., Бессонов Е. Ю., Токарев П. А., Пачков Д. А., Бобровская Е. Е.**  
Предикторы реперфузионного синдрома миокарда: современный взгляд на вопрос и актуальные проблемы. Часть 2: феномен невосстановленного коронарного кровотока, или феномен no-reflow (обзор литературы)
- 4** **Khubulava G. G., Kozlov K. L., Shishkevich A. N., Mikhailov S. S., Bessonov E. Yu., Tokarev P. A., Pachkov D. A., Bobrovskaya E. E.**  
Predictors of myocardial reperfusion syndrome: a modern view of the issue and current problems. Part 2: no-reflow phenomenon (literature review)
- Шишкин А. Н., Николаева А. А.**  
Особенности микроциркуляции при псориатическом артрите
- 11** **Shishkin A. N., Nikolaeva A. A.**  
Features of microcirculation in psoriatic arthritis
- Оригинальные статьи (клинические исследования)**
- Пронько Т. П., Снежицкий В. А., Горчакова О. В., Гладкий М. Л., Копыцкий А. В.**  
Клинические и генетические факторы, ассоциированные с риском повторных ишемических событий у пациентов со стабильной стенокардией напряжения
- 18** **Pronko T. P., Snezhitsky V. A., Gorchakova O. V., Gladky M. L., Kopytski A. V.**  
Clinical and genetic factors associated with the risk of recurrent ischemic events in patients with stable stenocardia
- Дьякова М. Л., Подоксенев Ю. К., Шишнева Е. В., Дениско М. С., Крылова А. А., Кривошеина О. И., Шипулин В. М.**  
Особенности структурно-функционального состояния сетчатки в условиях искусственного кровообращения во время кардиохирургических операций
- 28** **Diakova M. L., Podoksenov Yu. K., Shishneva E. V., Denisko M. S., Krylova A. A., Krivosheina O. I., Shipulin V. M.**  
Features of the retinal structural and functional state under cardiopulmonary bypass during cardiac surgery
- Полякова Е. А.**  
Роль растворимых рецепторов лептина в патогенезе ишемической болезни сердца
- 34** **Polyakova E. A.**  
The role of soluble leptin receptor in the pathogenesis of coronary heart disease

<p><b>Козлов В. И., Сахаров В. Н., Гурова О. А., Сидоров В. В.</b> Оценка состояния микроциркуляции у детей 6–7 лет по данным лазерной доплеровской флоуметрии</p>	46	<p><b>Kozlov V. I., Sakharov V. N., Gurova O. A., Sidorov V. V.</b> Laser doppler flowmetry assessment of microcirculation in children of 6–7 years old</p>
<p><b>Шарафутдинов Б. М., Рыжкин С. А., Газиев Э. А., Михайлов М. К.</b> Успешный опыт транскатетерной артериальной эмболизации при гонартрозе у пациентов с выраженным болевым синдромом и при неэффективности консервативной терапии</p>	54	<p><b>Sharafutdinov B. M., Ryzhkin S. A., Gaziev E. A., Mikhailov M. K.</b> Successful experience of transcatheter arterial embolization for gonarthrosis in patients with severe pain syndrome and ineffectiveness of conservative therapy</p>
<p><b>Оригинальные статьи (экспериментальные исследования)</b></p>		
<p><b>Беляева Л. Е., Павлюкевич А. Н.</b> Биохимическая оценка системы синтеза оксида азота у пренатально стрессированных крыс</p>	61	<p><b>Belyaeva L. E., Pauliukevich H. N.</b> The biochemical estimation of the nitric oxide system in prenatally stressed rats</p>
<p><b>Зинчук В. В., Билецкая Е. С.</b> Особенности влияния озона на кислородзависимые процессы крови при гипоксических условиях</p>	70	<p><b>Zinchuk V. V., Biletskaya E. S.</b> Features of ozone effect on oxygen-dependent processes in the blood under hypoxic conditions</p>
<p><b>Панькова Н. В., Артемьева М. М., Медведева Н. А.</b> Пол-зависимое изменение реактивности изолированных легочных артерий гонадоэктомированных крыс при действии прерывистой гипоксии разной степени тяжести</p>	77	<p><b>Pankova N. V., Artemieva M. M., Medvedeva N. A.</b> Sex-dependent change in the reactivity of isolated pulmonary arteries of gonadectomized rats under the intermittent hypoxia of different degree</p>
<p><b>Правила для авторов</b></p>	84	<p><b>Author guidelines</b></p>

# Regional blood circulation and microcirculation

## Editor-in-chief

N. N. Petrishchev (Saint-Petersburg, Russia)  
Vice Editor,  
T. D. Vlasov (Saint-Petersburg, Russia)  
Senior Associate Editor,  
S. N. Tultseva (Saint-Petersburg, Russia)  
Scientific Editor,  
V. A. Pugach (Saint-Petersburg, Russia)  
Executive Secretary,  
V. I. Amosov (Saint-Petersburg, Russia),  
N. A. Bubnova (Saint-Petersburg, Russia),  
M. M. Galagudza (Saint-Petersburg, Russia),  
V. I. Kozlov (Moscow, Russia),  
A. V. Muravyov (Yaroslavl, Russia),  
G. G. Hubulava (Saint-Petersburg, Russia),  
V. A. Tsyrlin (Saint-Petersburg, Russia),  
E. V. Shlyakhto (Saint-Petersburg, Russia).

## Editorial Board

V. V. Banin (Moscow, Russia),  
E. R. Barantsevich (Saint-Petersburg, Russia),  
N. A. Belyakov (Saint-Petersburg, Russia),  
Alexander Brill (Birmingham, United Kingdom),  
Jarle Vaage (Oslo, Norway),  
A. Yu. Vasilyev (Moscow, Russia),  
I. A. Vozniuk (Saint-Petersburg, Russia),  
A. V. Gavrilenko (Moscow, Russia),  
I. P. Dudanov (Petrozavodsk, Russia),  
K. V. Zhmerenetsky (Khabarovsk, Russia)  
O. G. Zverev (Saint-Petersburg, Russia)  
V. B. Koshelev (Moscow, Russia),  
A. I. Krupatkin (Moscow, Russia),  
G. I. Lobov (Saint-Petersburg, Russia),  
L. N. Maslov (Tomsk, Russia),  
V. E. Milyukov (Moscow, Russia),  
Nodar Mitagvaria (Tbilisi, Georgia)  
K. M. Morozov (Moscow, Russia),  
V. S. Nikiforov (Saint-Petersburg, Russia),  
Axel Pries (Berlin, Germany),  
Carlota Saldanha (Lisbon, Portugal)  
D. A. Starchik (Saint-Petersburg, Russia),  
S. K. Ternovoy (Moscow, Russia),  
S. B. Tkachenko (Moscow, Russia),  
A. N. Shishkin (Saint-Petersburg, Russia)

Научное медицинское издание

# Регионарное кровообращение и микроциркуляция

## Редакционная коллегия

д. м. н., профессор Петрищев Н. Н. — главный редактор (Санкт-Петербург),  
д. м. н., профессор Власов Т. Д. — заместитель главного редактора (Санкт-Петербург),  
д. м. н., профессор Тульцева С. Н. — научный редактор (Санкт-Петербург),  
к. б. н. Пугач В. А. — ответственный секретарь (Санкт-Петербург),  
д. м. н., профессор Амосов В. И. (Санкт-Петербург),  
д. м. н., профессор Бубнова Н. А. (Санкт-Петербург),  
чл.-корр. РАН, профессор Галагудза М. М. (Санкт-Петербург),  
д. м. н., профессор Козлов В. И. (Москва),  
д. б. н., профессор Муравьев А. В. (Ярославль),  
акад. РАН, профессор Хубулава Г. Г. (Санкт-Петербург)  
д. м. н., профессор Цырлин В. А. (Санкт-Петербург),  
акад. РАН, профессор Шлякто Е. В. (Санкт-Петербург).

## Редакционный совет

чл.-корр. РАН, профессор Банин В. В. (Москва),  
д. м. н., профессор Баранцевич Е. Р. (Санкт-Петербург),  
акад. РАН, профессор Беляков Н. А. (Санкт-Петербург),  
профессор Бриль А. Г. (Бирмингем, Великобритания),  
профессор Вааге Г. (Осло, Норвегия),  
чл.-корр. РАН, профессор Васильев А. Ю. (Москва),  
д. м. н., профессор Вознюк И. А. (Санкт-Петербург),  
акад. РАН, профессор Гавриленко А. В. (Москва),  
чл.-корр. РАН, профессор Дуданов И. П. (Петрозаводск),  
чл.-корр. РАН, доцент Жмеренецкий К. В. (Хабаровск),  
д. м. н., профессор Зверев О. Г. (Санкт-Петербург),  
д. б. н., профессор Кошелев В. Б. (Москва),  
д. м. н., профессор Крупаткин А. И. (Москва),  
д. м. н., профессор Лобов Г. И. (Санкт-Петербург),  
д. м. н., профессор Маслов Л. Н. (Томск),  
д. м. н., профессор Милюков В. Е. (Москва),  
профессор Митагвария Н. П. (Тбилиси, Грузия)  
д. м. н., профессор Морозов К. М. (Москва),  
д. м. н., профессор Никифоров В. С. (Санкт-Петербург),  
профессор Прис А. (Берлин, Германия),  
профессор Салдана Карлота (Лиссабон, Португалия),  
д. м. н. Старчик Д. А. (Санкт-Петербург),  
акад. РАН, профессор Терновой С. К. (Москва),  
чл.-корр. РАН, профессор Ткаченко С. Б. (Москва),  
д. м. н., профессор Шишкин А. Н. (Санкт-Петербург).

РИЦ ПСПбГМУ им. И. П. Павлова  
197089, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8  
Издательство ООО «СП Минимакс»  
197376, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 7  
Редакция: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8  
Лицензия: ЛП № 000141 от 08 апреля 1999 г.  
Регистрационное удостоверение: ПИ № 77-9025

Подписано в печать: 20.08.2021 г.  
Формат: А4  
Печать офсетная  
Тираж 1000  
Заказ № 186

УДК 616-005.8

DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-4-10

Г. Г. ХУБУЛАВА, К. Л. КОЗЛОВ, А. Н. ШИШКЕВИЧ,  
С. С. МИХАЙЛОВ, Е. Ю. БЕССОНОВ, П. А. ТОКАРЕВ,  
Д. А. ПАЧКОВ, Е. Е. БОБРОВСКАЯ

## Предикторы реперфузионного синдрома миокарда: современный взгляд на вопрос и актуальные проблемы. Часть 2: феномен невосстановленного коронарного кровотока, или феномен no-reflow (обзор литературы)

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6  
E-mail: ewgenijbessonov@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 27.01.21 г.; принята к печати 28.05.21 г.

### Резюме

Несмотря на то, что феномен невосстановленного коронарного кровотока (no-reflow) давно известен, до сих пор нет однозначного мнения на счет предикторов, а соответственно, и групп риска его возникновения. Это препятствует прогнозированию дальнейшего течения заболевания и исследованию эффективности терапевтических и хирургических способов предотвращения последствий реперфузии у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST, что, в свою очередь, ухудшает послеоперационный и отдаленный прогноз у данной группы больных. Для поиска исследований по этой проблеме мы использовали поисковые системы E-library, Google Scholar и Pubmed. В статье представлены данные исследований, освещающих предикторы феномена no-reflow, проведен их анализ. Также описаны сложности их выявления, поднята проблема диагностического подхода и формирования выборки для исследований. Дан обзор исследований, посвященных выявлению предикторов феномена no-reflow с помощью оптической когерентной томографии и внутрисосудистого ультразвукового исследования.

**Ключевые слова:** реперфузионный синдром миокарда, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST, феномен невосстановленного коронарного кровотока, no-reflow, повреждение миокарда, рентгеноэндоваскулярная хирургия

**Для цитирования:** Хубулава Г. Г., Козлов К. Л., Шишкевич А. Н., Михайлов С. С., Бессонов Е. Ю., Токарев П. А., Пачков Д. А., Бобровская Е. Е. Предикторы реперфузионного синдрома миокарда: современный взгляд на вопрос и актуальные проблемы. Часть 2: феномен невосстановленного коронарного кровотока, или феномен no-reflow (обзор литературы). Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021;20(3):4–10. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-4-10.

UDC 616-005.8

DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-4-10

G. G. KHUBULAVA, K. L. KOZLOV, A. N. SHISHKEVICH,  
S. S. MIKHAILOV, E. Yu. BESSONOV, P. A. TOKAREV,  
D. A. PACHKOV, E. E. BOBROVSKAYA

## Predictors of myocardial reperfusion syndrome: a modern view of the issue and current problems. Part 2: no-reflow phenomenon (literature review)

Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia  
6, Academiva Lebedeva street, Saint Petersburg, Russia, 194044  
E-mail: ewgenijbessonov@yandex.ru

Received 27.01.21; accepted 28.05.21

### Summary

Despite the fact that the phenomenon of unrecovered coronary blood flow (no-reflow) has long been known, there is still no unanimous opinion about the predictors and, accordingly, the risk groups for its occurrence. This prevents predicting the further course of the disease and investigating the effectiveness of therapeutic and surgical methods for preventing the consequences of reperfusion in patients with ST-segment elevation myocardial infarction, which in turn worsens the postoperative and long-term prognosis in this group of patients. We used the search engines E-library, Google Scholar and Pubmed to search

for studies on this issue. The article presents and analyzes research data covering the predictors of the no-reflow phenomenon. The difficulties in identifying them are also described, the issue of a diagnostic approach and sampling for research is raised. A review of studies dedicated to the identification of predictors of the no-reflow phenomenon using optical coherence tomography and intravascular ultrasound is given.

**Keywords:** myocardial reperfusion syndrome, ST-elevation myocardial infarction, no-reflow phenomenon, myocardial injury, X-ray endovascular surgery

**For citation:** Khubulava G. G., Kozlov K. L., Shishkevich A. N., Mikhailov S. S., Bessonov E. Yu., Tokarev P. A., Pachkov D. A., Bobrovskaya E. E. Predictors of myocardial reperfusion syndrome: a modern view of the issue and current problems. Part 2: no-reflow phenomenon (literature review). *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2021;20(3):4–10. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-4-10.

## Введение

Феномен невосстановленного коронарного кровотока (ФНКК), или феномен no-reflow, является постреперфузионным осложнением и характеризуется отсутствием восстановления венечного кровотока на эпикардиальном, субэпикардиальном и (или) микрососудистом уровне, при отсутствии диссекции стенки артерии или тромбоза [1, 2]. В число возможных механизмов, способствующих развитию ФНКК, входят эмболизация капилляров, вызванная микротромбами и липидными фрагментами атеросклеротической бляшки; отек и контрактура клеток миокарда, сжимающие микрососудистое русло; отек эндотелия, спазм и дисфункция капилляров; накопление нейтрофилов и тромбоцитов, способствующее воспалению и обтурации микроциркуляторного русла; ишемическое и реперфузионное повреждение; индивидуальная предрасположенность вследствие генетических факторов, анатомических особенностей коронарного кровообращения и наличия сопутствующих патологий [3–6].

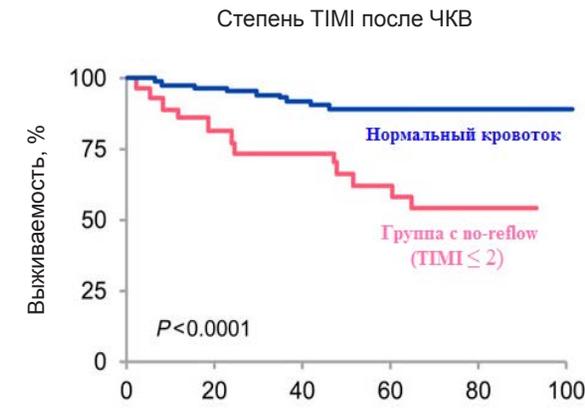
**Целью** нашего обзора является анализ современной литературы и синтез данных, касающихся данной проблемы.

## Проблема неоднородности диагностического подхода

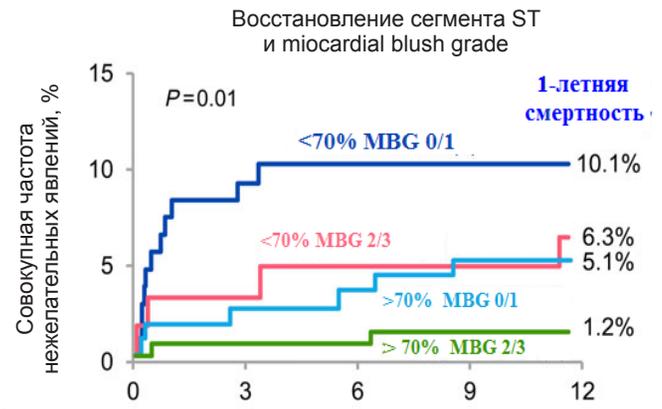
На наш взгляд, прежде чем речь пойдет о предикторах ФНКК, следует осветить проблему диагностического подхода к верификации данного проявления реперфузионного синдрома. Феномен no-reflow верифицируется на основании инвазивных (степень эпикардиального кровотока по шкале Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) < 3, степень «прокрашивания» миокарда по шкале Myocardial blush grade (MBG) < 2, в том числе при TIMI = 3) и неинвазивных (микроваскулярная обструкция по данным контрастной эхокардиографии миокарда, магнитной резонансной томографии с контрастированием, при отсутствии разрешения сегмента ST) методов обследования пациента непосредственно после реперфузии. Следует отметить, что частота ФНКК у пациентов с ИМпST варьируется от 5 до 30 % при верификации с использованием показателей эпикардиального кровотока и до 60 % при использовании эхокардиографии миокарда с контрастом и магнитно-резонансной томографии, что говорит о явном преимуществе данных инструментов в диагностике микроваскулярной обструкции (МВО) в сравнении с ангиографическими методами [7, 8]. Однако из-за дороговизны и сложности использование данных методов доступно далеко не всем исследователям,

и они вынуждены полагаться на суррогатные, весьма субъективные маркеры ФНКК, не полностью оценивающие МВО. Несмотря на то, что статус эпикардиального и субэпикардиального кровотока после реперфузии как факторы летального исхода, жизнеугрожающих аритмий, негативного ремоделирования левого желудочка и прогрессирования сердечной недостаточности подчеркивается многими исследователями [9–14], наличие МВО остается не зависимым от статуса кровотока в эпикардиальных и субэпикардиальных артериях предиктором неблагоприятных последствий для пациента [15, 16]. Одним из простых и доступных маркеров микроваскулярной обструкции является отсутствие снижения амплитуды сегмента ST. Исследование R. Nijveldt et al. [17] продемонстрировало корреляцию МВО с неполным разрешением сегмента ST, независимо от показателей шкал, оценивающих эпикардиальный и субэпикардиальный кровоток после реперфузии, а G. Niccoli et al. [18] доказали, что комбинация ангиографии и электрокардиографии позволяет значительно улучшить оценку оптимальности реперфузии миокарда. Помимо этого, в одном из своих систематических обзоров G. Niccoli et al. подчеркнули прогностическую значимость МВО (рисунок).

На рисунке, *a* – кривая выживаемости Каплана – Мейера, показывающая при длительном наблюдении (100 месяцев), что пациенты в группе с TIMI ≤ 2 имели значительно более высокую частоту сердечной смерти (%) по сравнению с пациентами с более низкими степенями TIMI (P < 0,0001) [9]. На рисунке, *b* – кривая выживаемости Каплана – Мейера показывает кумулятивную частоту нежелательных явлений (%) в соответствии со степенью MBG среди пациентов с разрешением сегмента ST и без него в течение 1 года наблюдения (P < 0,01). В частности, среди пациентов со снижением амплитуды сегмента ST < 70 % кумулятивная частота нежелательных явлений составила 10,1 % для степени MBG 0/1 и 6,3 % для степени MBG 2/3. Среди пациентов со снижением амплитуды сегмента ST > 70 % совокупная частота событий составила 5,1 % для степени MBG 0/1 и 1,2 % для степени 2/3 [19]. На рисунке, *c* – кривая выживаемости Каплана – Мейера, показывающая комбинированную выживаемость без событий (%) у пациентов с и без МВО, после реперфузии, верифицируемую с помощью контрастной эхокардиографии миокарда. Пациенты без МВО демонстрируют более высокую совокупную 5-летнюю комбинированную частоту сердечно-сосудистых событий (P < 0,0001), чем пациенты без микрососудистой дисфункции [20]. На рисунке, *d* – кривая выживаемости Каплана – Мейера



а



б



в



г

Прогностическая роль коронарной микрососудистой обструкции. Адаптированный перевод: G. Niccoli et al. [7]  
The prognostic role of coronary microvascular obstruction. Adapted translation: G. Niccoli et al. [7]

показывает комбинированную выживаемость без сердечно-сосудистых событий (%) у пациентов с МВО и без нее, после реперфузии, на основании данных магнитно-резонансной томографии. У пациентов с МВО более высокая совокупная 2-летняя комбинированная частота сердечно-сосудистых событий ( $P < 0,001$ ), чем у пациентов без МВО [21].

Однако в большинстве современных исследований ФНКК верифицируется только на основании показателей эпикардиального и субэпикардиального кровотока, а работы, диагностирующие ФНКК с помощью более совершенных методов и в совокупности эпикардиального кровотока вместе с уменьшением сегмента ST, немногочисленны и включают в себя небольшие выборки пациентов.

### Предикторы феномена невосстановленного коронарного кровотока в мировой литературе

Из-за многофакторного патогенеза и диагностической неоднозначности поиск предикторов ФНКК остается сложной и не решенной проблемой по сей день. Метаанализ, проведенный J. K. Fajah et al. [22], включающий в себя 27 исследований, показал, что риск возникновения ФНКК связан с:

- пожилым возрастом;
- мужским полом;
- сахарным диабетом;
- повышенным уровнем глюкозы крови;
- большим временем боль-баллон;
- классом острой сердечной недостаточности по Killip  $\geq 2$ ;

- высокой частотой сердечных сокращений (ЧСС);
- высоким уровнем креатинина крови;
- уменьшением фракции выброса левого желудочка;
- степенью коллатерального кровотока по Rentor  $\leq 1$ ;
- большой протяженностью атеросклеротического поражения ИЗА;
- многососудистым поражением коронарного русла;
- большим контрольным диаметром ИЗА;
- низкой степенью TIMI и большой тромботической нагрузкой по шкале TIMI thrombus grade до чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ).

В свою очередь, наличие ишемической болезни сердца в семейном анамнезе и артериальная гипертензия снижали шансы развития ФНКК. При этом именно низкая степень TIMI (ОШ=3,83, 95 % ДИ: 2,77–5,29,  $p < 0,0001$ ) и большая тромботическая нагрузка (ОШ=3,69, 95 % ДИ: 2,77–5,68,  $p < 0,0001$ ) оказывали наибольшее влияние на вероятность развития ФНКК [22]. Недостатком данной работы является неоднородная подборка статей для метаанализа. Часть исследований выполнены до широкого распространения стентирования и представляют собой анализ пациентов, которым чаще проводилась баллонная ангиопластика, что, по наблюдению некоторых авторов таких работ, является независимым фактором риска развития ФНКК [23]. Помимо этого, в 25 исследованиях ФНКК верифицировался только на основании эпикардиальных

и субэпикардальных показателей кровотока после реперфузии. Как было отмечено ранее, такой подход не позволяет диагностировать МВО и, следовательно, не в полной мере соответствует поставленной задаче.

Несомненный интерес представляют исследования, оценивающие морфологию поражения коронарного русла с помощью внутрисосудистого ультразвукового исследования (ВСУЗИ) и оптической когерентной томографии. Эмболы разного размера могут возникать из эпикардального коронарного тромба и эрозий атеросклеротических бляшек во время первичного ЧКВ, но спонтанная эмболизация возможна и до манипуляции с сосудами [24]. В некоторых случаях ФНКК может быть связан со смещением обструктивного тромба дистальнее пораженного участка. Следует отметить, что это явление не обнаруживается с помощью ангиографии, поэтому требуются другие методы визуализации коронарных артерий, такие как ВСУЗИ и оптическая когерентная томография [25]. Исследование T. Soeda et al. [26], включающее в себя 72 пациента с ИМпСТ, показало высокую прогностическую ценность липидного индекса при значении  $>3500$  по данным оптической когерентной томографии (площадь под ROC-кривой=0,77,  $p=0,002$ ) и объем атеросклеротической бляшки по данным внутрисосудистого ультразвукового исследования  $>81,5$  % (площадь под ROC-кривой=0,70,  $p=0,002$ ). Взаимодействие при многофакторном анализе с остальными данными и отношения шансов для этих показателей авторами продемонстрированы не были. Схожие данные были получены в 2002 г. A. Tanaka et al. [27]. В исследовании, включавшем в себя 100 исследуемых с помощью ВСУЗИ, оценивалась морфология атеросклеротической бляшки. Независимыми предикторами являлись большая площадь поперечного сечения покрышки (ОШ=1,55, 95 % ДИ: 1,01–2,38) и большое липидное ядро (конгломерат низкоэзогенного материала, покрытый высокоэзогенным слоем) (ОШ=118, 95 % ДИ: 1,28–11008). Альтернативные результаты на больших выборках получили R. Iijima, M. Endo et al. В работе R. Iijima et al. [28], основанной на анализе анамнеза, коронароангиографий и данных ВСУЗИ 220 пациентов с ИМпСТ, независимыми факторами риска развития ФНКК признаны тромбообразование (ОШ=4,53, 95 % ДИ: 1,03–20,0) и большая протяженность фиброатеромы (ОШ=1,79, 95 % ДИ: 1,01–3,23). При этом большие липидные ядра намного чаще встречались в группе с ФНКК (65 % против 37 %,  $p<0,05$ ), однако значимым предиктором не являлись. Согласно результатам исследования M. Endo et al. [29], проанализировавших данные анамнеза, коронароангиографий и ВСУЗИ 170 пациентов с ИМпСТ, значимыми предикторами ФНКК, по данным многофакторного регрессионного анализа, являются затухание ультразвукового сигнала на длине  $\geq 5$  мм (ОШ=20,1, 95 % ДИ: 5,87–69,0), разрыв бляшки (ОШ=5,94, 95 % ДИ: 1,6–21,5) и время боль-баллон (за каждый час) (ОШ=1,26, 95 % ДИ: 1–1,58).

Также ряд авторов подчеркивают важность воспаления, активации тромбоцитов в развитии РСМ

в целом и, в частности, ФНКК [30]. Исследование M. Akpek et al. [31] показало, что большой показатель отношения нейтрофилов к лимфоцитам и высокая концентрация С-реактивного белка в плазме крови являются значимыми независимыми предикторами развития no-reflow. При концентрации высокочувствительного С-реактивного белка  $>5,3$  мг/л площадь под ROC-кривой составляла 0,89 (95 % ДИ: 0,86–0,92), а при отношении нейтрофилов к лимфоцитам  $>3,3$ –0,80 (95 % ДИ: 0,75–0,84). Спустя год этой же группой ученых продемонстрирована прогностическая значимость среднего объема тромбоцитов (ОШ=1,075, 95 % ДИ=1,009–1,543,  $p=0,38$ ) [32]. Однако недавнее исследование A. Kurtul et al. [33] продемонстрировало значительно большую предсказательную силу отношения среднего объема тромбоцитов к лимфоцитам и отношения тромбоцитов к лимфоцитам в сравнении со средним объемом тромбоцитов. Для прогнозирования ФНКК лучшими показателями для отношения среднего объема тромбоцитов к лимфоцитам = 4,87 (площадь под ROC-кривой = 0,819, 95 % ДИ = 0,787–0,850), для отношения тромбоцитов к лимфоцитам = 133 (площадь под ROC-кривой = 0,797, 95 % ДИ = 0,761–0,833), и для среднего объема тромбоцитов = 8,65 (площадь под ROC-кривой = 0,587, 95 % ДИ = 0,544–0,630). Помимо этого, считается, что отношение моноцитов к липопротеинам высокой плотности является маркером воспаления и окислительного стресса при сердечно-сосудистых заболеваниях. S. Balta et al. [34] в исследовании на выборке объемом 600 пациентов с ИМпСТ установили, что отношение моноцитов к липопротеинам высокой плотности является независимым предиктором феномена no-reflow (при пороге отсечения = 22,5 площадь под ROC-кривой = 0,768, 95 % ДИ: 0,725–0,812). К сожалению, мультиколлинеарность (корреляция между предикторами, приводящая к неустойчивости их оценок) маркеров воспалительных процессов практически не оценивается авторами данных исследований, и выделить наиболее значимый прогностический показатель, опираясь на представленные данные, затруднительно.

Кроме того, существует гипотеза о значительном влиянии на шансы развития феномена no-reflow постоянного, длительного приема пациентами некоторых групп препаратов до ЧКВ. В ряде исследований подтверждено, что прием В-адреноблокаторов значительно снижал вероятность развития ФНКК. Ретроспективное исследование Wang et al. [35], проведенное на основании анализа 1615 пациентов, показало, что длительный прием В-адреноблокаторов до первичного ЧКВ оказывал значительное протективное воздействие (ОШ=0,594, 95 % ДИ: 0,394–0,893). Аналогичные результаты были получены в других исследованиях [31, 36]. Отдельные работы так же сообщают о прогностической ценности длительного приема перед ИМпСТ ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента [37], статинов [38, 39] и блокаторов рецепторов ангиотензина [40]. Однако немало исследований противоречат данным гипотезам, и для их подтверждения требуется большая доказательная база.

Большой интерес вызывает построенная J. W. Wang et al. [41] предсказательная шкала развития ФНKK. В результате анализа данных 1776 пациентов с ИМпСТ авторы выстроили прогностическую модель, основанную на 7 факторах с присвоенными баллами:

- 1) возраст  $\geq 55$  лет = 5 баллов;
- 2) время боль-баллон  $\geq 4$  ч = 2 балла;
- 3) концентрация глюкозы в плазме крови  $\geq 12,0$  ммоль/л = 4 балла;
- 4) количество нейтрофилов в крови  $\geq 8,81 \cdot 10^9$  ед./л = 8 баллов;
- 5) класс острой сердечной недостаточности по Killip 4 = 3 балла;
- 6) степень TIMI thrombus grade до ЧКВ  $\geq 2$  = 5 баллов;
- 7) коллатеральный кровоток до ЧКВ по Rentrop  $\leq 1$  = 2 балла.

При сумме баллов, равной 14, высока вероятность развития ФНKK. Данная предсказательная модель обладает весьма высокой прогностической силой (площадь под ROC кривой = 0,800 95 % ДИ: 0,772–0,826). В данном исследовании феномен no-reflow верифицировался на основании показателей эпикардального кровотока (TIMI и MBG), что не отображает состояние микроциркуляторного русла после ЧКВ.

На основании недавнего крупного исследования Y. Li et al. [42], основанного на анализе 1658 пациентов с ИМпСТ, перенесших ЧКВ со стентированием ИЗА, также была построена прогностическая модель развития ФНKK. Данная работа интересна подходом к формированию критериев включения и исключения, нивелирующим вероятность попадания в выборку пациентов, наличие которых заведомо может привести к статистическим ошибкам. Так, критериями включения в исследование были возраст пациентов  $\geq 18$  лет; время от начала заболевания  $\leq 24$  ч; диагноз «Острый ИМпСТ»; успешная реканализация ИЗА. Критериями исключения из исследования являлись аллергические реакции на антиагреганты, антикоагулянты и йод-содержащие контрастные вещества; противопоказания к антиагрегантной терапии, такие как активное висцеральное кровоизлияние, геморрагический инсульт или ишемический инсульт в течение полугода (включая преходящую ишемическую атаку), расслоение аорты или гематологические заболевания, осложненные нарушениями коагуляции; аортокоронарное шунтирование в анамнезе; патология клапанов сердца и кардиомиопатии; полная блокада левой ножки пучка Гиса, искусственный водитель ритма и другие факторы, приводящие к изменениям сегмента ST на электрокардиограмме; тяжелая печеночная и почечная недостаточность; злокачественные новообразования или аутоиммунные заболевания; тяжелые инфекционные заболевания в недавнем времени. Прогностическая модель, построенная исследователями, включает в себя следующие предикторы:

- 1) возраст пациента  $\geq 65$  лет = 2 балла;
- 2) отсутствие приема ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента/антагонистов рецепторов ангиотензина II в анамнезе = 1 балл;

3) коллатеральный кровоток до ЧКВ по Rentrop  $< 2$  степени = 3 балла;

4) степень TIMI thrombus grade до ЧКВ  $\geq 4$  степени = 2 балла;

5) диаметр пораженного сосуда  $\geq 3,5$  мм = 1 балл;

6) глюкоза плазмы крови  $> 8$  ммоль/л = 1 балл.

Однако ROC-анализ построенной математической модели не показал хороших результатов, зона под ROC-кривой = 0,648 (чувствительность = 42,0 %, специфичность = 79,3 %,  $p < 0,001$ ) в группе разработки модели и 0,637 в группе апробации модели (специфичность = 53,2 %, чувствительность = 66,7 %,  $p < 0,001$ ). Порог баллов, при котором был высокий риск развития ФНKK, авторами не указывается [42].

### Заключение

В заключение следует отметить, что ФНKK является сложным, многофакторным патологическим процессом. Разные подходы к верификации феномена no-reflow, выбору пациентов для включения в исследования, большое число предикторов, часть из которых, вероятно, коррелирует между собой, значительно затрудняют синтез информации по данной проблеме. Однако ряд факторов, такие как степень кровотока в ИЗА, тромботическая нагрузка, активное воспаление, чаще всего встречаются в исследуемых работах и, вероятно, являются ключевыми. Таким образом, несмотря на большое число исследований, посвященных предикторам ФНKK, единого мнения по поводу данной проблемы нет, и она не утрачивает свою важность и актуальность.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

### Литература / References

1. Kloner RA. Does reperfusion injury exist in humans // *J. Am. Coll. Cardiol.* 1993;(21):537–545. Doi: 10.1016/0735-1097(93)90700-b.
2. Durante A, Camici PG. Novel insights into an «old» phenomenon: the no reflow // *Int. J. Cardiol.* 2015;(187):273–280. Doi: 10.1016/j.ijcard.2015.03.359.
3. Schwartz BG, Kloner RA. Coronary no reflow // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2012;52(4):873–882. Doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.06.009.
4. Eeckhout E, Kern MJ. The coronary no-reflow phenomenon: a review of mechanisms and therapies // *Eur. Heart J.* 2001;(22):729–739. Doi: 10.1053/ehj.2000.2172.
5. Синдром реперфузии миокарда: патогенез, клиника, диагностика / Г. Г. Хубулава, А. Н. Шишкевич, С. С. Михайлов, Е. Ю. Бессонов // *Вестн. Рос. Военно-мед. акад.* – 2020. – Т. 1, № 69. – С. 196–200. [Khubulava GG, Shishkevich AN, Mihajlov SS, Bessonov EJu. Sindrom reperfuzii miokarda: patogenez, klinika, diagnostika // *Vestnik Rossijskoj Voenno-meditsinskoj akademii.* 2020;1(69):196–200. (In Russ.)].
6. Фролов А. А., Починка И. Г., Шахов Б. Е. и др. Феномен коронарной микрососудистой обструкции (no-reflow) при проведении чрескожных коронарных вмешательств у пациентов с инфарктом миокарда // *Патология кровообращения и кардиохирургия.* – 2020. Т. 24, № 1. – С. 18–27. [Frolov AA, Pochinka IG, Shahov BE. et al. Fenomen koronarnoj mikrososudistoj obstrukcii (no-reflow) pri provedenii chreskoznyh koronarnyh vmeshatel'stv u pacientov

*s infarktomiokarda // Patologija krovoobrashhenija i kardiohirurgija. 2020;24(1):18–27. (In Russ.)].*

7. Niccoli G, Cosentino N, Spaziani C. et al. No-reflow: incidence and detection in the cath-lab // *Curr. Pharm. Des.* 2013;(19):4564–4575. Doi: 10.2174/1381612811319250005.

8. Niccoli G, Scalone G, Lerman A. et al. Coronary microvascular obstruction in acute myocardial infarction // *European Heart J.* 2016;37(13):1024–1033. Doi: 10.1093/eurheartj/ehv484.

9. Morishima I, Sone T, Okumura K. et al. Angiographic no-reflow phenomenon as a predictor of adverse long-term outcome in patients treated with percutaneous transluminal coronary angioplasty for first acute myocardial infarction // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000;36(4):1202–1209. Doi: 10.1016/s0735-1097(00)00865-2.

10. Dong-bao L, Qi H, Zhi L. et al. Predictors and long-term prognosis of angiographic slow/no-reflow phenomenon during emergency percutaneous coronary intervention for ST-elevated acute myocardial infarction // *Clin. Cardiol.* 2010;33(12):7–12. Doi: 10.1002/clc.20634.

11. Mehta RH, Harjai KJ, Boura J. et al. Prognostic significance of transient no-reflow during primary percutaneous coronary intervention for ST-elevation acute myocardial infarction // *Am. J. Cardiol.* 2003;92(12):1445–1447. Doi: 10.1016/j.amjcard.2003.08.056.

12. de Waha S, Patel MR, Granger CB. et al. Relationship between microvascular obstruction and adverse events following primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction: an individual patient data pooled analysis from seven randomized trials // *Eur. Heart J.* 2017;38(47):3502–3510. Doi: 10.1093/eurheartj/ehx414.

13. Al Azzoni A, Lamelos P, Marsden T. Incidence and predictors of no reflow phenomenon: insights from the total trial // *Journal of the American College of Cardiology.* 2017;69(11):1179. Doi: 10.1016/s0735-1097(17)34568-0.

14. Cenko E, Ricci B, Kedev S. et al. The no-reflow phenomenon in the young and in the elderly // *Int. J. of Cardiology.* 2016;(222):1122–1128. Doi: 10.1016/j.ijcard.2016.07.209.

15. Lerman A, Holmes DR, Herrman J. et al. Microcirculatory dysfunction in ST-elevation myocardial infarction: cause, consequence, or both // *Eur. Heart J.* 2007;28(7):788–797. Doi: 10.1093/eurheartj/ehl501.

16. Britten MB, Zeiher AM, Schächinger V. Microvascular dysfunction in angiographically normal or mildly diseased coronary arteries predicts adverse cardiovascular long-term outcome. *Coron. Artery Dis.* 2004;15(5):259–264. Doi: 10.1097/01.mca.0000134590.99841.81.

17. Nijveldt R, van der Vleuten PA, Hirsch A. et al. Early Electrocardiographic Findings and MR Imaging-Verified Microvascular Injury and Myocardial Infarct Size // *JACC: Cardiovascular Imaging.* 2009;2(10):1187–1194. Doi: 10.1016/j.jcmg.2009.06.008.

18. Niccoli G, Burzotta F, Galiuto L. et al. Myocardial no-reflow in humans // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009;54(4):281–292. Doi: 10.1016/j.jacc.2009.03.054.

19. Sorajja P, Gersh BJ, Costantini C. et al. Combined prognostic utility of ST-segment recovery and myocardial blush after primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction // *Eur. Heart J.* 2005;26(7):667–674. Doi: 10.1093/eurheartj/ehi167.

20. Bolognese L, Carrabba N, Parodi G. et al. Impact of microvascular dysfunction on left ventricular remodeling and long-term clinical outcome after primary coronary angioplasty for acute myocardial infarction // *Circulation.* 2004;109(9):1121–1126. Doi: 10.1161/01.cir.0000118496.44135.a7.

21. Wu KC, Zerhouni EA, Judd RM. et al. Prognostic significance of microvascular obstruction by magnetic resonance

imaging in patients with acute myocardial infarction // *Circulation.* 1998;97(8):765–772. Doi: 10.1161/01.cir.97.8.765.

22. Fajar JK, Heriansyah T, Rohman MS. The predictors of no reflow phenomenon after percutaneous coronary intervention in patients with ST elevation myocardial infarction: A meta-analysis // *Indian Heart Journal.* 2018;70(3):406–418. Doi: 10.1016/j.ihj.2018.01.032.

23. Kirma C, Izgi A, Dundar C. et al. Clinical and Procedural Predictors of No-Reflow Phenomenon After Primary Percutaneous Coronary Interventions // *Circulation Journal.* 2008;72(5):716–721. Doi: 10.1253/circj.72.716.

24. Sakai S, Mizuno K, Tomimura M. et al. Visualized plaque debris as a cause of distal embolization after percutaneous coronary intervention in patients with unstable angina // *Catheter Cardiovasc. Interv.* 2002;(55):113–117. Doi: 10.1002/ccd.10070.

25. den Heijer P, Foley DP, Escaned J. et al. Angioscopic versus angiographic detection of intimal dissection and intracoronary thrombus // *J. Am. Coll. Cardiol.* 1994;24(3):649–654. Doi: 10.1016/0735-1097(94)90010-8.

26. Soeda T, Higuma T, Abe N. et al. Morphological predictors for no reflow phenomenon after primary percutaneous coronary intervention in patients with ST-segment elevation myocardial infarction caused by plaque rupture // *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging.* 2017;18(1):103–110. Doi: 10.1093/ehjci/jev341.

27. Tanaka A, Kawarabayashi T, Nishibori Y. et al. No-Reflow Phenomenon and Lesion Morphology in Patients With Acute Myocardial Infarction // *Circulation.* 2002;105(18):2148–2152. Doi: 10.1161/01.cir.000015697.59592.07.

28. Iijima R, Shinji H, Ikeda N. et al. Comparison of coronary arterial finding by intravascular ultrasound in patients with «transient no-reflow» versus «reflow» during percutaneous coronary intervention in acute coronary syndrome // *Am. J. Cardiol.* 2006;97(1):29–33. Doi: 10.1016/j.amjcard.2005.07.104.

29. Endo M, Hibi K, Shimizu T. et al. Impact of ultrasound attenuation and plaque rupture as detected by intravascular ultrasound on the incidence of no-reflow phenomenon after percutaneous coronary intervention in st-segment elevation myocardial infarction // *JACC Cardiovasc. Interv.* 2010;3(5):540–549. Doi: 10.1016/j.jcin.2010.01.015.

30. Francischetti I, Moreno JB, Scholz M. et al. Leukocytes and the inflammatory response in ischemia-reperfusion injury // *Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.* 2010;25(4):575–584. Doi: 10.1590/s0102-76382010000400023.

31. Akpek M, Kaya MG, Lam YY. et al. Relation of neutrophil/lymphocyte ratio to coronary flow to in-hospital major adverse cardiac events in patients with st-elevated myocardial infarction undergoing primary coronary intervention // *Am. J. Cardiol.* 2012;110(5):621–627. Doi: 10.1016/j.amjcard.2012.04.041.

32. Celik T, Kaya MG, Akpek M. et al. Predictive value of admission platelet volume indices for in-hospital major adverse cardiovascular events in acute st-segment elevation myocardial infarction // *Angiology.* 2013;66(2):155–162. Doi: 10.1177/0003319713513493.

33. Kurtul A, Acikgoz SK. Usefulness of mean platelet volume-to-lymphocyte ratio for predicting angiographic no-reflow and short-term prognosis after primary percutaneous coronary intervention in patients with st-segment elevation myocardial infarction // *Am. J. Cardiol.* 2017;120(4):534–541. Doi: 10.1016/j.amjcard.2017.05.020.

34. Balta S, Celik T, Ozturk C. et al. The relation between monocyte to HDL ratio and no-reflow phenomenon in the patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction // *The American Journal of Emergency Medicine.* 2016; 34(8):1542–1547. Doi: 10.1016/j.ajem.2016.05.031.

35. Wang J, Chen Y, Wang C. et al. The impact of pre-primary percutaneous coronary intervention  $\beta$  blocker use on the no-reflow phenomenon in patients with acute myocardial infarction // *Chin. J. Cardiol.* 2014;42(10):822–826.

36. Celik T, Kaya MG, Akpek M. Does serum bilirubin level on admission predict timi flow grade and in-hospital MACE in patients with STEMI undergoing primary PCI // *Angiology.* 2014;65(3):198–204. Doi: 10.1177/0003319712474948.

37. Zhao J, Yang Y, Zhang Y. et al. Chronic pretreatment of ACEI reduces no-reflow in patients with acute myocardial infarction treated with primary angioplasty // *Clin. Cardiol.* 2007;30(3):130–134. Doi: 10.1002/clc.20060.

38. Iwakura K, Ito H, Kawano S. et al. Chronic pre-treatment of statins is associated with the reduction of the no-reflow phenomenon in the patients with reperfused acute myocardial infarction // *Eur Heart J.* 2006;27(5):534–539. Doi: 10.1093/eurheartj/ehi715.

39. Kim JS, Kim J, Choi D. et al. Efficacy of high-dose atorvastatin loading before primary percutaneous coronary intervention in ST-segment elevation myocardial infarction: the STATIN STEMI trial // *JACC Cardiovasc Interv.* 2010;3(3):332–339. Doi: 10.1016/j.jcin.2009.11.021.

40. Hu T, Wang HC, Wang RT. et al. Effect of chronic pre-treatment of angiotensin-converting receptor blocker on no-reflow phenomenon in patients with acute myocardial infarction undergoing percutaneous coronary intervention // *Cardiovascular Therapeutics.* 2013;31(3):7–11. Doi: 10.1111/j.1755-5922.2012.00314.x.

41. Wang JW, Zhou ZQ, Chen YD. et al. A risk score for no reflow in patients with ST-segment elevation myocardial infarction after primary percutaneous coronary intervention // *Clinical Cardiology.* 2015;38(4):208–215. Doi:10.1002/clc.22376.

42. Li Y, Hongliang C, Yali L. et al. Prediction of no-reflow phenomenon in patients treated with primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(26):E20152. Doi: 10.1097/MD.00000000000020152.

### Информация об авторах

**Хубулава Геннадий Григорьевич** – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, зав. кафедрой и клиникой хирургии (усовершенствования врачей) № 1, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: as015@rambler.ru.

**Козлов Кирилл Ленарович** – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры хирургии (усовершенствования врачей) № 1, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: kozlov\_kl@mail.ru.

**Шихкевич Андрей Николаевич** – д-р мед. наук, начальник рентгенохирургического отделения клиники хирургии (усовершенствования врачей) № 1, Военно-медицинская ака-

демия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: shishkevich50@mail.ru.

**Михайлов Сергей Сергеевич** – канд. мед. наук, старший ординатор рентгенохирургического отделения клиники хирургии (усовершенствования врачей) № 1, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: mikhailov.vma@gmail.com.

**Бессонов Евгений Юрьевич** – ординатор рентгенохирургического отделения клиники хирургии (усовершенствования врачей) № 1, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: ewgenijbessonov@yandex.ru.

**Токарев Павел Александрович** – врач-РХМДЛ клиники хирургии (усовершенствования врачей) № 1, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия.

**Пачков Дмитрий Алексеевич** – врач – анестезиолог-реаниматолог клиники хирургии (усовершенствования врачей) № 1, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: pachkov.dmitriy@gmail.ru.

**Бобровская Екатерина Евгеньевна** – канд. мед. наук, преподаватель кафедры хирургии (усовершенствования врачей) № 1, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия.

### Authors information

**Khubulava Gennady G.** – MD, Professor, Academician the Russian Academy of Sciences, Head of the Department and Clinic of Surgery (Improvements of Doctors) № 1, Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia, e-mail: as015@rambler.ru.

**Kozlov Kirill L.** – MD, professor, professor of the Department and Clinic of Surgery (Improvements of Doctors) № 1, Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia, e-mail: kozlov\_kl@mail.ru.

**Shishkevich Andrey N.** – MD, head of the X-ray surgical department of the Surgery Clinic (Improvements of Doctors) № 1 Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia, e-mail: shishkevich50@mail.ru.

**Mikhailov Sergey S.** – Ph. D., senior resident of the X-ray surgery department of Surgery Clinic (Improvements of Doctors) № 1, Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia, e-mail: mikhailov.vma@gmail.com.

**Bessonov Evgeny Yu.** – resident of the X-ray surgical department of the Surgery Clinic (Improvements of Doctors) № 1, Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia, e-mail: ewgenijbessonov@yandex.ru.

**Tokarev Pavel A.** – X-ray surgeon of the Surgery Clinic (Improvements of Doctors) № 1 of the Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia.

**Pachkov Dmitry A.** – anesthesiologist-resuscitator of the Surgery Clinic (Improvements of Doctors) № 1, Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia, e-mail: pachkov.dmitriy@gmail.ru.

**Bobrovskaya Ekaterina E.** – Ph. D., lecturer of the department of the Surgery Clinic (Improvements of Doctors) № 1 of the Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia.

УДК 616.517, 616.72-002, 612.135, 616.151.5  
DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-11-17

А. Н. ШИШКИН, А. А. НИКОЛАЕВА

## Особенности микроциркуляции при псориатическом артрите

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия  
199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7/9  
E-mail: alexshishkin@bk.ru

Статья поступила в редакцию 09.04.21 г.; принята к печати 16.07.21 г.

### Резюме

В литературном обзоре представлены данные об особенностях микроциркуляции у пациентов с псориатическим артритом (ПсА). Иммуновоспалительный процесс, лежащий в основе ПсА, приводит к повышению проницаемости сосудистой стенки, отложению в ней иммунных комплексов, снижению капиллярного кровотока и чувствительности сосудов к симпатической стимуляции. Данные изменения в сочетании с нарушением реологических свойств крови на фоне воспаления оказывают значимое влияние на состояние микроциркуляторного русла. Повышенная сосудистая проницаемость и повреждение связи эндотелия с экстрацеллюлярным матриксом при ПсА определяют формирование патологической структуры капилляров. При микроскопическом исследовании синовиальной оболочки больных ПсА наблюдается извитость, разветвленность и удлинение сосудов. Длительность, активность суставного воспаления, а также тяжесть течения псориаза взаимосвязаны со степенью микроциркуляторных нарушений при ПсА. Патоморфологические изменения в сосудах у пациентов с ПсА выявляются не только в тканях суставов, но и в коже, что указывает на дисрегуляцию ангиогенеза в целом. Механизмы образования новых сосудов с патологической структурой до конца не ясны, однако, вероятнее всего, важная роль принадлежит дисбалансу факторов ангиогенеза и антиангиогенеза. Накопилось все больше доказательств участия в патогенезе ПсА таких молекул, как фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), трансформирующий ростовой фактор-бета (TGF-бета) и тромбоцитарный фактор роста (PDGF). В настоящий момент остается актуальным вопрос ранней диагностики ПсА, особенно в случаях с невыраженными кожными изменениями и ревматоидоподобным поражением суставов. Информация о состоянии микроциркуляции, полученная с помощью капилляроскопии, видеокapилляроскопии, флуоресцентной микроскопии, дает дополнительные возможности в отношении дифференциальной диагностики ПсА, определения активности и прогноза заболевания.

**Ключевые слова:** псориатический артрит, псориаз, микроциркуляторное русло, ангиогенез, капилляроскопия

Для цитирования: Шишкин А. Н., Николаева А. А. Особенности микроциркуляции при псориатическом артрите. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021;20(3):11–17. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-11-17.

UDC 616.517, 616.72-002, 612.135, 616.151.5  
DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-11-17

A. N. SHISHKIN, A. A. NIKOLAEVA

## Features of microcirculation in psoriatic arthritis

Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia  
7/9, Universitetskaya embankment, Saint Petersburg, Russia, 199034  
E-mail: alexshishkin@bk.ru

Received 09.04.21; accepted 16.07.21

### Summary

The literature review presents data on features of microcirculation in patients with psoriatic arthritis (PsA). The immune inflammation underlying PsA leads to increased permeability of the vascular wall, deposition of the immune complexes in it, a decreased capillary blood flow, and vascular sensitivity to sympathetic stimulation. In combination with impaired blood rheology during inflammation, these changes have a significant effect on the state of the microvasculature. Increased vascular permeability and a damaged connection between the endothelium and the extracellular matrix in PsA cause the formation of the capillaries with a pathological structure. Microscopic examination of the synovial membrane of patients with PsA shows vascular tortuosity, branching, and elongation. The duration, activity of articular inflammation, as well as severity of psoriasis are associated with the degree of microcirculatory disorders in PsA. The pathomorphological changes in the vessels of patients with PsA are detected not only in the articular tissues but also in the skin, which indicates dysregulation of angiogenesis in general. The mechanisms of the formation of new vessels with a pathological structure are not fully understood. However, most likely, an imbalance of the factors of angiogenesis and antiangiogenesis plays an important role. There is growing evidence that vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor-beta (TGF-beta) and platelet growth factor (PDGF) are involved in the pathogenesis of PsA. At the moment, the issue of early diagnosis of PsA remains relevant, especially in cases with minor skin changes and rheumatoid-like joint lesions. Information on microcirculation obtained by capillaroscopy, video capillaroscopy, and fluorescence microscopy provides additional opportunities for a differential diagnosis of PsA, a determination of activity, and a prognosis of the disease.

**Keywords:** psoriatic arthritis, psoriasis, microvasculature, angiogenesis, capillaroscopy

For citation: Shishkin A. N., Nikolaeva A. A. Features of microcirculation in psoriatic arthritis. Regional hemodynamics and microcirculation. 2021; 20(3):11–17. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-11-17.

Псориазический артрит (ПсА) – хроническое иммуновоспалительное заболевание, которое ассоциируется с псориазом [1, 2]. С одной стороны, ПсА рассматривается в рамках «системной псориазической болезни», а с другой – классифицируется как самостоятельная патология из группы спондилоартритов (СпА). Патогенез ПсА характеризуется комплексным взаимодействием факторов внешней среды, генетической предрасположенности, аутоиммунных и аутовоспалительных механизмов [3–5].

В основе ревматологической патологии, в том числе и ПсА, лежат иммуновоспалительные реакции, оказывающие влияние на состояние микроциркуляторного русла. При ревматических заболеваниях повышается проницаемость сосудистых стенок, происходит отложение иммунных комплексов в них, вследствие чего просвет сосудов сужается, наблюдается снижение капиллярного кровотока и чувствительности сосудов к симпатической стимуляции. Выраженность микроциркуляторных нарушений при ПсА взаимосвязана с длительностью и активностью суставного воспаления, тяжестью течения псориаза. Таким образом, диагностика изменений микроциркуляции повышает точность определения активности заболевания и способствует достоверному прогнозированию течения болезни [6, 7].

Состояние микроциркуляторного русла играет важную роль в патогенезе псориаза и ассоциированного с ним артрита [8]. Развитие ангиопатии при псориазе происходит под влиянием многих причин: наследственные дефекты, очаговое повреждение, первичное поражение перicyтов, спазм и дилатация мелких сосудов, нарушение межтучного обмена веществ, реакция гиперчувствительности с отложением иммунных комплексов в стенке сосудов с последующим изменением их проницаемости [9].

Нарушения микроциркуляции при псориазе связаны с изменениями в системе коагуляции и гемостаза. Гемостаз определяется состоянием эндотелия кровеносных сосудов, свертывающей и фибринолитической систем крови, достаточным содержанием тромбоцитов и их функциональной полноценностью. Сведения о звеньях гемостаза при псориазе достаточно разнообразны [10]. В одном из исследований у пациентов с псориазом по сравнению с группой контроля было выявлено значительное увеличение уровня фибринопептида А при сопутствующем снижении уровня пептида С, плазминогена, альфа-2-антиплазмина, что говорит наличии гиперкоагуляции в данной группе больных [11]. Ряд авторов указывают на развитие у пациентов гиперкоагуляции, сопровождающейся снижением антитромбина III, повышением уровня гомоцистеина при нормальной концентрации протеинов С и S. Более того, выявляется зависимость нарушений гемостаза от клинического течения псориаза: наиболее выраженное повышение коагуляционного потенциала и, соответственно, склонность к тромбообразованию наблюдались у больных с частыми рецидивами заболевания. С другой стороны, у больных с торпидным течением распространенного вульгарного псориаза выявлена предрасположенность к гипокоагуляции на фоне на-

рушения функции противосвертывающей системы, тромбоцитопении, гипофибриногенемии, а также усиление спонтанной агрегации тромбоцитов у части обследованных пациентов [10].

В литературе встречаются данные о повышенной активации тромбоцитов при псориазе [12]. Установлено, что уровень бета-тромбоглобулина (белка альфа-гранул тромбоцитов) и тромбоцитарного фактора-4 значительно выше у пациентов с псориазом, чем у здоровых лиц, что свидетельствует о гиперактивации тромбоцитов в данной группе [13]. В то время как при псориазе определяются активированные тромбоциты с увеличенным объемом, спонтанная и индуцированная гиперагрегация тромбоцитов, существенных различий по сравнению со здоровыми лицами по количеству тромбоцитов и их циркулирующих агрегатов в периферической крови не выявляется.

Реологические нарушения в большей степени выражены у больных с длительным сроком болезни, тяжелыми проявлениями псориаза, имеющих очаги хронической инфекции, получавших ранее глюкокортикоидную или цитостатическую терапию, с вредными привычками, у лиц с псориазическим артритом и высокой степенью активности воспалительного процесса в суставах [14].

Капилляроскопия позволяет *in vivo* изучить морфологию и функциональные характеристики микроциркуляции. Ряд авторов проводили оценку микроциркуляторного русла при псориазе и ПсА, главным образом в области кожных бляшек, ногтевых валиков, а также в синовиальной оболочке, с целью выявления специфических изменений, однако результаты исследований оказались неоднозначными [15].

Изучение структуры кровеносных капилляров у пациентов с псориазом показало, что в псориазических бляшках в прогрессирующей стадии дерматоза капилляры тонкие, вытянутые, в то время как в стационарной стадии капилляры утолщены, извиты, расширены. В зоне, пограничной с псориазической бляшкой, было выявлено уменьшение количества функционирующих капилляров. Обращает на себя внимание, что даже при полном регрессе бляшки в период клинического выздоровления в ранее измененной коже функционирующих капилляров на 15–20 % меньше по сравнению со здоровыми участками. Среди морфологических изменений капилляров кожи при псориазе выделяют увеличение объема ядер эндотелия, сужение просвета капилляров сосочкового слоя, расширение терминальных артериол. В истонченных стенках сосудов можно наблюдать мукоидное набухание, плазматическое пропитывание, расслоение и фрагментацию базальных мембран. В отечной периваскулярной ткани часто обнаруживаются небольшие инфильтраты из лимфоцитов, эозинофильных гранулоцитов, макрофагов, тканевых базофилов. Таким образом, в пораженной коже изменения сосудов носят органический характер и связаны с явлениями васкулита [9].

В очагах кожного поражения при псориазе, как на внутренней, так и на наружной поверхности эндотелия сосудов, определяются многочисленные цитоплазматические выросты, что указывает на

повышение эндотелиальной активности. Кроме того, в цитоплазме наблюдается большое количество пиноцитозных пузырьков и вакуолей, свидетельствующих об увеличении транспорта различных веществ через эндотелиальные клетки. С целью изучения сосудистой проницаемости при псориазе было проведено исследование, в ходе которого оценивалось время выведения альбумина, меченного радиоактивным йодом, из сосудов и тканей в участках кожных высыпаний. Результаты работы показали увеличение времени выведения альбумина из тканей и, наоборот, ускорение перехода альбумина из сосудов в ткани у больных с псориазом по сравнению со здоровыми лицами, что подтверждает факт нарушения проницаемости сосудов при данной нозологии [9].

Уменьшение количества адренергических медиаторов и снижение чувствительности тканей к ним при псориазе приводит к явлениям сосудистой дистонии: в результате нарушений симпатической регуляции происходит дилатация резистивных сосудов [9]. Ранее некоторые авторы связывали усиление перфузии псориазической бляшки не с вазодилатацией и ускорением тока крови, а с повышенной плотностью капилляров. Данное представление возникло в связи с тем, что изучение псориазических бляшек проводилось во фронтальной плоскости, в которой не представляется возможным проследить ход сосудов на протяжении всего сосочка дермы, а значит, разветвления одного и того же капилляра могли неверно трактоваться как самостоятельные сосуды [15].

При псориазе наблюдаются расширенные подкожные артериальные сосуды и сосуды глубокого кожного венозного сплетения, а также функционирующие артериоло-венозные анастомозы в поверхностном подсосочковом венозном сплетении. В участках видимо не измененной кожи у пациентов с псориазом морфологические характеристики сосудов аналогичны тем, что и в местах поражения. Более того, существуют сведения о том, что у здоровых родственников пациентов с псориазом наблюдаются изменения сосудов кожи, идентичные таковым в участках видимо не пораженной кожи больных [9].

Микроангиопатия при ПсА, по мнению ряда авторов, обусловлена развитием иммунокомплексного васкулита. Световая и электронная микроскопия биоптатов синовиальной оболочки пациентов с ПсА выявляет такие патоморфологические изменения в сосудах микроциркуляторного русла, как отек эндотелиальных клеток, утолщение сосудистой стенки за счет воспалительной инфильтрации, концентрический склероз стенок [16]. Более того, реологические свойства крови, способность эритроцитов к агрегации и деформации также оказывают влияние на нарушение микроциркуляции [16].

Морфологические изменения в сосудах при ПсА выявляются не только в тканях суставов, но и в коже, что может говорить о дисрегуляции ангиогенеза в целом [17]. В коже и в синовиальных оболочках пациентов с ПсО и ПсА было обнаружено нарушение взаимодействия молекул межклеточной адгезии (ICAM1) и молекул васкулярной адгезии (VCAM1). Изменение проницаемости капилляров и поврежде-

ние соединения между эндотелием и экстрацеллюлярным матриксом приводит к формированию патологической структуры и формы капилляров в сосочках дермы [15]. Так, при микроскопическом исследовании синовиальной оболочки у пациентов с ПсА наблюдается увеличение количества, извитость, разветвленность и удлинение сосудов.

Э. С. Мач и др. в 1986 г. с помощью метода клиренса радиоиндикатора  $^{133}\text{Xe}$  из внутритканевого депо оценивали тканевый кровоток при ПсА на участках клинически здоровой кожи голени и предплечий. Авторы обнаружили статистически достоверное снижение эффективного кожного кровотока в 2 раза по сравнению с группой контроля. Причем нарушение микроциркуляции в коже выявляли как при наличии клинических признаков поражения сосудов (капилляриты, зябкость, онемение кончиков пальцев кистей и стоп), так и при их отсутствии, что также позволило сделать вывод о генерализованной микроангиопатии при ПсА [16].

В небольшом исследовании М. Bhushan et al. [8] с участием 44 пациентов с псориазом была проведена оценка микроциркуляторного русла посредством видеокапилляроскопии, являющейся более расширенной по сравнению с широкопольной микроскопией техникой. В ходе работы удалось установить статистически значимое снижение плотности капиллярной петли у пациентов с псориазом и ониходистрофией и у пациентов с псориазом, ониходистрофией и артритом ДМФС по сравнению с контролем. Более того, статистически значимое уменьшение диаметров артериальных и венозных капилляров наблюдалось в группе пациентов с ДМФС, как с изменением ногтей, так и без них. Различий в размерах капилляров у пациентов с псориазом и (или) ониходистрофией по сравнению со здоровыми лицами не отмечалось.

Исследование Т. В. Коротаевой [16] показало наличие нарушений мышечной гемодинамики при ПсА, которое проявлялось в снижении емкости микрососудов скелетной мышцы. Вероятно, типичное для ПсА изменение окраски кожных покровов над пораженными суставами объясняется микроциркуляторными нарушениями и в периартикулярных тканях.

D. Graceffa et al. [15] обнаружили сходство основных морфологических изменений, таких как мегакапилляры, кровоизлияния, разветвления, аваскулярные зоны, при ревматоидном артрите (РА), ПсА и псориазе. Более детальная морфометрическая оценка показала статистически значимую разницу в группе пациентов с псориазом и ПсА по сравнению со здоровыми людьми по трем параметрам: амплитуда капиллярной петли, линейная плотность капилляров, число разветвленных капилляров. У больных псориазом выявлены уменьшение линейной плотности капилляров и их повышенная извитость. При сравнении пациентов с РА и ПсА наблюдались значимые различия в диаметре артерий, венул и капиллярной петли, а также в амплитуде капиллярной петли, которые были больше при РА. Стоит отметить, что различий по всем указанным параметрам между пациентами с ПсО и ПсА не отмечалось [15].

Одним из новых способов изучения микроциркуляторного русла является технология флуоресцентного оптического изображения. Она позволяет не только визуализировать сосуды, но и определяет перфузию тканей. Этот современный метод может быть полезен в оценке микроциркуляции при ревматических заболеваниях с вовлечением кожи [18]. O. Wiemann et al. [19] использовали данное исследование в группе больных с ПсА. В проекции ногтей пациентов было зафиксировано три различных варианта оптического флуоресцентного сигнала. Одним из таких паттернов стал симптом «зеленого ногтя», оказавшийся высокоспецифичным (97 %) для ПсА. В последующем исследовании специфичность этого явления для ПсА составила 87 % по сравнению с контрольной группой. Таким образом, феномен «зеленого ногтя» представляет особый диагностический интерес, так как является потенциальным признаком нарушения микроциркуляции ногтевого ложа при ПсА.

Образование новых кровеносных сосудов играет важную роль в патогенезе ПсА. В то время как ангиогенез при РА достаточно широко изучен, сведения о данном процессе при ПсА в литературе ограничены. Учитывая иной характер сосудистых изменений у пациентов с РА, а именно – наличие прямых сосудов с упорядоченным разветвлением, можно предположить, что пути ангиогенеза при указанных патологиях также различны [17]. Было показано значимое влияние на ангиогенез при РА гипоксии в синовиальных оболочках. Среди механизмов ее развития выделяют преходящее закрытие капилляров и последующее увеличение внутрисуставного давления, высокие метаболические потребности в связи с миграцией и пролиферацией клеток воспаления, а также повышенную экспрессию АПФ, который индуцирует образование ангиотензина-2, вызывающего вазоконстрикцию и, как следствие, нарастание гипоксии [20]. Низкий уровень содержания кислорода в синовии был также выявлен у пациентов с ПсА. Первые два механизма, наблюдаемые при РА, могут принимать участие в развитии гипоксии и при ПсА, в то время как данные об экспрессии АПФ при ПсА отсутствуют [17].

Известно, что гипоксия и накопление метаболитов гликолиза вызывают синтез хемокинов ангиогенеза, гипоксию-индуцирующего фактора (HIF). HIF, в свою очередь, активирует транскрипцию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). Более того, гипоксия через процессы гидроксилирования ингибитора кВ-киназыβ (ИККβ) индуцирует экспрессию NFκB [17, 20]. В исследовании с участием 54 пациентов было показано значительное повышение экспрессии, связанной с клеточной мембраной субъединицы NOX (NADPH-оксидазы) – NOX-2 при наличии активного воспаления в суставах. Высокий уровень NOX-2 коррелировал с низким синовиальным парциальным давлением кислорода и повышенной экспрессией VEGF, ангиопоэтина-2, VIII фактора, невральных молекул межклеточной адгезии (NCAM) и альфа-актина гладких мышц. Обращает на себя внимание тот факт, что терапия ингибиторами ФНО-альфа при-

водит к снижению экспрессии NOX-2 и увеличению парциального давления кислорода в синовии [17].

У пациентов с псориазом наблюдается повышение таких факторов ангиогенеза, как VEGF, трансформирующий фактор роста бета (TGF-β) и тромбоцитарный фактор роста (PDGF). В настоящее время накапливается все больше доказательств того, что при ПсА данные молекулы также важны. Так, например, наличие VEGF и рецепторов к нему VEGFR-1/Flt1 и VEGFR-2/KDR в синовии при ПсА позволяет предполагать влияние VEGF на ангиогенез и сосудистую проницаемость. Интересно, что уровень VEGF коррелирует со степенью извитости сосудов, характерной для ПсА. При сравнении пациентов с ранним ПсА и РА оказалось, что в синовиальной оболочке при раннем ПсА уровни ангиопоэтинов (Angs), VEGF, TGF-β значительно выше, чем при РА [17, 21, 22].

Влияние VEGF на течение псориаза и ПсА до сих пор остается дискуссионным. С одной стороны, в экспериментальной модели подавления данного фактора наблюдалось уменьшение воспалительного процесса. В то же время у пациентов, получающих терапию ингибитором VEGF-A Бевацизумабом, не отмечалось положительного эффекта в отношении псориаза, и даже выявлялись случаи реактивации кожного процесса и ПсА [15]. Снижение у пациентов с ПсА экспрессии Т-аллели VEGF rs3025039, известной как +936 С/Т, по сравнению с контрольной группой позволяет предположить, что данный полиморфизм играет защитную роль относительно развития ПсА [23]. Стоит подчеркнуть, что частота 936 Т-аллели значительно выше при РА [17].

Важными регуляторами роста, созревания и функционирования кровеносных сосудов являются ангиопоэтины-1 и -2. В присутствии VEGF ангиопоэтин-2 индуцирует ангиогенез, и, наоборот, при снижении уровня VEGF он способствует подавлению образования сосудов. Установлено, что уровень ангиопоэтина-2 повышается после терапии ингибиторами ФНО-альфа (иФНО-альфа). Соответственно, увеличение соотношения «ангиопоэтин-2/VEGF» после терапии иФНО-альфа может влиять на уменьшение синовиальной неоваскуляризации при ПсА [15]. Экспрессия VEGF и ангиопоэтина-2 запускает сигнальные пути ангиогенеза – NOTCH-DLL4, причем при наличии сразу двух этих факторов наблюдается более интенсивная активация по сравнению с присутствием только одного из них [17].

Недавно было показано влияние мембранного белка басигина, являющегося внеклеточной металлопротеиназой (EMMPRN, CD147), на ангиогенез при ПсА. Нейтрализация данной молекулы *in vitro* оказывала негативное влияние на способность эндотелиальных клеток формировать трубчатые структуры и участвовать в заживлении ран [21].

Как в пораженных псориазом участках кожи, так и в синовиальной оболочке пациентов с ПсА повышена экспрессия интерлейкина-1 и ФНО-альфа [24, 25]. ФНО-альфа способствует ангиогенезу, участвует в запуске продукции VEGF. Подобная роль предполагается также и для интерлейкина-1.

Посредством стимуляции Toll-like-рецепторов (TLR-2) ФНО-альфа индуцирует транслокацию NF-κB в фибробластах синовия, ответственную за экспрессию провоспалительных цитокинов и металлопротеиназ. Иммуногистохимические исследования синовиальной ткани и пораженной кожи пациентов с ПсА на фоне терапии ингибиторами ФНО-альфа продемонстрировали снижение уровней факторов ангиогенеза – VEGF и VEGFR-2, хемокина (SDF1)/CXС (stromal cell-derived factor 1), CXCL-12 и тирозин-протеинкиназы Tie2, металлопротеиназы-9, αvβ3-интегрина, E-селектина, молекул клеточной адгезии (ICAM-1), «васкулярных» молекул клеточной адгезии (VCAM-1) – и, соответственно, уменьшение числа кровеносных сосудов в дерме и синовиальной оболочке [17, 26].

К. Angel et al. [27] выявили, что ингибиторы ФНО-альфа снижают воспалительную активность и уменьшают жесткость аорты у пациентов с артритом, подтверждая тем самым гипотезу благоприятного влияния противовоспалительного эффекта в отношении сердечно-сосудистой системы. L. S. Tam et al. [28] в пилотном исследовании показали, что лечение анти-ФНО-агентами может определять уменьшение комплекса интима-медиа у пациентов с ПсА, связанное со снижением уровня маркеров воспаления, независимо от липидного профиля. Однако двойное слепое плацебоконтролируемое исследование с участием 127 пациентов с ПсА продемонстрировало, что анти-ФНО-агенты вызывают не только значительное снижение концентраций С-реактивного белка (СРБ), но и уменьшение липопротеина (а), гомоцистеина, а также повышение сывороточного полового гормона, связывающего глобулин, аполипопротеин (Аpo) AI, Аpo B и триглицериды; тем не менее исследование не подтвердило кардиопротективный эффект анти-ФНО в этой группе пациентов [24, 29, 30].

Изучение ангиогенеза на фоне РА показало, что важную роль в нем играет онкостатин М (OSM), относящийся к семейству интерлейкина-6 [31, 32]. Известно, что OSM активирует синтез интерлейкина-17, который участвует в патогенезе ПсА. Интерлейкин-17 через стимуляцию интерлейкина-23 индуцирует синтез провоспалительных цитокинов, хемотаксис нейтрофилов и миграцию эндотелиальных клеток. Таким образом, предполагается влияние онкостатина М, интерлейкинов-17 и -23 на ангиогенез при ПсА [17, 33].

В настоящий момент накапливаются доказательства того, что тромбоцитарный фактор роста (Platelet-derived growth factor, PDGF) участвует в рекрутменте перицитов в новые сосуды, где их главная функция заключается в поддержании целостности сосудистой стенки. Дисрегуляция ангиогенеза приводит к формированию неполноценных сосудов. Незрелость сосудов синовиальной оболочки, в свою очередь, может быть причиной нестабильности взаимодействия перицитов с эндотелием сосудов. Патогенетические механизмы неэффективного ангиогенеза до сих пор не ясны, однако дисбаланс в факторах ангиогенеза и антиангиогенеза, вероятнее всего, имеет значение [17].

Определенный интерес представляют циркулирующие эндотелиальные прогениторные клетки (CEPCs), которые являются популяцией стволовых клеток в периферической крови. Они обладают способностью мигрировать, пролиферировать и дифференцироваться в зрелые эндотелиальные клетки, что объясняет их участие в регенерации эндотелия и поддержании васкулярного гомеостаза. Уменьшение числа данных клеток способствует развитию атеросклероза и может рассматриваться как маркер кардиоваскулярного риска. Снижение концентрации и нарушение функции CEPCs было выявлено у пациентов с сердечно-сосудистой патологией и некоторыми хроническими воспалительными заболеваниями. Кроме того, установлено влияние CEPCs на процессы неоваскуляризации. В исследовании А. Batorycka-Baran et al. [34] выявлено значительное снижение CEPCs (CD133+/KDR+) у больных с ПсА по сравнению со здоровыми лицами, причем уровень CEPCs при ПсА был обратно пропорционален показателям активности заболевания (оценка по DAS28, PASI) и концентрации СРБ. С другой стороны, D. Patschan et al. [35] в своей работе не смогли продемонстрировать изменение уровня CEPCs у пациентов с ПсА.

Относительно недавно обнаружен такой фактор риска эндотелиальной дисфункции, как плазменный асимметричный диметиларгинин (ADMA), основной эндогенный ингибитор синтазы оксида азота. Ранее сообщалось, что ADMA является предиктором сердечно-сосудистого риска. Повышенные уровни ADMA наблюдаются в плазме крови пациентов с гиперхолестеринемией, гипертриглицеридемией, заболеваниями периферических артерий, артериальной гипертензией, сахарным диабетом II типа, острым коронарным синдромом и терминальной почечной недостаточностью. В небольшом исследовании с участием 22 пациентов с ПсА и 35 здоровых лиц без анамнеза сердечно-сосудистых заболеваний было обнаружено выраженное повышение уровня ADMA у больных с ПсА. Значимой оказалась корреляция между снижением резерва коронарного кровотока и повышенным уровнем ADMA в плазме крови при ПсА, что может указывать на эндотелиальную дисфункцию и нарушение коронарной микроциркуляции в данной группе больных [24].

В настоящее время вопрос ранней и дифференциальной диагностики ПсА остается актуальным, особенно в случаях с невыраженными кожными проявлениями и ревматоидоподобным поражением суставов. Морфологические характеристики, полученные путем капилляроскопии, обеспечивают дополнительный подход к решению данной проблемы. Изменение структуры кровеносных сосудов в суставах и коже пациентов с ПсА может указывать на нарушение регуляции ангиогенеза. Патогенетические механизмы неэффективного образования новых сосудов до сих пор не ясны, что требует проведения дальнейших исследований [17].

#### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

## Литература / References

1. Лила А. М., Насонов Е. Л., Коротаева Е. В. Псориатический артрит: патогенетические особенности и инновационные методы терапии // Науч.-практ. ревматология. – 2018. – Т. 56, № 6. – С. 685–691. [Lila AM, Nasonov EL, Korotaeva EV. Psoriaticheeskij artrit: patogeneticheskie osobennosti i innovacionnye metody terapii // Nauchno-prakticheskaya revmatologiya. 2018;56(6):685–691. (In Russ.)].
2. Коротаева Т. В., Корсакова Ю. Л., Логина Е. Ю. и др. Псориатический артрит. Клинические рекомендации по диагностике и лечению // Современная ревматология. – 2018. – Т. 12, № 2. – С. 22–35. [Korotaeva TV, Korsakova YUL, Loginova EYU, Gubar'EE, Chamurlieva MN. Psoriaticheeskij artrit. Klinicheskie rekomendacii po diagnostike i lecheniyu. Sovremennaya revmatologiya. 2018;12(2):22–35. (In Russ.)].
3. Можно ли предотвратить развитие псориатического артрита у пациентов с псориазом / Е. Л. Насонов, Т. В. Коротаева, А. М. Лила, А. А. Кубанов // Науч.-практ. ревматология. – 2019. – Т. 57, № 3. – С. 250–254. [Nasonov EL, Korotaeva TV, Lila AM, Kubanov AA. Mozhno li predotvratit' razvitie psoriaticheeskogo artrita u pacientov s psoriazom // Nauchno-prakticheskaya revmatologiya. 2019;57(3):250–254. (In Russ.)].
4. Торшина И. Е., Зирчик А. А., Гельт Т. Д. Значение ониходистрофии в прогнозировании сердечно-сосудистых заболеваний у больных псориазом // Трудный пациент. – 2017. – Т. 15, № 6–7. – С. 28–30. [Torshina IE, Zirchik AA, Gel't TD. Znachenie onikhodistrofii v prognozirovanii serdechno-sosudistykh zabolevanij u bol'nykh psoriazom. Trudnyj pacient. 2017;15(6-7):28–30. (In Russ.)].
5. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных псориатическим артритом. URL: [http://www.ismos.ru/guidelines/doc/psoriaticheeskij\\_artrit.pdf](http://www.ismos.ru/guidelines/doc/psoriaticheeskij_artrit.pdf) (дата обращения: 15.06.2021). [Federal'nye klinicheskie rekomendacii po vedeniyu bol'nykh psoriaticheeskim artritom. Available at: [http://www.ismos.ru/guidelines/doc/psoriaticheeskij\\_artrit.pdf](http://www.ismos.ru/guidelines/doc/psoriaticheeskij_artrit.pdf) (accessed: 15.06.2021)].
6. Потапова Е. В., Дремин В. В., Жеребцов Е. А. и др. Оценка микроциркуляторных нарушений у пациентов ревматологического профиля с использованием метода спектроскопии диффузного отражения // Физиология человека. – 2017. – №43(2). – С. 116–124. [Potapova EV, Dryomin VV, Zherebcov EA, Makovik IN. et al. Ocenka mikrocirkulyatornykh narushenij u pacientov revmatologicheskogo profilya s ispol'zovaniem metoda spektroskopii diffuznogo otrazheniya // Fiziologiya cheloveka. 2017;43(2):116–124. (In Russ.)].
7. Schmidt A, Glimm AM, Haugen IK, Hoff P, Schmittat G, Burmester GR, Klotsche J, Ohrndorf S. Detection of subclinical skin manifestation in patients with psoriasis and psoriatic arthritis by fluorescence optical imaging // Arthritis Res Ther. 2020;(18)22(1):192. Doi: 10.1186/s13075-020-02277-x.
8. Bhushan M, Moore T, Herrick AL, Griffiths CE. Nail-fold video capillaroscopy in psoriasis // Br J Dermatol. 2000;142(6):1171–1176.
9. Опанасенко З. А., Степаненко В. И. Особенности микроциркуляции и изменения сосудов в очагах кожных высыпаний при псориатической болезни // Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. – 2002. – №2. – С. 22–24. [Opanasenko ZA, Stepanenko VI. Osobennosti mikrocirkulyacii i izmeneniya sosudov v ochagakh kozhnykh vysypanij pri psoriaticheeskoj bolezni // Ukraïns'kij zhurnal dermatologii, venerologii, kosmetologii. 2002;(2):22–24. (In Russ.)].
10. Газиев А. Р., Ослопов В. Н., Шапов Б. А. и др. Псориаз и гемостаз. Практическая медицина. – 2013. – Т. 1–4, № 73. – С. 20–23. [Gaziev AR, Osloпов VN, SHapov BA, Minullin IK, Safina FG, Egorova OV, Vahitov HM, Chugunova DN, Andrianova ON. Psoriaz i gemostaz. Prakticheskaya medicina. 2013;1–4(73):20–23. (In Russ.)].
11. Marongiu F, Sorano GG, Bibbo C, Pistis MP, Conti M, Balestrieri A, Biggio P. Abnormalities of blood coagulation and fibrinolysis in psoriasis // Dermatology. 1994;189(1):32–37. Doi: 10.1159/000246755.
12. Di Minno MND, Iervolino S, Peluso R, Scarpa R, Di Minno G. Platelet reactivity and disease activity in subjects with psoriatic arthritis // J Rheumatol. 2012;39(2):334–336. Doi: 10.3899/jrheum.110741.
13. Tamagawa-Mineoka R, Katoh N, Ueda E, Masuda K, Kishimoto S. Elevated platelet activation in patients with atopic dermatitis and psoriasis: increased plasma levels of beta-thromboglobulin and platelet factor 4 // Allergol Int. 2008;57(4):391–396. Doi: 10.2332/allergolint.0-08-537.
14. Козина Ю. В. Псориаз, система гемостаза: применение низкомолекулярных гепаринов // Вестн. ВГМУ. 2013;12(2):95–103. [Kozina YUV. Psoriaz, sistema gemostaza: primeneniye nizkomolekulyarnykh geparinov // Vestnik VGMU. 2013;12(2):95–103. (In Russ.)].
15. Graceffa D, Amorosi B, Maiani E, Bonifati C. et al. Capillaroscopy in psoriatic and rheumatoid arthritis. A useful tool for differential diagnosis. Hindawi Publishing Corporation // Arthritis. 2013;1–5. Doi: 10.1155/2013/957480.
16. Коротаева Т. В., Фирсов Н. Н., Мач Э. С. и др. Нарушения микроциркуляции у пациентов с псориатическим артритом // Терапевт. архив. – 1991. – Т. 63, № 5. – С. 78–82. [Korotaeva TV, Firsov NN, Mach EHS, Agababova ER, Burdejnyj AP. Narusheniya mikrocirkulyacii u pacientov s psoriaticheeskim artritom // Terapevticheskij arkhiv. 1991;63(5):78–82. (In Russ.)].
17. Cantatore FP, Maruotti N, Corrado A, Ribatti D. Angiogenesis Dysregulation in psoriatic arthritis: molecular mechanisms. Hindawi // BioMed Research International. 2017;6. Doi: 10.1155/2017/5312813.
18. Sivasankari M, Arora S, Vasdev V, Mary EM. Nail-fold capillaroscopy in psoriasis // Med J Armed Forces India. 2021;77(1):75–81. Doi: 10.1016/j.mjafi.2020.01.013.
19. Wiemann O, Werner SG, Langer HE, Backhaus M, Chatelain R. The «green nail» phenomenon in ICG-enhanced fluorescence optical imaging – a potential tool for the differential diagnosis of psoriatic arthritis // J Dtsch Dermatol Ges. 2019;17(2):138–147. Doi: 10.1111/ddg.13747.
20. Guo X, Chen G. Hypoxia-inducible factor is critical for pathogenesis and regulation of immune cell functions in rheumatoid arthritis // Front Immunol. 2020;(11):1668. Doi: 10.3389/fimmu.2020.01668.
21. Rahat MA, Safieh M, Simanovich E, Pasand E, Gazitt T, Haddad A, Elias M, Zisman D. The role of EMMPRIN/CD147 in regulating angiogenesis in patients with psoriatic arthritis // Arthritis Res Ther. 2020;22(1):240. Doi: 10.1186/s13075-020-02333-6.
22. Belasco J, Wei N. Psoriatic Arthritis: What is happening at the joint // Rheumatol Ther. 2019; 6(3):305–315. Doi: 10.1007/s40744-019-0159-1.
23. Che N, Li Y, Liu S, Pan W, Liu Y. Investigation on association between five common polymorphisms in vascular endothelial growth factor and prototypes of autoimmune diseases // Immunobiology. 2015;220(6):722–33. Doi: 10.1016/j.imbio.2015.01.001.
24. Atzeni F, Turiel M, Boccassini L, Sitia S, Tomasoni L, Battellino M, Marchesoni A, Colonna VDG, Sarzi-Puttini P. Cardiovascular involvement in psoriatic arthritis // Reumatismo. 2011;63 (3):148–154.
25. Chimenti MS, Conigliaro P, Biancone L, Perricone R. Update on the therapeutic management of patients with either psoriatic arthritis or ulcerative colitis: focus on the JAK in-

hibitor tofacitinib // *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2021;(13). Doi: 10.1177/1759720X20977777.

26. Bressan AL, Pereira D, Medeiros PM, Carneiro S, Azulay-Abulafia L. How relevant are vascular endothelial growth factor and intercellular adhesion molecule in the systemic capillary leak syndrome of psoriasis // *An Bras Dermatol.* 2017;92(6):826–829. Doi: 10.1590/abd1806-4841.20175994.

27. Angel K, Provan SA, Fagerhol MK, Mowinckel P, Kvien TK, Atar D. Effect of 1-year anti-TNF- $\alpha$  therapy on aortic stiffness, carotid atherosclerosis, and calprotectin in inflammatory arthropathies: a controlled study // *Am J Hypertens.* 2012;25(6):644–50. Doi: 10.1038/ajh.2012.

28. Tam L-S, Li EK, Shang Q, Tomlinson B, Li M, Leung Y-Y, Kuan WP, Kwok L-W, Li TK, Zhu Y, Kun EW, Yip G, Yu C-M. Tumour necrosis factor alpha blockade is associated with sustained regression of carotid intima-media thickness for patients with active psoriatic arthritis: a 2-year pilot study // *Ann Rheum Dis.* 2011;70(4):705–706. Doi: 10.1136/ard.2010.131359.

29. Woo YuR, Park CJ, Kang H, Kim JE. The risk of systemic diseases in those with psoriasis and psoriatic arthritis: from mechanisms to clinic. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020;(21):1–28.

30. Динамика показателей толщины комплекса интима-медиа, жесткости сосудистой стенки, суточного мониторирования артериального давления у больных ранним псориатическим артритом в результате терапии ингибитором фактора некроза опухоли-альфа / Е. И. Маркелова, Д. С. Новикова, Т. В. Коротаева, Е. Ю. Логинова // *Рациональная фармакотерапия в Кардиологии.* – 2018. – Т. 14, № 5. – С. 711–715. [Markelova EI, Novikova DS, Korotaeva TV, Loginova EYU. Dinamika pokazatelej tolshchiny kompleksa intima-media, zhestkosti sosudistoj stenki, sutochnogo monitorirovaniya arterial'nogo davleniya u bol'nykh rannim psoriaticheskim artritom v rezul'tate terapii ingibitorom faktora nekroza opukholi-al'fa. *Racional'naya Farmakoterapiya v Kardiologii.* 2018;14(5):711–715. (In Russ.)].

31. Garcia JP, Utomo L, Rudnik-Jansen I, Du J, Zuithoff NPA, Krouwels A, GJVM van Osch, Creemers LB. Association

between oncostatin M expression and inflammatory phenotype in experimental arthritis models and osteoarthritis patients // *Cells.* 2021;10(3):508. Doi: 10.3390/cells10030508.

32. Masjedi A, Hajizadeh F, Dargani FB, Beyzai B, Aksoun M, Hojjat-Farsangi M, Zekiy A, Jadidi-Niaragh F. Oncostatin M. A mysterious cytokine in cancers // *Int Immunopharmacol.* 2021;(90):107158. Doi: 10.1016/j.intimp.2020.107158.

33. Шишкин А. Н., Николаева А. А., Смирнова И. О. Псориатический артрит: современное состояние проблемы // *Вестн. Санкт-Петербург. ун-та. Медицина.* – 2020. – Т. 14, № 3. – С. 194–203. [Shishkin AN, Nikolaeva AA, Smirnova IO. Psoriaticheskij artrit: sovremennoe sostoyanie problema // *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Medicina.* 2020;14(3):194–203. (In Russ.)].

34. Batorycka-Baran A, Paprocka M, Baran W, Szepietowski JC. Decreased number of circulating endothelial progenitor cells (CD133+/KDR+) in patients with psoriatic arthritis // *Acta Derm Venereol.* 2016;96(6):754–757. Doi: 10.2340/00015555-2353.

35. Patschan D, Sugiarto N, Henze E, Mößner R, Mohr J, Müller AG, Patschan S. Early endothelial progenitor cells and vascular stiffness in psoriasis and psoriatic arthritis // *Eur J Med Res.* 2018;(23):1–10. Doi: 10.1186/s40001-018-0352-7.

### Информация об авторах

**Шишкин Александр Николаевич** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой факультетской терапии медицинского факультета, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: alexshishkin@bk.ru.

**Николаева Алина Александровна** – аспирант кафедры факультетской терапии медицинского факультета, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: alina327k@rambler.ru.

### Authors information

**Shishkin Aleksandr N.** – MD, Professor, Head of Department of Faculty Therapy, Medical Faculty, Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: alexshishkin@bk.ru.

**Nikolaeva Alina A.** – Postgraduate Student, Department of Faculty Therapy, Medical Faculty, Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: alina327k@rambler.ru.

УДК 616.12-009.72:616.12-005.4-039.35-02  
DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-18-27

Т. П. ПРОНЬКО, В. А. СНЕЖИЦКИЙ, О. В. ГОРЧАКОВА,  
М. Л. ГЛАДКИЙ, А. В. КОПЫЦКИЙ

## Клинические и генетические факторы, ассоциированные с риском повторных ишемических событий у пациентов со стабильной стенокардией напряжения

Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно, Республика Беларусь  
230009, Республика Беларусь, г. Гродно, ул. Горького, д. 80  
E-mail: tanya\_pronko@mail.ru

Статья поступила в редакцию 11.03.21 г.; принята к печати 16.07.21 г.

### Резюме

**Цель** – оценка клинических и генетических факторов, ассоциированных с риском развития повторных ишемических событий у пациентов со стабильной стенокардией напряжения (ССН). **Материалы и методы.** Обследованы 100 пациентов со ССН, за которыми проводилось динамическое наблюдение  $15,3 \pm 8,3$  месяца. Пациенты разделены на подгруппы (ПГ): ПГ1 (n=51) – лица без событий; ПГ2 (n=49) – лица с повторными ишемическими событиями (госпитализация из-за развития болевого синдрома, повторное стентирование из-за рестеноза стента, инфаркт миокарда (ИМ), инфаркт головного мозга и смерть от сердечно-сосудистых причин); ПГВ (n=11) – лица с «большими» повторными ишемическими событиями (повторное стентирование из-за рестеноза стента, инфаркт миокарда, инфаркт головного мозга и смерть от сердечно-сосудистых причин); ПГГ (n=89) – лица без «больших» событий. Полученные данные обследований (общеклинических, агрегометрии, полиморфизма генов тромбоцитарного рецептора фибриногена ITGB3 (T1565C), тромбоцитарного рецептора коллагена ITGA2 (C807T), АДФ-рецептора тромбоцитов P2RY12, H1/H2 (T744C)) проанализированы с использованием программы «STATISTICA 10.0». **Результаты.** В ПГ2 преобладали мужчины ( $\chi^2=9,2$ ;  $p<0,01$ ), чаще встречался перенесенный ранее ИМ ( $\chi^2=4,8$ ;  $p<0,05$ ), было имплантировано большее число стентов ( $2,4 \pm 1,9$  против  $1,7 \pm 1,1$ ,  $p<0,05$ ), были выше значения TRAP-test ( $p<0,05$ ) по сравнению с ПГ1. В ПГВ было имплантировано большее число стентов ( $3,1 \pm 2,2$  против  $1,61 \pm 1,57$ ,  $p<0,05$ ), чаще встречалось носительство генотипа TC гена ITGB3, ( $p<0,05$ ), чаще встречалась комбинация мутаций генов ITGB3 и P2RY12 ( $p<0,05$ ) по сравнению с ПГГ. Построено уравнение логистической регрессии, включающее в себя наличие сахарного диабета, число тромбоцитов в общем анализе крови, значения ASPI-test, носительство аллеля 1565C гена ITGB3, число имплантированных стентов, позволяющее определить вероятность развития «больших» повторных ишемических событий с порогом отсечения по линейному предиктору  $LP_0=0,0965$ , с чувствительностью 81,82 %, специфичностью 78,48 %, общей точностью 78,89 %. **Выводы.** Факторами, ассоциированными с развитием повторных ишемических событий, являются мужской пол, перенесенный ранее ИМ, большее число имплантированных стентов, высокие значения TRAP-test. Факторами, ассоциированными с развитием повторных «больших» ишемических событий, являются большее число имплантированных стентов, носительство генотипа TC гена ITGB3, носительство комбинации мутаций полиморфного локуса H1/H2 гена P2RY12 и полиморфного локуса T1565C гена ITGB3, наличие сахарного диабета, число тромбоцитов в общем анализе крови, значения ASPI-test.

**Ключевые слова:** стабильная стенокардия, прогноз, агрегация тромбоцитов, полиморфизм генов

**Для цитирования:** Пронько Т. П., Снежицкий В. А., Горчакова О. В., Гладкий М. Л., Копыцкий А. В. Клинические и генетические факторы, ассоциированные с риском повторных ишемических событий у пациентов со стабильной стенокардией напряжения. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021;20(3):18–27. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-18-27.

UDC 616.12-009.72:616.12-005.4-039.35-02  
DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-18-27

T. P. PRONKO, V. A. SNEZHITSKY, O. V. GORCHAKOVA,  
M. L. GLADKY, A. V. KOPYTSKI

## Clinical and genetic factors associated with the risk of recurrent ischemic events in patients with stable stenocardia

Educational Institution «Grodno State Medical University», Grodno, Republic of Belarus  
80, street Gorky, 80, Grodno, Republic of Belarus, 230009  
e-mail: tanya\_pronko@mail.ru

Received 11.03.21; accepted 16.07.21

### Summary

**The aim** of the study was to assess the clinical and genetic factors associated with the risk of recurrent ischemic events in patients with stable stenocardia (SS). **Materials and methods.** A total of 100 patients with SS were examined and followed-up

for 15.3±8.3 months. The patients were divided into subgroups (SG): SG1 (n=51) – persons without events, SG2 (n=49) persons with recurrent ischemic events (hospitalization due to the development of pain syndrome, re-stenting due to stent restenosis, myocardial infarction, cerebral infarction and death from cardiovascular causes), SGB (n=11) – persons with «major» recurrent ischemic events (re-stenting due to stent restenosis, myocardial infarction, cerebral infarction and death from cardiovascular causes), SGG (n=89) – persons without «major» events. The obtained survey data (general clinical, aggregometry, polymorphism of genes of platelet fibrinogen receptor ITGB3 (T1565C), platelet collagen receptor ITGA2 (C807T), ADP platelet receptor P2RY12, H1/H2 (T744C)) were analyzed using the STATISTICA 10.0 software. *Results.* In SG2, men predominated ( $\chi^2=9.2$ ;  $p<0.01$ ), past MI was more common ( $\chi^2=4.8$ ;  $p<0.05$ ), more stents were implanted (2.4±1.9 versus 1.7±1.1,  $p<0.05$ ), TRAP-test values were higher ( $p<0.05$ ) compared to SG1. In SGB, greater number of stents were implanted (3.1±2.2 versus 1.61±1.57,  $p<0.05$ ), the carriage of the TC genotype of the ITGB3 gene was more common, ( $p<0.05$ ), a combination of gene mutations ITGB3 and P2RY12 was more common, ( $p<0.05$ ) compared to SGG. A logistic regression equation was constructed, including the presence of diabetes mellitus, the number of platelets in the blood test, the ASPI-test values, the carriage of the 1565C allele of the ITGB3 gene, the number of stents implanted, which makes it possible to determine the likelihood of developing «major» recurrent ischemic events with a cut-off threshold  $LP_0=0.0965$ , with sensitivity – 81.82 %, specificity – 78.48 %, overall accuracy – 78.89 %. *Conclusions.* The factors associated with the development of recurrent ischemic events are: male sex, previous MI, a greater number of implanted stents, and high TRAP-test values. The factors associated with the development of recurrent «major» ischemic events are: a greater number of implanted stents, carriage of the TC genotype of the ITGB3 gene, carriage of a combination of mutations of the H1/H2 polymorphic locus of the P2RY12 gene and the T1565C polymorphic locus of the ITGB3 gene, diabetes mellitus, the number of platelets in blood test, ASPI-test values.

**Keywords:** stable stenocardia, prognosis, platelet aggregation, gene polymorphism

**For citation:** Pronko T. P., Snezhitsky V. A., Gorchakova O. V., Gladky M. L., Kapyski A. V. Clinical and genetic factors associated with the risk of recurrent ischemic events in patients with stable stenocardia. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2021;20(3):18–27. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-18-27.

## Введение

Течение атеросклеротического процесса характеризуется фазами стабильности и нестабильности, внезапным изменением клинической картины. Классические факторы риска атеросклероза (мужской пол, недостаточная физическая активность, курение, злоупотребление алкоголем, семейная история коронарного атеросклероза, сахарный диабет, гиперлипидемия, артериальная гипертензия), а также предшествующее проявление ишемической болезни сердца (ИБС), сочетание с выраженностью ишемии, вазоспазма и микроваскулярной дисфункции, наличие коморбидных заболеваний отягощают прогноз хронической ИБС в отношении развития повторных ишемических событий [1].

Тромбоциты также играют значительную роль в инициации и развитии атеросклеротического повреждения и во многих случаях являются важнейшим патогенетическим механизмом кардиальных осложнений [2]. Двойная антиагрегантная терапия (ДАТТ) ацетилсалициловой кислотой (АСК) и блокатором рецепторов аденозиндифосфата (АДФ) P2RY12 тромбоцитов – Клопидогрелем – является основополагающей для снижения риска развития сердечно-сосудистых событий у пациентов после чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ). При этом фармакологический ответ на АСК и Клопидогрель отличается значительной вариабельностью (5–48 % и 20–30 % соответственно), что ассоциировано с высоким риском развития повторных ишемических событий [3, 4]. Вариабельность действия АСК и Клопидогреля многогранна и обусловлена сочетанием биологических, клинических, генетических и фармакологических факторов, оказывающих влияние на функциональную активность тромбоцитов [5, 6].

Основными рецепторами тромбоцита, участвующими в активации клетки и формировании тромба, являются АДФ-рецепторы, рецепторы к коллагену, рецепторы к фибриногену. Согласно литературным

данным, олигонуклетидный полиморфизм C807T гена тромбоцитарного рецептора коллагена (ITGA2), T1565C гена тромбоцитарного рецептора фибриногена (ITGB3), аллельные варианты H1/H2-генотипа АДФ-рецептора тромбоцитов (P2RY12) могут быть связаны с повышенным риском развития инфаркта миокарда, ишемического инсульта, послеоперационных тромбозов [7].

**Цель** исследования – оценка клинических и генетических факторов, ассоциированных с риском развития повторных ишемических событий у пациентов со стабильной стенокардией напряжения (ССН).

## Материалы и методы исследования

В исследование включены 100 пациентов со ССН, функциональный класс I–III, от 40 до 72 лет, прошедших обследование и лечение на базе Гродненского областного клинического кардиологического центра и реабилитацию на базе Гродненской областной клинической больницы медицинской реабилитации.

Критерии включения: наличие ССН, прием ДАТТ, информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения из исследования: наличие острого инфаркта миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, тромбоэмболия легочной артерии, тромбофлебит нижних конечностей, наличие фибрилляции/трепетания предсердий, хроническая сердечная недостаточность IIIБ и выше (III функциональный класс (ФК) по NYHA), наличие сопутствующих острых воспалительных и онкологических заболеваний, активное внутреннее кровотечение, анемии различного генеза, число тромбоцитов менее 180 тыс./мкл, выраженная почечная и печеночная недостаточность, отказ от участия в исследовании.

Процедуре планового ЧКВ с постановкой стентов подвергались 89 пациентов, 11 пациентам проводилась коронарография без постановки стентов.

У 60 (67,4 %) пациентов стенты были с лекарственным покрытием, у 29 (32,6 %) – без лекарственного покрытия. Все пациенты принимали бета-блокаторы (Бисопролол 5–10 мг или Метопролол 50–100 мг), ингибиторы АПФ (Лизиноприл 5–20 мг или Рамиприл 5–10 мг), статины (Аторвастатин 10–20 мг или Розувастатин 5–20 мг), Молсидомин при болях за грудиной, АСК 75 мг, Клопидогрель 75 мг. Часть пациентов (70 человек) получали лансопризол 30 мг.

За пациентами со ССН проводилось динамическое наблюдение (длительность –  $15,3 \pm 8,3$  месяца). Оценивалось развитие повторных ишемических событий (госпитализация из-за развития болевого синдрома, повторное стентирование из-за рестеноза стента, инфаркт миокарда (ИМ), инфаркт головного мозга и смерть от сердечно-сосудистых причин). После сбора сведений у пациентов и анализа их медицинской документации мы разделили испытуемых на две подгруппы (ПГ): ПГ1 (n=51) составили лица, у которых не было повторных ишемических событий; подгруппу ПГ2 (n=49) – лица, у которых за период наблюдения произошло одно из нижеперечисленных повторных ишемических событий: 38 пациентам потребовалась госпитализация в связи с развившимся болевым синдромом, 5 – повторное стентирование в связи с рестенозом стента, у 3 развился инфаркт миокарда (ИМ), у 2 пациентов развился ишемический инфаркт головного мозга, 1 пациент умер.

Также пациенты были поделены на подгруппы в зависимости от наличия «больших» повторных сердечно-сосудистых событий (повторное стентирование из-за рестеноза стента, инфаркт миокарда, инфаркт головного мозга и смерть от сердечно-сосудистых причин). Подгруппа G (ПГГ) – пациенты без повторных «больших» СС-событий (n=89) и подгруппа B (ПГВ) – пациенты с наличием повторных «больших» СС-событий (n=11).

Все исследования проводили через 14 дней после проведения ЧКВ и коронарографии.

По стандартной методике выполняли сбор анамнестических данных, физикальное обследование, ЭКГ, эхокардиографию, коронароангиографию для всех пациентов, включенных в исследование.

Общий анализ крови и исследование морфометрических показателей тромбоцитов (MPV (Mean Platelet Volume) – средний объем тромбоцита, PDW (Platelet Distribution Width) – ширина распределения тромбоцитов по их объему, PCT (Platelet Crit) – тромбокрит, величина, отражающая процент объема тромбоцитов), P-LCR (Large Platelet Ratio) – процент объема больших тромбоцитов (размером более 30 фл) к общему объему тромбоцитов) проводили цитоточным методом на автоматическом гемоанализаторе Sysmex XS-500i, Япония.

Оценку агрегации тромбоцитов проводили при помощи мультиэлектродной агрегометрии на импедансном 5-канальном агрегометре Multiplate (*Verum Diagnostica GmbH*, Германия) с несколькими индукторами агрегации. Аденозин-5'-дифосфат (АДФ) (ADP-test) – для выявления чувствительности к Клопидогрелю, арахидоновая кислота (ASPI-test) – для выявления чувствительности к АСК, пептид

активатор тромбин-рецепторов (Трап-6) – для отражения потенциальной способности тромбоцитов к агрегации. Показателем, наиболее полно отражающим тромбоцитарную активность, является площадь под агрегационной кривой (area under curve, AUC), представленная в виде единиц (unit, U). Высокая остаточная реактивность тромбоцитов (ВОРТ) при приеме АСК определялась по данным ASPI-test при значении AUC выше 30 U, ВОРТ при приеме Клопидогрела определялась по данным ADP-test при значении AUC выше 50 U [8].

У 92 человек провели генетическое исследование. Экстракцию геномной ДНК из цельной крови проводили набором реагентов «ДНК-ЭКСТРАН-1», ООО «Синтол» (Россия). Молекулярно-биологическое исследование генотипов полиморфных локусов гена тромбоцитарного рецептора фибриногена ITGB3 (Leu33Pro) (T1565C) rs5918, гена тромбоцитарного рецептора коллагена ITGA2 (C807T) rs1126643 проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с применением реагентов ООО «Синтол» (Россия) на амплификаторе Rotor Geene, Qiagen, Германия. Определение аллельных вариантов генотипа АДФ рецептора тромбоцитов P2RY12, H1/H2 (T744C) rs2046934 проводили методом ПЦР с электрофоретической детекцией в камере транслюминатора GelDoc™ XR+ BioRad (США) и использованием комплекта реагентов ООО НПФ «Литех» (Россия). ПЦР выполнена на амплификаторе-термоциклере AppliedBiosystems 2720 Thermal-Cycler (США).

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета программ «Statistica 10.0»; для регрессионного и ROC-анализа использовали язык программирования R с пакетом расширения «ROCR». Проверку на нормальность распределения проводили с помощью теста Колмогорова – Смирнова и критерия Лиллиефорса (при  $p \leq 0,05$  распределение признака считали отличающимся от нормального). Полученные результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ) при нормальном распределении, в виде медианы и нижнего и верхнего квартилей ( $Me [LQ; UQ]$ ) при распределении, отличающемся от нормального. Две независимые группы сравнивали с помощью U-критерия Манна – Уитни. При сравнении долей (процентов) использовали критерий  $\chi^2$  либо Difference tests. Оценка влияния совокупности предикторов на бинарную зависимую переменную проводилась с помощью модели логистической регрессии. В силу ограниченности объема выборки и большого числа предикторов выбор оптимальной модели проводили методом прямого перебора моделей [9]. Уровень статистической значимости был принят  $p \leq 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Клиническая характеристика обследуемых лиц приведена в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, среди пациентов ПГ2 с наличием повторных ишемических событий преобладали мужчины ( $\chi^2=9,2$ ;  $p < 0,01$ ), чаще встречался перенесенный ранее ИМ ( $\chi^2=4,8$ ;  $p < 0,05$ ), им было

Таблица 1

## Клиническая характеристика обследуемых лиц

Table 1

## Clinical characteristics of subjects

Показатель	Группа ССН, n=100	ПГ1, n=51	ПГ2, n=49	ПГ G, n=89	ПГ B, n=11
Возраст, лет	59,4±6,8	59,9±6,9	58,7±6,6	59,3±7,1	58,6±4,2
Мужчины/женщины, n (%)	78 (78,0)/ 22 (22,0)	33 (64,7)/ 18 (35,3)	45 (91,8)/ 4 (8,2)**	68 (76,4)/ 21 (23,6)	10 (90,9)/ 1 (9,1)
Продолжительность ИБС, лет	3,0 [1,0; 6,5]	2,0 [0,55; 4,5]	5,0 [1,0; 9,5]	3,0 [1,0; 6,0]	4,0 [1,0; 11,5]
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	49 (48,0)	19 (37,3)	30 (61,2)*	47 (52,8)	2 (18,2)
Артериальная гипертензия, n (%)/ продолжительность, лет	99 (99,0)/ 10 [5,0; 19,0]	51 (100)/ 10,0 [3,0; 20,0]	48 (97,9)/ 10,0 [5,0; 15,0]	88 (98,9)/ 10,0 [5,0; 16,5]	11 (100)/ 10,0 [6,0; 19,0]
Сахарный диабет II типа, n (%)	15 (15,0)	4 (7,8)	11 (22,4)	12 (13,5)	3 (27,3)
Курение, n (%)	45 (45,0)	20 (39,2)	25 (51,0)	38 (42,7)	7 (63,6)
Продолжительность курения, лет	30,4±12,2	31,7±12,3	29,9±11,9	31,23±11,95	25,0±10,0
Число сигарет в сутки	21,3±12,2	19,2±7,4	22,1±14,8	21,2±11,8	21,83±15,8
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	30,4±4,7	30,1±4,4	30,7±4,9	30,3±4,6	31,1±5,8
Окружность талии, см	103,0±11,9	102,2±11,5	104,1±12,1	103,0±11,26	103,1±16,7
Лица с ожирением, n (%)	52 (52,0)	26 (50,9)	26 (53,1)	46 (51,7)	6 (54,5)
Глюкоза, ммоль/л	5,6 [5,0; 6,5]	5,5 [5,0; 6,9]	5,7 [5,1; 6,5]	5,6 [5,1; 6,5]	5,6 [4,8; 7,0]
Общий холестерин, ммоль/л	4,6 [4,0; 5,8]	4,6 [3,9; 5,9]	4,6 [3,9; 5,6]	4,6 [3,9; 5,9]	4,5 [4,1; 5,3]
Креатинин, мкмоль/л	92,0 [81,0; 102,0]	91,0 [80,0; 105,0]	93,0 [84,0; 104,0]	91 [81,0; 105]	95,0 [85,5; 105,5]
Скорость клубочковой фильтра- ции (СКД-ЕП), мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	73,5 [63,0; 85,5]	71,5 [61,0; 83,5]	74,0 [65,5; 85,0]	74,0 [62,5; 85,0]	72,0 [68,5; 83,5]
Число имплантированных стендов, шт.	2,1±1,7	1,7±1,1	2,4±1,9*	1,61±1,57	3,1±2,2#

Примечание: достоверные отличия между ПГ1 и ПГ2 \* – p<0,05; \*\* – p<0,01; # – достоверные отличия между ПГ G и ПГ B, p<0,05.

Таблица 2

## Показатели агрегометрии в исследуемых подгруппах лиц со стабильной стенокардией напряжения

Table 2

## Aggregometry indices in the studied subgroups of persons with stable stenocardia

Показатель	ССН, n=100	ПГ1, n=51	ПГ2, n=49	ПГ G, n=89	ПГ B, n=11
ASPI-test, U	23,0 [14,0; 37,5]	22,5 [13,5; 35,5]	23,0 [15,5; 38,0]	23,0 [14,0; 36,5]	26,0 [20,0; 48,5]
ADP-test, U	40,5 [25,5; 52,5]	37,0 [23,5; 51,0]	40,0 [25,5; 57,0]	39,0 [25,0; 52,0]	35,0 [25,0; 50,5]
TRAP-test, U	90,0 [78,0; 108,5]	83,0 [73,0; 103,5]	98,0 [78,5; 113,0]*	90,0 [78,0; 110,0]	94,0 [73,5; 113,5]

Примечание: \* – достоверные отличия между ПГ1 и ПГ2, p<0,05.

имплантировано большее число стентов. В подгруппе с наличием повторных «больших» СС-событий также было имплантировано большее число стентов (p<0,05).

В табл. 2 приведены показатели агрегометрии у пациентов со ССН и в подгруппах с разным прогнозом.

Как видно из данных табл. 2, у лиц с наличием повторных ишемических событий значения TRAP-test были выше, по сравнению с лицами ПГ1, тогда

как значения ASPI-test и ADP-test в ПГ1 и ПГ2 были сопоставимы. В ПГ1 высокая остаточная реактивность тромбоцитов (ВОРТ) по ASPI-test (сниженная чувствительность к АСК) выявлена у 16 (31,4 %) человек, а в ПГ2 – у 19 (38,8 %) человек. ВОРТ по ADP-test (сниженная чувствительность к Клопидогрелю) выявлена у 12 (23,5 %) человек ПГ1 и у 13 (26,5 %) человек ПГ2. Сниженная чувствительность к обоим препаратам выявлена у 7 (13,7 %) человек ПГ1 и у 8 (16,3 %) человек ПГ2.

## Данные общего анализа крови и морфометрических показателей тромбоцитов в исследуемых подгруппах

Table 3

## Blood test data and morphometric parameters of platelets in the studied subgroups

Показатель	ССН, n=100	ПГ1, n=51	ПГ2, n=49	ПГ G, n=89	ПГ В, n=11
WBC·10 <sup>9</sup> /л	7,6 [6,1; 8,8]	7,6 [6,0; 9,3]	7,5 [6,2; 8,7]	7,5 [5,9; 8,9]	7,7 [6,7; 8,7]
RBC·10 <sup>12</sup> /л	4,8 [4,5; 5,1]	4,8 [4,5; 5,1]	4,8 [4,4; 5,2]	4,8 [4,5; 5,2]	4,6 [4,3; 5,0]
Hb, г/л	147,0 [137,0; 157,5]	146,0 [136,5; 158,0]	147,0 [137,5; 157,5]	146,5 [136,5; 157,5]	147,5 [142,5; 155,5]
PLT·10 <sup>9</sup> /л	224,0 [185,5; 254,0]	226,0 [190,5; 254,5]	222,0 [184,0; 245,0]	226,0 [190,0; 254,0]	198,0 [180,5; 253,5]
MPV, фл	9,3 [8,1; 10,6]	9,8 [8,3; 10,9]	10,1 [8,6; 10,9]	9,3 [8,1; 10,6]	9,2 [8,2; 11,1]
PDW, %	12,7 [11,7; 14,1]	12,9 [11,8; 14,1]	12,5 [11,7; 14,1]	12,8 [11,9; 14,25]	12,2 [10,8; 13,5]
PCT, %	0,20 [0,16; 0,25]	0,22 [0,17; 0,26]	0,19 [0,15; 0,25]	0,2 [0,17; 0,25]	0,2 [0,16; 0,31]
P-LCR, %	29,7 [25,3; 34,5]	29,7 [25,1; 34,4]	29,9 [25,6; 34,8]	29,7 [25,3; 35,0]	32,3 [25,7; 36,4]
СОЭ, мм/ч	12,0 [7,0; 20,0]	11,0 [7,0; 20,5]	12,0 [7,0; 18,0]	11,0 [7,0; 20,0]	14,0 [7,0; 18,0]

Таблица 4

## Распределение частот аллелей и генотипов полиморфных локусов С807Т гена ITGA2, Н1/Н2 гена P2RY12, Т1565С гена ITGB3 у обследуемых лиц

Table 4

## Distribution of frequencies of alleles and genotypes of polymorphic loci С807Т of the ITGA2 gene, Н1/Н2 of the P2RY12 gene, and Т1565С of the ITGB3 gene in the subjects

Генотипы/аллели	ССН, n=92	ПГ1, n=45	ПГ2, n=47	ПГ G, n=81	ПГ В, n=11	
<i>Полиморфный локус С807Т гена ITGA2, rs1126643</i>						
Генотипы	СС	28 (30,4 %)	14 (31,1 %)	14 (29,8 %)	25 (30,9 %)	3 (27,3 %)
	СТ	46 (50,0 %)	21 (46,7 %)	25 (53,2 %)	41 (50,6 %)	5 (45,4 %)
	ТТ	18 (19,6 %)	10 (22,2 %)	8 (17,0 %)	15 (18,5 %)	3 (27,3 %)
Аллели	С	55,4 %	54,4 %	56,4 %	56,2 %	50,0 %
	Т	44,6 %	45,6 %	43,6 %	43,8 %	50,0 %
<i>Полиморфный локус Н1/Н2 гена P2RY12, rs2046934</i>						
Генотипы	Н1/Н1	55 (59,8 %)	24 (53,3 %)	31 (65,9 %)	48 (59,3 %)	7 (63,6 %)
	Н1/Н2	31 (33,7 %)	18 (40,0 %)	13 (27,7 %)	28 (34,6 %)	3 (27,3 %)
	Н2/Н2	6 (6,5 %)	3 (6,7 %)	3 (6,4 %)	5 (6,1 %)	1 (9,1 %)
Аллели	Н1	76,6 %	73,3 %	79,8 %	76,5 %	77,3 %
	Н2	23,4 %	26,7 %	20,2 %	23,5 %	22,7 %
<i>Полиморфный локус Т1565С гена ITGB3, rs5918</i>						
Генотипы	ТТ	63 (68,5 %)	32 (71,1 %)	31 (66,0 %)	58 (65,1 %)	5 (45,5 %)
	ТС	26 (28,2 %)	12 (26,7 %)	14 (29,8 %)	20 (22,5 %)	6 (54,5 %)#
	СС	3 (3,3 %)	1 (2,2 %)	2 (4,2 %)	3 (3,4 %)	–
Аллели	Т	82,6 %	84,4 %	80,9 %	83,9 %	72,7 %
	С	17,4 %	15,6 %	19,1 %	16,1 %	27,3 %

Примечание: # – достоверные отличия между ПГ G и ПГ В,  $p < 0,05$ .

В подгруппе с «большими» СС-событиями (ПГ В) показатели агрегатограммы достоверно не отличались, что может быть объяснено небольшой выборкой пациентов из ПГ В.

В табл. 3 приведены данные общего анализа крови и тромбоцитарные индексы у пациентов со ССН и в подгруппах с разным прогнозом.

Как видно из данных табл. 3, различия ни по количеству форменных элементов крови, ни по харак-

теристикам тромбоцитов в исследуемых подгруппах не найдено.

Распределение частот генотипов генов ITGA2, P2RY12, ITGB3 у пациентов со ССН соответствовали ожидаемому равновесию Харди – Вайнберга ( $\chi^2 = 0,013$ ,  $p = 0,91$ ;  $\chi^2 = 0,32$ ,  $p = 0,57$ ;  $\chi^2 = 0,025$ ,  $p = 0,87$  соответственно).

В табл. 4 показано распределение частоты генотипов и аллелей у исследуемых лиц.

## Частота нескольких мутаций одновременно у одного человека в подгруппах с разным прогнозом

Table 5

## The frequency of several mutations simultaneously in one person in subgroups with different prognosis

Число мутаций и их комбинации	ПГ1, n=45	ПГ2, n=47	ПГ G, n=81	ПГ B, n=11
0	4 (8,9 %)	6 (12,8 %)	10 (12,3 %)	–
1	20 (44,4 %)	23 (48,9 %)	37 (45,7 %)	6 (54,5 %)
2 – <i>ITGA2+ITGB3</i>	5 (11,1 %)	8 (17,0 %)	11 (13,6 %)	2 (18,2 %)
2 – <i>ITGA2+ P2RY12</i>	10 (22,2 %)	5 (10,6 %)	15 (18,5 %)	–
2 – <i>ITGB3+ P2RY12</i>	2 (4,5 %)	2 (4,3 %)	2 (2,5 %)	2 (18,2 %) #
3	4 (8,9 %)	3 (6,4 %)	6 (7,4 %)	1 (9,1 %)

Примечание: # – достоверные отличия между ПГ G и ПГ B,  $p < 0,05$ .

Таблица 6

## Оценки коэффициентов регрессионной модели и отношения шансов для предикторов в модели

Table 6

## Estimates of regression model coefficients and odds ratios for predictors in the model

Предиктор	Оценка коэффициента	p	ОШ	95 % ДИ для ОШ
Свободный член	-0,0477	0,9483	–	–
Наличие сахарного диабета ( $v_1=1$ )	1,6057	0,001	4,9814	1,9926–13,5924
Количество тромбоцитов в общем анализе крови ( $v_2$ )	-0,0098	0,0031	0,9902	0,9835–0,9964
ASPI-test ( $v_3$ )	0,0210	0,0120	1,0212	1,0053–1,0391
Носительство аллеля 1565C гена <i>ITGB3</i> ( $v_4=1$ )	1,2267	0,0029	3,410	1,5512–7,8594
Число имплантированных стентов, шт. ( $v_5$ )	0,3933	0,0001	1,4819	1,2367–1,8202

Примечание: «ОШ» – отношение шансов для предиктора, «95 % ДИ для ОШ» – 95 %-й доверительный интервал для соответствующего отношения шансов.

Как видно из данных табл. 4, пациенты ПГ1 и ПГ2 не различались по распределению частот аллелей и генотипов полиморфных локусов С807Г гена *ITGA2*, Н1/Н2 гена *P2RY12*, Т1565С гена *ITGB3*. Однако отмечена большая частота гетерозиготного варианта полиморфного локуса Т1565С гена *ITGB3* в подгруппе с «большими» СС-событиями ПГ В ( $p < 0,05$ ).

Как видно из данных табл. 5, у пациентов из подгруппы с «большими» СС-событиями не было пациентов без мутаций, более часто встречалась комбинация мутаций генов *ITGB3* и *P2RY12* ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, в подгруппе с повторными ишемическими событиями преобладали мужчины, чаще встречался перенесенный ранее ИМ, им было имплантировано большее число стентов, и показатель исходной агрегационной способности тромбоцитов (TRAP-test) был выше. В подгруппе с наличием «больших» СС-событий (ПГ В) было имплантировано большее число стентов, чаще встречалось носительство генотипа ТС гена *ITGB3*, чаще встречалось носительство комбинации мутаций полиморфного локуса Н1/Н2 гена *P2RY12* и полиморфного локуса Т1565С гена *ITGB3*. Некоторые показатели имели тенденцию к различиям, но в силу малой выборки эти различия были недостоверны.

Учитывая вышеизложенное, мы решили построить статистическую модель, с помощью которой можно будет предсказать вероятность развития повторных «больших» СС-событий.

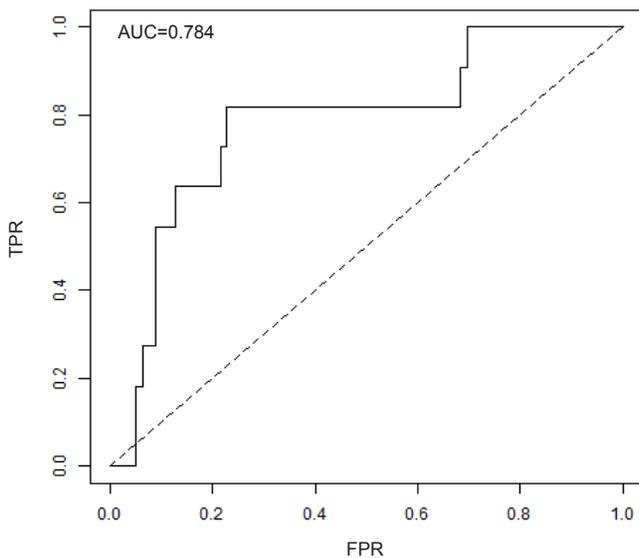
Пациенты, у которых не было зарегистрировано СС-событий в течение периода наблюдения, условно составили группу 0 («ПГ G»). Пациенты, у которых было зарегистрировано одно из «больших» СС-событий (повторное стентирование из-за рестеноза стента, инфаркт миокарда, инфаркт головного мозга и смерть от сердечно-сосудистых причин), условно составили группу 1 («ПГ В»). Для оценки риска попадания пациента в группу 1 было построено уравнение бинарной регрессии с логит-функцией связи на основании полных данных наблюдений за выборкой из 90 пациентов.

В табл. 6 приведены факторы, ассоциированные с развитием повторных «больших» СС-событий у пациентов со ССН, и оценки их коэффициентов в модели.

Как видно из данных табл. 6, оценки коэффициентов всех предикторов являются статистически значимыми ( $p < 0,05$ ).

Вероятность негативного исхода для данного пациента находится следующим образом:

$$P = 1 / (1 + \exp(-z)),$$



ROC-кривая модели: TPR – доля истинно положительных случаев; FPR – доля ложноположительных случаев; AUC – площадь под ROC-кривой

Model ROC-curve: TPR – True Positive Rate; FPR – False Positive Rate; AUC – Area Under ROC-curve

где  $z$  – линейный предиктор уравнения логистической регрессии, согласно табл. 6, имеющий вид:  $z = -0,0477 + 1,6057 \cdot v_1 - 0,0098 \cdot v_2 + 0,021 \cdot v_3 + 1,2267 \cdot v_4 + 0,3933 \times \exp v_5$ ;  $\exp$  – экспоненциальная функция.

Если полученная для конкретного пациента вероятность превышает пороговую вероятность (в нашем случае 0,5241), то пациента относят к группе 1, в противном случае – к группе 0. Для выбора пороговой вероятности использовали ROC-анализ, в ходе которого подбиралось такое ее значение, которое обеспечивало оптимальное сочетание чувствительности, специфичности и общей точности классификации. При указанной пороговой вероятности эти показатели составили: чувствительность – 81,82 %, специфичность – 78,48 %, общая точность – 78,89 %. Площадь под ROC-кривой составила AUC=0,784.

Приведем ROC-кривую модели (рисунок).

Согласно литературным данным [10, 11], к факторам, ассоциированным с высоким ишемическим риском относятся пожилой возраст, наличие острого коронарного синдрома, множественные предшествующие инфаркты миокарда, многососудистая ИБС, сахарный диабет, хроническая болезнь почек. В нашем исследовании одним из клинических факторов, ассоциированных с развитием повторных ишемических событий, было наличие перенесенного ранее ИМ.

При анализе данных по половому признаку в нашем исследовании получены результаты, указывающие на более благоприятное течение ИБС у женщин, что согласуется с работами других авторов [10, 12, 13].

Имеется множество работ, подчеркивающих влияние числа имплантированных стентов на развитие сердечно-сосудистых осложнений при плановом ЧКВ [10, 13–15]. В нашем исследовании большее число имплантированных стентов влияло как на развитие повторных ишемических событий, так и на развитие «больших» СС-событий.

Потенциально на частоту ишемических осложнений, помимо состояния коронарных артерий и

наличия классических факторов риска сердечно-сосудистых осложнений, могут влиять функциональная активность тромбоцитов и эффективность антиагрегационной терапии [11, 15]. В рутинной практике она может быть оценена по уровню ВОРТ. ВОРТ к АДФ у пациентов с ИБС, особенно с ее острыми формами, получающих тиенопиридины, принято рассматривать как фактор риска развития ишемических событий [4]. Однако для пациентов со стабильной ИБС, подвергнутых плановой ЧКВ, связь ВОРТ с тромботическими осложнениями в настоящее время менее доказана. Есть работы, в которых связь ВОРТ с негативным прогнозом не установлена [16]. Есть ряд работ, где показана связь повышенной функциональной активности тромбоцитов с негативным прогнозом [10, 14]. В нашем исследовании у лиц с наличием повторных ишемических событий значения TRAP-test были выше, по сравнению с лицами с благоприятным прогнозом. Более того, показатели агрегометрии (ASPI-test) и число тромбоцитов в общем анализе крови вошли в статистическую модель для предсказания вероятности развития повторных «больших» СС-событий.

Немаловажное влияние на эффективность ДАТТ и на прогноз может оказывать генетический полиморфизм. Ген *ITGA2* кодирует аминокислотную последовательность  $\alpha 2$ -субъединицы, входящей в состав интегрин  $\alpha 2\beta 1$  (гликопротеин GP Ia/IIa) трансмембранного рецептора коллагена. Аллель Т полиморфного маркера С807Т гена *ITGA2* ассоциирован с повышенной экспрессией GPIa-рецепторов тромбоцитов и повышенной адгезией тромбоцитов к коллагену [17]. Данные об ассоциации полиморфизма С807Т гена *ITGA2* с развитием ишемических сердечно-сосудистых событий в литературе противоречивы. Есть работы, которые показывают негативное влияние аллеля Т и генотипа ТТ гена *ITGA2* на развитие ранней ИБС [18], на возрастание в 3,85 раза риска повторных ишемических событий после острого коронарного синдрома у мужчин [19], на развитие ИМ в молодом возрасте [20]. Есть работы, демонстрирующие связь аллеля 807Т с риском развития ишемического инсульта [21], повторных коронарных событий после перенесенного острого коронарного синдрома [19, 22]. Есть ряд работ, в которых подобная связь аллеля Т с ишемическими сердечно-сосудистыми событиями не была обнаружена [23–25]. В нашей работе мы также не обнаружили связи аллеля 807Т с риском развития повторных ишемических событий у пациентов со ССН.

Ген тромбоцитарного рецептора фибриногена (ITGB3) кодирует бета-3-субъединицу интегрин-комплекса поверхностного рецептора тромбоцитов GPIIb/IIIa, известную также как гликопротеин-3a (GPIIIa). *ITGB3* участвует в межклеточной адгезии и сигнализации, обеспечивает взаимодействие тромбоцита с фибриногеном плазмы крови, что приводит к быстрой агрегации (склеиванию) тромбоцитов [25, 26]. Мутация, приводящая к замене лейцина на пролин в 33-м положении белка GPIIIa (замена Т на С в экзоне 2 гена *GPIIIa* в положении 1565) способствует повышенной склонности тромбоцитов к

агрегации, что увеличивает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний [25–27], ранних тромбозов стента [28]. Однако имеются работы, в которых не было обнаружено связи генотипов, аллелей гена *ITGB3* и ишемических сердечно-сосудистых событий как в группе мужчин, так и в группе женщин [19]. В нашей работе мы обнаружили ассоциацию носительства аллеля 1565С гена *ITGB3* и развития повторных «больших» сердечно-сосудистых событий, причем носительство аллеля 1565С вошло и в регрессионную модель.

Тромбоцитарные рецепторы АДФ – P2Y1 и P2Y12 – играют большую роль в функционировании, активации и необратимой агрегации тромбоцитов [29]. В гене *P2Y12* было выявлено четыре мутации, которые наследуются сцепленно и обуславливают формирование двух гаплотипов H1 (C139, T744, G52 и отсутствие вставки) и H2-гаплотип (139T, 744C, 52T, ins801A) [30]. Гаплотип H2 ассоциируется с гиперактивностью тромбоцитов и повышенным риском атеротромбоза [25, 29, 31], повышенным риском развития резистентности к Клопидогрелю и повторных коронарных событий после ЧКВ при остром коронарном синдроме [32]. В нашем исследовании носительство гаплотипа H2 не влияло на развитие повторных ишемических событий, однако носительство комбинации мутаций полиморфного локуса H1/H2 гена *P2Y12* и полиморфного локуса T1565C гена *ITGB3* ассоциировалось с развитием повторных «больших» сердечно-сосудистых событий у пациентов с ССН, что может быть объяснено влиянием данных мутаций на эффективность ДАТТ и развитие ВОРТ на фоне приема АСК и Клопидогреля.

### Заключение

Факторами, ассоциированными с развитием повторных ишемических событий у пациентов со ССН, являются мужской пол, перенесенный ранее ИМ, большее число имплантированных стентов, высокие значения TRAP-test.

Факторами, ассоциированными с развитием повторных «больших» сердечно-сосудистых событий, являются большее число имплантированных стентов, носительство генотипа TC гена *ITGB3*, носительство комбинации мутаций полиморфного локуса H1/H2 гена *P2Y12* и полиморфного локуса T1565C гена *ITGB3*.

Комплексная оценка клинических и генетических факторов, входящих в уравнение логистической регрессии (наличие сахарного диабета, число тромбоцитов в общем анализе крови, значения ASPI-test, носительство аллеля 1565С гена *ITGB3*, число имплантированных стентов), позволит более точно определить вероятность развития «больших» повторных сердечно-сосудистых событий с порогом отсека LP<sub>0</sub>=0,0965, с чувствительностью 81,82 %, специфичностью 78,48 %, общей точностью 78,89 %.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

### Соответствие нормам этики / Compliance with ethical principles

Данное исследование выполнено в соответствии требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013) и было одобрено комитетом по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол заседания № 3 от 13.01.2016 г.). Все обследуемые лица подписывали информированное согласие на участие в исследовании. / The study was carried out in compliance with the requirements of Declaration of Helsinki of the World Medical Association (2013) and was approved by the Biomedical Ethics Committee of the Grodno State Medical University (meeting minutes No. 3 dated January 13, 2016). All surveyed persons signed informed consent to participate in the study.

### Литература / References

1. Митьковская Н. П., Ласкина О. В., Тифу Патрик. Нестабильная стенокардия или нестабильные коронарные синдромы // Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски. – 2020. – Т. 4, № 1. – С. 816–849. [Mitkovskaya NP, Laskina OV, Teefy Patrick Unstable angina pectoris or unstable coronary syndromes? *Emergency cardiology and cardiovascular risks*. 2020;4(1):816–849. (In Russ.)]. Doi: 10.51922/2616-633x.2020.4.2.944.
2. Lindemann S, Kramer B, Daub K, Stellos K, Gawaz M. Molecular pathways used by platelets to initiate and accelerate atherogenesis. *Current Opinion in Lipidology*. 2007; 18(5):566–573. Doi: 10.1097/MOL.0b013e3282ef7c1e.
3. Snoep JD, Hovens MM, Eikenboom JC, van der Bom JG, Huisman MV. Association of laboratory-defined aspirin resistance with a higher risk of recurrent cardiovascular events: a systematic review and metaanalysis. *Archives of Internal Medicine*. 2007;167(15):1593–1599. Doi: 10.1001/archinte.167.15.1593.
4. Warlo EMK, Arnesen H, Seljeflot I. A brief review on resistance to P2Y12 receptor antagonism in coronary artery disease. *Thrombosis Journal*. 2019;17(1):2–9. Doi: 10.1186/s12959-019-0197-5.
5. Amin AM, Sheau Chin L, Azri Mohamed Noor D, Sk Abdul Kader MA, Kah Hay Y, Ibrahim B. The personalization of clopidogrel antiplatelet therapy: the role of integrative pharmacogenetics and pharmacometabolomics. *Cardiol Res Pract*. 2017;(2017):8062796. Doi: 10.1155/2017/8062796.
6. Wurtz M. Aspirin in Coronary Artery Disease. An Appraisal of Functions and Limitations // *Danish Medical Journal*. 2015;62(4):B5011.
7. Geisler T, Schaeffeler E, Gawaz M, Schwab M. Genetic variation of platelet function and pharmacology: An update of current knowledge // *Thrombosis and Haemostasis*. 2013;(110):876–887. Doi: 10.1160/TH13-02-0145.
8. Calatzis A, Loreth R, Spannagl M. Multiplate platelet function analysis – application and interpretation. *Verum Diagnostica* // GmbH. 2007:35.
9. Копыцкий А. В. Хильманович В. Н. Программное обеспечение для построения множеств регрессионных моделей на выборках ограниченного объема в медицинских исследованиях // Сахаровские чтения 2019 года: экологические проблемы XXI века: Материалы 19-й Международ. науч. конф. ИВЦ Минфина. Минск, Республика Беларусь. – 2019. – Т. 3. – С. 205–208. [Kopytskiy AV, Khilmanovich VN. Software for constructing sets of regression models on samples of limited size in medical research // *Sakharov Readings of 2019: Environmental Problems of the 21st Century*:

*Proceedings of the 19th International Scientific Conference. ITC of the Ministry of Finance. Minsk, Republic of Belarus, 2019;(3):205–208. (In Russ.).*

10. Ковш Е. В., Лешкевич К. Ф., Денисевич Т. Л. Варианты течения ишемической болезни сердца и факторы его определяющие // *Проблемы здоровья и экологии*. – 2007. – № 3(13). – С. 27–32. [Kovsh EV, Leshkevich KF, Dinsevich TL. The factors and the variants of course the ischemic heart disease. *Health and Ecology Issues*. 2007;(3):27–32. (In Russ.).]

11. Комаров А. Л., Московкина Е. С. Современные подходы к стратификации риска больных, подвергаемых плановым чрескожным коронарным вмешательствам // *Атеротромбоз*. – 2016. – № 2. – С. 65–80. [Komarov AL., Moskovkina ES. Modern approaches to risk stratification of patients undergoing elective percutaneous coronary interventions. *Atherothrombosis*. 2016;(2):65–80. (In Russ.).] Doi: 10.21518/2307-1109-2016-2-65-80.

12. Шальнова С. А., Деев А. Д., Капустина А. В. и др. Ишемическая болезнь сердца у лиц 55 лет и старше. Распространенность и прогноз // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. – 2014. – Т. 13, №4. – С. 21–28. [Shalnova SA, Deev AD, Kapustina AV, Evstifeeva SE, Muromtseva GA, Tuaeva EM, Balanova YuA, Konstantinov VV, Kiseleva NV, Shkolnikova MA. Coronary heart disease in persons older than 55 years. prevalence and prognosis. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2014;13(4):21–28. (In Russ.).] Doi: 10.15829/1728-8800-2014-4-21-28.

13. Стельмашок В. И., Полонецкий О. Л., Ковш Е. В. и др. Шестимесячные результаты после реканализации хронических окклюзионных поражений коронарных артерий антеградным доступом. // *Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски*. – 2018. – Т. 2, № 1. – С. 208–215. [Stelmashok VI, Polonetsky OL, Koush EV, Pashkevich SF, Kavalenka DV. Six months results after coronary artery chronic total occlusion recanalization by antegrade approach. *Emergency cardiology and cardiovascular risks*. 2018;2(1):208–215. (In Russ.).]

14. Клинические и лабораторные предикторы неблагоприятных кардиальных событий у больных ишемической болезнью сердца после планового чрескожного коронарного вмешательства / Е. З. Голухова, М. В. Григорян, М. Н. Рябинина, Н. И. Булаева // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. – 2016. – Т. 12, № 5. – С. 528–535. [Golukhova EZ, Grigoryan MV, Ryabinina MN, Bulaeva NI. Clinical and laboratory predictors of major adverse cardiac events in patients with ischemic heart disease following elective percutaneous coronary intervention. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2016;12(5):528–535. (In Russ.).] Doi: 10.20996/1819-6446-2016-12-5-528-535.

15. Шумаков Д. В., Шехян Г. Г., Зыбин Д. И. и др. Поздние осложнения чрескожных коронарных вмешательств // *Рус. мед. журн.* – 2020. – №10. – С. 25–28. [Shumakov DV, Shekhyan GG, Zybin DI, Yalymov AA, Stepina EV, Popov MA. Late complications of percutaneous coronary interventions. *RMJ*. 2020;(10):25–28. (In Russ.).]

16. Новикова Е. С., Комаров А. Л., Гуськова Е. В. и др. Достаточно ли шкалы Syntax для оценки риска больных, подвергаемых плановым чрескожным коронарным вмешательствам // *Атеротромбоз*. – 2017. – № 1. – С. 80–93. [Novikova ES, Komarov AL, Gus'kova EV, Shakhmatova OO, Deyev AD, Dobrovolsky AV, Samko AN, Panchenko EP. Is the syntax score sufficient to assess the risk for patients undergoing elective percutaneous coronary interventions? *Atherothrombosis*. 2017;(1):80–93. (In Russ.).] Doi: 10.21518/2307-1109-2017-1-80-93.

17. Strisciuglio T, Franco D, Di Gioia G, De Biase C, Morisco C, Trimarco B, Barbato E. Impact of genetic polymorphisms on platelet function and response to anti platelet

drugs // *Cardiovasc Diagn Ther*. 2018;8(5):610–620. Doi: 10.21037/cdt.2018.05.06.

18. Андреев Е. Ю., Самоходская Л. М., Балацкий А. В. и др. Прогностическая значимость носительства аллельных вариантов генов, контролирующих систему гемостаза, и их сочетания с традиционными факторами риска в раннем развитии ишемической болезни сердца // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. – 2011. – № 10(8). – С. 32–39. [Andrenko EYu, Samokhodskaya LM, Balatskiy AV, Makarevich PI, Boytsov SA. Prognostic significance of the carriage of allelic variants of genes controlling the hemostasis system and their combination with traditional risk factors in early development coronary heart disease // *Cardiovascular therapy and prevention*. 2011;10(8):32–39. (In Russ.).]

19. Курупанова А. С., Ларева Н. В. Ассоциация полиморфизмов генов ITGB3 и ITGA2 с клиническим течением и исходами при остром коронарном синдроме с подъемом сегмента ST // *Забайкал. мед. вестн.* – 2019. – № 2. – С. 27–39. [Kurupanova AS, Lareva NV. Association of ITGB3 and ITGA2 polymorphisms with clinical course and outcomes in acute coronary syndrome with ST segment elevation. *Transbaikal Medical Bulletin*. 2019;(2):27–39. (In Russ.).]

20. Pina-Cabral LB, Carvalhais V, Mesquita B, Escyrcio C, Silva PF, Pinto P, Napolezo P, Pinheiro T, Monteiro MC, Almeida-Dias A, Criado B. Myocardial infarction before and after the age of 45: Possible role of platelet receptor polymorphisms. *Revista Portuguesa de Cardiologia*. 2018;(37):727–735. Doi: 10.1016/j.repc.2018.03.015.

21. Liu H, Wang Y, Zheng J, Li G, Chen T, Lei J, Mao Y, Wang J, Liu W, Zhao G, Tacey M, Yan B. Platelet glycoprotein gene Ia C807T, HPA-3, and Iba VNTR polymorphisms are associated with increased ischemic stroke risk: Evidence from a comprehensive meta-analysis // *International Journal of Stroke*. 2017;12(1):46–70. Doi: 10.1177/1747493016672085.

22. Leone A, Stefano V, Burzotta F, Chiusolo P, Casorelli I, Paciaroni K, Rossi E, Sciahbasi A, Testa L, Leone G, Crea F, Andreotti F. Glycoprotein Ia C807T gene polymorphism and increased risk of recurrent acute coronary syndromes: a five year follow up // *Heart*. 2004;(90):567–569. Doi: 10.1136/hrt.2003.017624.

23. Ye Zh, Liu E, Higgins J, Keavney B, Lowe G, Collins R, Danesh J. Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66,155 cases and 91,307 controls // *Lancet*. 2006;367(9511):651–658. Doi: 10.1016/S0140-6736(06)68263-9.

24. Hoppmann P, Koch W, Laugwitz KL, Kastrati A. Genetic risk of restenosis after percutaneous coronary interventions in the era of drug-eluting stents // *Coronary Artery Disease*. 2014;25(8):658–664. Doi: 10.1097/MCA.000000000000149.

25. Grinshtein YI, Kosinova AA, Grinshtein IY, Subbotina TN, Savchenko AA. The prognostic value of combinations of genetic polymorphisms in the ITGB3, ITGA2, and CYP2C19\*2 genes in predicting cardiovascular outcomes after coronary bypass grafting // *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2018;22(4):1–7. Doi: 10.1089/gmb.2017.0177.

26. Каражанова Л. К., Жукушева Ш. Т., Чиньбаева А. А. Молекулярно-генетические основы диагностики и лечения ишемической болезни сердца // *Наука и здравоохранение*. – 2014. – № 3. – С. 4–11. [Karazhanova LK, Zhukusheva ShT, Chinybaeva AA. Molecular genetic basis for the diagnosis and treatment of coronary heart disease // *Science and health care*. 2014;(3):4–11. (In Russ.).]

27. Xiang Q, Ji Sh, Zhang Zh, Zhao X, Cui YM. Identification of ITGA2B and ITGB3 single-nucleotide polymorphisms and their influences on the platelet function // *BioMed Research International*. 2016;(1):1–11. Doi: 10.1155/2016/5675084.

28. Jastrzebska M, Lisman D, Szelepajlo A, Oledzki S, Chelstowski K, Clark JS, Siennicka A. Evaluation of platelet reactivity during combined antiplatelet therapy in patients with stable coronary artery disease in relation to diabetes type 2 and the GPIIb/IIIa receptor gene polymorphism // *Journal Of Physiology And Pharmacology*. 2019;70(2):175–185. Doi: 10.26402/jpp.2019.2.01.

29. Cayla G, Hulot JS, O'Connor SA, Pathak A, Scott SA, Gruel Y, Silvain J, Vignalou JB, Huerre Y, de la Briolle A, Al-lanic F, Beygui F, Barthülmü O, Montalescot G, Collet JP. Clinical, angiographic, and genetic factors associated with early coronary stent thrombosis // *JAMA*. 2011;306(16):1765–1774. Doi: 10.1001/jama.2011.1529.

30. Zee RY, Michaud ShE, Diehl KA, Chasman DI, Emerich J, Gaussem P, Aiach M, Ridker PM. Purinergic receptor P2Y<sub>12</sub>, G protein coupled, 12 gene variants and risk of incident ischemic stroke, myocardial infarction, and venous thromboembolism // *Atherosclerosis*. 2008;197(2):694–699. Doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.07.001.

31. Fontana P, Dupont A, Gandrille S, Bachelot-Loza Ch, Reny JL, Aiach M. Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y<sub>12</sub> gene sequence variations in healthy subjects // *Circulation*. 2003;(108):989–995. Doi: 10.1161/01.CIR.0000085073.69189.88.

32. Li M, Wang H, Xuan L, Shi X, Zhou T, Zhang N, Huang Y. Associations between P2RY12 gene polymorphisms and risks of clopidogrel resistance and adverse cardiovascular events after PCI in patients with acute coronary syndrome // *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(14):6553. Doi: 10.1097/MD.0000000000006553.

### Информация об авторах

**Пронько Татьяна Павловна** – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней, Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь, e-mail: tanya\_pronko@mail.ru.

**Снежицкий Виктор Александрович** – д-р мед. наук, член-корр. НАН Беларуси, профессор, профессор 1-й кафедры внутренних болезней, Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь, e-mail: vsnez@mail.ru.

**Горчакова Ольга Владимировна** – научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории, Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь, e-mail: daniil\_go@inbox.ru.

**Гладкий Максим Леонидович** – аспирант научно-исследовательской лаборатории, Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь, e-mail: maximhladki@gmail.com.

**Копыцкий Андрей Витальевич** – старший преподаватель кафедры медицинской и биологической физики, Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь, e-mail: andrey\_cop@mail.ru.

### Authors information

**Pronko Tatyana P.** – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Propedeutics of Internal Diseases of Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus, e-mail: tanya\_pronko@mail.ru.

**Snezhitskiy Viktor A.** – Doctor of Medical Sciences, Corresponding Member National Academy of Sciences of Belarus, Professor, Professor of 1<sup>st</sup> department of Internal Diseases of Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus, e-mail: vsnez@mail.ru.

**Gorchakova Olga V.** – collaborator of the research laboratory of Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus, e-mail: daniil\_go@inbox.ru.

**Gladkiy Maxim L.** – post-graduate student of the research laboratory of Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus, e-mail: cnil@grsmu.by.

**Kapytski Andrei V.** – senior lecturer of the Department of Medical and Biological Physics of Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus, e-mail: andrey\_cop@mail.ru.

УДК 617.735-02:616.12-005-78:616.12-089-06  
DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-28-33

М. Л. ДЬЯКОВА<sup>1</sup>, Ю. К. ПОДОКСЕНОВ<sup>1, 2</sup>,  
Е. В. ШИШНЕВА<sup>1</sup>, М. С. ДЕНИСКО<sup>2</sup>, А. А. КРЫЛОВА<sup>2</sup>,  
О. И. КРИВОШЕЙНА<sup>2</sup>, В. М. ШИПУЛИН<sup>1, 2</sup>

## Особенности структурно-функционального состояния сетчатки в условиях искусственного кровообращения во время кардиохирургических операций

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия 634012, Россия, г. Томск, ул. Киевская, д. 111а

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия 634050, г. Томск, Московский тракт, д. 2  
E-mail: krilovane@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 04.06.21 г.; принята к печати 30.07.21 г.

### Резюме

**Введение.** Кардиохирургические операции с использованием искусственного кровообращения (ИК) успешно проводятся более 60 лет, однако в настоящее время необходимо дальнейшее изучение изменений гемодинамики тканей во время проведения вмешательств для минимизации возможных ятрогенных осложнений. Одной из таких тканей, доступных для непосредственного наблюдения за сосудами микроциркуляторного русла, является сетчатка. **Цель** – изучить структурно-функциональное состояние сетчатки у пациентов, перенесших кардиохирургическое вмешательство с использованием ИК, и выявить потенциальные факторы, негативно влияющие на ретинальный кровоток. **Материалы и методы.** В клиническом исследовании приняли участие 10 пациентов (20 глаз). Всем больным до кардиохирургической операции с использованием ИК и на 10–14-й день после нее проводили визометрию, периметрию, бесконтактную тонометрию, биомикроскопию, обратную бинокулярную офтальмоскопию, фоторегистрацию глазного дна, оптическую когерентную томографию сетчатки макулярной области и диска зрительного нерва с определением толщины ганглиозных клеток и слоя нервных волокон. Для проведения ИК выполняли фармакоологической кардиopleгии раствором Кустодиол с использованием унифицированной хирургической и анестезиологической тактики. ИК выполнялось на аппарате с одноразовыми мембранными оксигенаторами (Strockert, Германия) в условиях нормотермии, кровообращение обеспечивали неппульсирующим кровотоком с объемной скоростью 2,4–2,8 л/мин/м<sup>2</sup> при начальной дозе гепарина 300 ЕД/кг. **Результаты.** При проведении исследований выявлена корреляция изменений гистоархитектоники сетчатки с уровнем среднего артериального давления (САД). Так, у 30 % пациентов обнаружено появление ишемических очагов вдоль сосудистых аркад. У 10 % больных наблюдалось уменьшение толщины ганглиозного слоя и слоя нервных волокон сетчатки вследствие нарушения кровообращения в сосудах, питающих зрительный нерв. **Выводы.** Повышение САД до 90 мм рт. ст. и выше и колебания его уровня более 20 мм рт. ст. ( $p < 0,05$ ) во время кардиохирургической операции в условиях ИК в 67 % случаев сопровождается транзиторным нарушением регионарного кровообращения на уровне сосудов микроциркуляторного русла сетчатки с появлением ишемических фокусов в ретинальной ткани. В связи с этим необходим тщательный контроль параметров САД во время проведения ИК для предотвращения нарушений кровообращения в различных органах и тканях организма.

**Ключевые слова:** искусственное кровообращение, кардиохирургические операции, сетчатка, микроциркуляция

**Для цитирования:** Дьякова М. Л., Подоксенов Ю. К., Шишнева Е. В., Дениско М. С., Крылова А. А., Кривошейна О. И., Шипулин В. М. Особенности структурно-функционального состояния сетчатки в условиях искусственного кровообращения во время кардиохирургических операций. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021;20(3):28–33. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-28-33.

UDC 617.735-02:616.12-005-78:616.12-089-06  
DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-28-33

М. Л. DIAKOVA<sup>1</sup>, Yu. K. PODOKSENOV<sup>1, 2</sup>, E. V. SHISHNEVA<sup>1</sup>,  
M. S. DENISKO<sup>2</sup>, A. A. KRYLOVA<sup>2</sup>, O. I. KRIVOSHEINA<sup>2</sup>,  
V. M. SHIPULIN<sup>1, 2</sup>

## Features of the retinal structural and functional state under cardiopulmonary bypass during cardiac surgery

<sup>1</sup> Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia 111a, Kievskaya street, Tomsk, Russia, 634012

<sup>2</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russia 2, Moskovsky tract, Tomsk, Russia, 634050  
E-mail: krilovane@yandex.ru

Received 04.06.21; accepted 30.07.21

### Summary

**Introduction.** Cardiac surgeries using cardiopulmonary bypass (CB) have been successfully performed for more than 60 years, but at present it is necessary to further study the changes in tissue hemodynamics during interventions to minimize

possible iatrogenic complications. One of these tissues available for direct observation of the vessels of the microvasculature is the retina. *Aim* – to study the structural and functional state of the retina in patients who underwent cardiac surgery with the use of CB, and to identify potential factors that negatively affect the retinal blood flow. *Materials and methods*. The clinical study involved 10 patients (20 eyes). All patients before cardiac surgery using CB and 10–14 days after it underwent visometry, perimetry, non-contact tonometry, biomicroscopy, reverse binocular ophthalmoscopy, fundus photography, optical coherence tomography of the retina of the macular region and optic nerve head with determination of the thickness of the layer of ganglion cell and the layer of nerve fibers. To carry out CB, pharmaco-cold cardioplegia was performed with the Custodiol solution using unified surgical and anesthetic tactics. CB was performed on a device with disposable membrane oxygenators (Strockert, Germany) under normothermic conditions, blood circulation was provided with non-pulsating blood flow with a volumetric flow rate of 2.4–2.8 L/min/m<sup>2</sup> at an initial dose of heparin of 300 U/kg. *Results*. The studies revealed a correlation between changes in the histoarchitectonics of the retina and the level of mean arterial pressure (MAP). So, in 30 % of patients, the appearance of ischemic foci along the vascular arcades was found. In 10 % of patients, a decrease in the thickness of the ganglion layer and the layer of retinal nerve fibers was reported as a result of impaired blood circulation in the vessels supplying the optic nerve. *Conclusion*. Increase in MAP up to 90 mm Hg and above and fluctuations in its level of more than 20 mm Hg ( $p < 0.05$ ) during cardiac surgery under cardiopulmonary bypass in 67 % of cases is accompanied by transient disturbance of regional blood circulation at the level of vessels of the microvasculature of the retina with the appearance of ischemic foci in the retinal tissue. In this regard, it is necessary to carefully monitor the MAP parameters during the cardiopulmonary bypass to prevent circulatory disorders in various organs and tissues of the body.

**Keywords:** cardiopulmonary bypass, cardiac surgery, retina, microcirculation

**For citation:** Diakova M. L., Podoksenov Yu. K., Shishneva E. V., Denisko M. S., Krylova A. A., Krivosheina O. I., Shipulin V. M. Features of the retinal structural and functional state under cardiopulmonary bypass during cardiac surgery. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2021;20(3):28–33. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-28-33.

## Введение

Впервые кардиохирургическую операцию с использованием аппарата искусственного кровообращения (ИК) выполнил американский хирург Форест Дьюи Додрилл 3 июля 1952 г. Однако, несмотря на последующий в течение 70 лет успешный опыт проведения кардиохирургических операций с использованием данного оборудования, до настоящего времени ряд вопросов, связанных с ИК, остается не выясненным. Одним из таких вопросов является целевое значение среднего артериального давления (САД), способного поддержать адекватную внутриорганный перфузию и позволяющего избежать гипоперфузии головного мозга, с одной стороны, и ишемии тканей пациента вследствие повышения трансмурального давления, с другой стороны [1–5]. Не менее важным вопросом является потенциальная возможность изменений в системе гемостаза больного при прохождении крови через контур аппарата ИК с риском развития тромбоэмболических осложнений вследствие «залпового» поступления микроэмболов в кровяное русло и деформации форменных элементов крови, а также активации кининовой системы, что, в конечном итоге, приводит к нарушению микроциркуляции жизненно важных органов больного [2, 6, 7].

Изучение *in vivo* динамики структурно-функциональных изменений сосудов микроциркуляторного русла различных органов и систем во время ИК при проведении кардиохирургического вмешательства позволило бы определить безопасный уровень САД [8] и тактику ведения пациентов в интра- и послеоперационном периодах. Как известно, одной из наиболее чувствительных даже к незначительным изменениям кровообращения тканей является сетчатка глаза [9].

**Цель** – изучить структурно-функциональное состояние сетчатки у пациентов, перенесших кардиохирургическое вмешательство с использованием ИК, и выявить потенциальные факторы, негативно влияющие на ретинальный кровоток.

## Материалы и методы исследования

Клиническое исследование проведено на базе офтальмологической клиники СибГМУ и отделения сердечно-сосудистой хирургии Томского НИМЦ НИИ кардиологии. В исследовании участвовали 10 пациентов (20 глаз) с диагнозом «Ишемическая болезнь сердца», которым планировалось проведение аортокоронарного шунтирования с применением аппарата ИК. В исследование не включались пациенты, имеющие патологию сетчатки и (или) зрительного нерва различного генеза, а также непрозрачные оптические среды (помутнение роговицы, незрелая катаракта).

Всем больным до кардиохирургической операции с использованием ИК и на 10–14-й день после вмешательства проводили офтальмологическое обследование, включающее в себя визометрию, периметрию, бесконтактную тонометрию (*Tomey*, Япония), биомикроскопию переднего отрезка глаза, обратную бинокулярную офтальмоскопию, фоторегистрацию глазного дна, оптическую когерентную томографию (ОКТ) сетчатки макулярной области и диска зрительного нерва (ДЗН) с определением толщины ганглиозного слоя и слоя нервных волокон (*Topcon Corporation*, Япония). Перед исследованием все пациенты подписывали информированное согласие.

Все больные прооперированы в условиях ИК с кардиopleгией раствором «Кустодиол» (*Koehler Chemie, Alsbach-Haenli*, Германия). Во время операции использовали унифицированную хирургическую и анестезиологическую тактику [10]. Для достижения анестезии использовали эндотрахеальный наркоз Севофлюраном и тотальную внутривенную анальгезию Фентанилом и Пропрофолом. Искусственную вентиляцию легких проводили при помощи аппарата *Primus (Dräger, Германия)* по полузакрытому контуру в режиме *Controlled Mandatory Ventilation* с управлением по объему с положительным давлением конца выдоха 5 см H<sub>2</sub>O, дыхательным объемом 6–8 мл/кг идеальной массы тела, с частотой дыхательных движений,

## Динамика результатов офтальмологического статуса пациентов до и после кардиохирургического вмешательства с использованием ИК, Me [25; 75]

## Changes in the data of ophthalmological examination of patients before and after cardiac surgery using cardiopulmonary bypass, Me [25; 75]

Данные офтальмологического исследования	До операции	Через 10–14 суток после операции
Максимально скорректированная острота зрения	0,85 [0,3; 2,0].	0,83 [0,3; 1,5]
Сумма показателей поля зрения по восьми меридианам, градусы	467 [450,0; 480,0]	471 [448,0; 482,0]
Уровень внутриглазного давления, мм рт. ст.	15,5 [13,0; 18,0]	16,1 [13,3; 17,8]
Толщина сетчатки в области центральной ямки желтого пятна, мкм	231,5 [227,0; 235,0]	229,0 [224,0; 241,0]
Толщина сетчатки вдоль артериол 1,2 порядка на расстоянии 1 диаметра ДЗН, мкм	258 [254; 265]	428 [419,0; 435,0], p=0,031
Толщина ганглиозного слоя, мкм	78 [72; 81]	59 [51; 76], p=0,028

Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с исходными данными.

необходимых для адекватной целевой оксигенации и вентиляции. ИК выполняли на аппарате с одно-разовыми мембранными оксигенаторами (*Strockert*, Германия). ИК проводили в условиях нормотермии, кровообращение обеспечивали непальсирующим кровотоком с объемной скоростью 2,4–2,8 л/мин/м<sup>2</sup>, содержание в крови гемоглобина – не менее 80 г/л, уровень гематокрита – 0,24–0,26 [11]. Начальная доза гепарина составила 300 ЕД/кг. После окончания ИК выполняли инактивацию гепарина протамина сульфатом из расчета 1:1 с контролем времени активированного свертывания. Длительность ИК составляла 69,9 [60; 130] мин по расчету медианы и квартилей Me [25; 75], аорта пережималась на 59,9 [35; 58] мин, минимальное САД во время проведения ИК достигало 58,4 [52; 61] мм рт. ст., максимальное САД при использовании ИК равнялось 76,8 [70; 86] мм рт. ст., при этом отмечались колебания САД до 18,3 [15; 23] мм рт. ст. Объемная скорость перфузии составляла 4,7 [4,1; 5,0] мл/кг/ч, сатурация была в пределах 99 [98; 99,9] %.

По окончании оперативного вмешательства пациентов транспортировали в отделение реанимации.

Для статистического анализа полученных результатов применяли пакет «IBM SPSS Statistics 20». Для описания количественных переменных рассчитывали медиану и квартили Me [25; 75]. Для оценки корреляции использовали коэффициент Спирмена. При несоответствии распределения выборок нормальному закону для их сравнения использовали непараметрические критерии Манна – Уитни (для независимых выборок) и критерий Вилкоксона (для зависимых выборок). Для сравнения качественных характеристик использовали точный критерий Фишера. Различия считали статистически значимыми при p < 0,05.

### Результаты исследования и их обсуждение

Все пациенты были сопоставимы по полу (все 10 человек – мужчины), возрасту и давности заболевания. Средний возраст больных составлял 59,2 года [56; 64] по расчету медианы и квартилей Me [25; 75]. Индекс массы тела составил 30,75 кг/м<sup>2</sup> [27; 34,2]. Среди сопутствующих заболеваний у всех пациентов наблюдалась гипертоническая болезнь, у 40 % боль-

ных выявлен сахарный диабет, у 60 % обнаружено ожирение, 20 % страдали хронической болезнью почек, 40 % пациентов имели вредные привычки (курение в анамнезе).

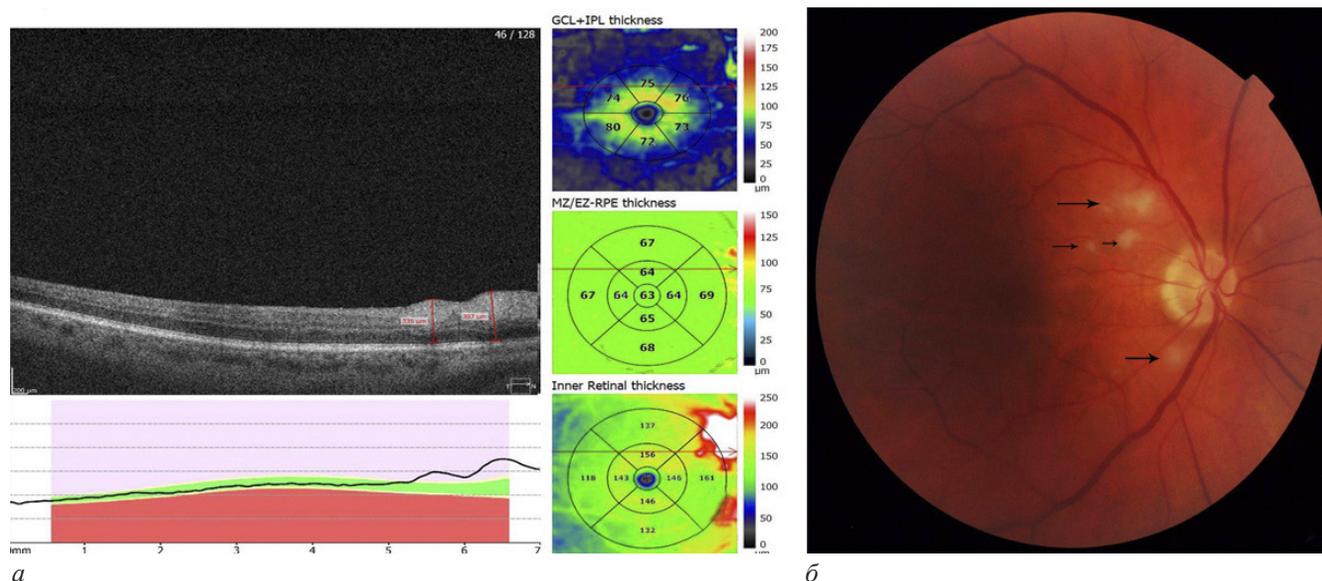
Основные результаты офтальмологического обследования пациентов, проведенного перед кардиохирургическим вмешательством, приведены в таблице.

При биомикроскопии переднего отрезка обоих глаз у всех (100 %) пациентов определялись начальные признаки возрастной катаракты в виде оводнения хрусталиковых швов и единичных спицеобразных помутнений в корковых отделах, обусловивших незначительное, до 0,9, снижение скорректированной остроты зрения. Каких-либо других патологических изменений переднего отрезка обоих глаз не выявлено.

В ходе осмотра глазного дна в 100 % случаев выявлялись признаки гипертонической ангиопатии и артериосклероза сетчатки. У 80 % пациентов (8 человек, 16 глаз) определялось изменение артериовенозного соотношения 1:3 (в норме – 2:3), у 20 % больных (2 человека, 4 глаза) артериовенозное соотношение составляло 1:4. У 100 % пациентов обнаруживались патологические артериовенозные перекресты 2–3-й степени (симптом Салюса – Гунна II–III) и симптом «серебряной проволоки» – один из признаков выраженного склероза стенки ретинальных сосудов. При этом во время проведения офтальмоскопии до оперативного лечения у 1 пациента (1 глаз) обнаружено уменьшение экскавации ДЗН до 0,1 диаметра ДЗН (так называемый «disk at risk» по W. Hoyt), что предполагает сужение канала, в котором проходят центральные артерия и вена сетчатки и, как следствие, повышает риск возникновения нарушения микроциркуляции в интрабульбарной части ДЗН (рисунок) [12, 13].

По данным ОКТ сетчатки, толщина ретинальной ткани в области центральной ямки желтого пятна до операции у всех (100 %) пациентов была в пределах референсных значений (таблица).

В раннем послеоперационном периоде и на 10–14-е сутки после вмешательства пациенты не отмечали субъективного ухудшения зрительных



Оптическая когерентная томография в проекции ишемических очагов сетчатки (а) и фотография глазного дна пациента на 14-й день после кардиохирургической операции (б)

The optical coherence tomography in the projection of retinal ischemic foci (a) and the photograph of the patient's fundus on the 14<sup>th</sup> day after cardiac surgery (b)

функций (снижение остроты зрения, появление скотом в поле зрения). При исследовании максимальной скорректированной остроты зрения у всех пациентов (10 человек, 20 глаз) не выявлено статистически значимой разницы ( $p > 0,05$ ) между исходным уровнем данного показателя и результатами, полученными на 10–14-е сутки после операции (табл. 1). Сравнительный анализ показателей периметрии и тонометрии также не выявил статистически значимого изменения ( $p > 0,05$ ) исследуемых параметров (таблица). По данным биомикроскопии переднего отрезка обоих глаз на 10–14-е сутки после вмешательства у 100 % пациентов (10 человек, 20 глаз) отсутствовали признаки прогрессирования катаракты.

По данным офтальмоскопии, в послеоперационном периоде у 70 % пациентов (7 человек, 14 глаз) сохранялись диагностированные в ходе первичного осмотра признаки гипертензивного артериосклероза.

Однако в 30 % (3 человека, 6 глаз) случаев в раннем послеоперационном периоде при офтальмоскопии на глазном дне по ходу крупных сосудистых аркад были обнаружены «мягкие экссудаты» – ишемические фокусы сероватого цвета, округлой формы, с нечеткими границами, величиной до  $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{6}$  диаметра ДЗН, расположенные перипапиллярно, наличие которых свидетельствует о кратковременном локальном нарушении ретинального кровотока (рисунок).

При проведении ОКТ сетчатки в проекции ишемических фокусов выявлено увеличение толщины ретинальной ткани в 1,6 раза – до 428 [419,0; 435,0] мкм по сравнению с исходными данными (258 [254; 265] мкм,  $p = 0,031$ ). На всем остальном протяжении толщина сетчатки оставалась в пределах исходных значений.

Кроме того, в 10 % (1 человек, 1 глаз) случаев в раннем послеоперационном периоде (10–14-е сутки), по данным ОКТ ДЗН, выявлено снижение толщины ганглиозного слоя на 15 % от исходного уровня и слоя нервных волокон сетчатки в перипапиллярной

зоне в нижневисочном секторе на 10 % от первоначальных значений (рисунок), что свидетельствует о нарушении кровообращения в сосудах, питающих зрительный нерв, вызвавшем последующую частичную атрофию слоя нервных волокон.

В ходе корреляционного анализа Спирмена для выявления взаимосвязи между параметрами ИК и нарушением ретинального кровотока было установлено, что появление зон ишемии сетчатки находится в прямой зависимости как от уровня максимального САД, так и от колебаний значений САД в условиях ИК в ходе кардиохирургического вмешательства. Так, например, повышение уровня САД до 90 мм рт. ст. и более во время операции в 100 % случаев сопровождалось появлением ишемических фокусов на сетчатке (3 человека, 6 глаз). Превышение разницы между максимальным и минимальным уровнями САД более чем на 20 мм рт. ст. в 67 % случаев также приводило к нарушению ретинальной перфузии с появлением зон ишемического отека сетчатки (3 человека, 6 глаз) ( $p = 0,0350$ ).

Использование ИК в ходе кардиохирургических операций сопряжено с риском развития ряда осложнений, в том числе и тромбоэмболического характера, что подтверждается результатами проведенного исследования. Обнаружение у больных, перенесших кардиохирургическое вмешательство в условиях ИК, ишемических фокусов в сетчатке, отличающейся высокой чувствительностью к уровню кислорода, свидетельствует о кратковременном локальном нарушении кровотока в ретинальных артериях 1–2 порядка с последующим отеком сетчатки. Причинами транзиторного нарушения кровообращения в сосудах микроциркуляторного сетчатки могут быть микроэмболы и колебания трансмурального давления вследствие увеличения времени проведения ИК, длительного пережатия аорты, подъема объемной скорости перфузии, а также значительного повышения САД и его колебаний во время кардиохирургического вме-

шательства. С другой стороны, местные факторы – анатомические особенности строения головки ДЗН (так называемый «disk at risk») [12] – также могут являться предрасполагающим фактором для нарушения кровообращения в ДЗН и сетчатке у пациентов при снижении перфузионного давления в ходе кардиохирургических операций с ИК.

В связи с этим одним из важных профилактических моментов является определение целевого уровня САД, позволяющего сохранить перфузию на необходимом уровне и предотвратить значительные колебания трансмурального давления, приводящего к ишемическому повреждению тканей вследствие активации миогенной ауторегуляции и спазма сосудов. Относительно «безопасным» уровнем САД является его значение в пределах от 50 до 90 мм рт. ст. [10] при разнице между максимальным и минимальным значением САД не более 20 мм рт. ст.

### Заключение

Повышение САД до 90 мм рт. ст. и выше, а также колебания уровня САД более 20 мм рт. ст. во время кардиохирургической операции в условиях ИК в 67% случаев сопровождается транзиторным нарушением регионарного кровообращения на уровне сосудов микроциркуляторного русла сетчатки с появлением ишемических фокусов в ретинальной ткани. В связи с этим необходим тщательный контроль параметров САД во время проведения ИК для предотвращения нарушений кровообращения в различных органах и тканях организма.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

### Соответствие нормам этики / Compliance with ethical standards

Все пациенты дали письменное добровольное информированное согласие на участие в представленной научной работе. Исследование выполнено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (в ред. 2013 г.). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. Протокол № 12 от 17.03.2020 г. / All patients gave written voluntary informed consent to participate in the presented scientific work. The study was carried out in accordance with the requirements of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (as revised in 2013). The study protocol was approved by the ethical committee of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education of the Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia No. 12 dated March 17, 2020.

### Литература / References

1. Корнилов И. А., Пономарев Д. Н., Шмырев В. А. и др. Физиологические параметры искусственного кровообращения с точки зрения доказательной медицины. Часть I // *Вестн. анестезиологии и реаниматологии*. 2016;13(2):57–69. [Kornilov IA, Ponomarev DN,

Shmyrev VA, Skopets AA, Sinelnikov YS, Lomivorotov VV // *Physiological parameters of artificial blood circulation from the position of the evidence based medicine. Part I. Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*. 2016;13(2):57–69. (In Russ.). Doi: 10.21292/2078-5658-2016-13-2-57-69.

2. Радивилко А. С. Профилактика осложнений после операций с искусственным кровообращением (дайджест публикаций) // *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. – 2016. – Т. 3. – С. 117–123. [Radivilko AS. Prevention of complications after surgery with cardiopulmonary bypass // *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2016;(3):117–123. (In Russ.). Doi: 10.17802/2306-1278-2016-3-117-123.

3. Бокерия Л. А., Голухова Е. З., Ваничкин А. В. и др. Эхокардиологические корреляты при когнитивной дисфункции после кардиохирургических операций // *Креативная кардиология*. – 2015. – Т. 4. – С. 13–25. [Bockeria LA, Golukhova EZ, Vanichkin AV, Polunina AG, Lefterova NP, Kazanovskaya SN. Echocardiographic correlates at cognitive dysfunction after cardiac surgery // *Creative Cardiology*. 2015;(4):13–25 (In Russ.). Doi: 10.15275/kreatkard.2015.04.02.

4. Козлов Б. Н., Панфилов Д. С., Кузнецов М. С. и др. Антеградная унилатеральная перфузия головного мозга через брахиоцефальный ствол при операциях на дуге аорты // *Ангиология и сосуд. хир.* – 2016. – Т. 22, № 1. – С. 195–198. [Kozlov BN, Panfilov DS, Kuznetsov MS, Ponomarenko IV, Nasrashvili GG, Shipulin VM. Antegrade unilateral cerebral perfusion through the brachiocephalic shaft during operations on the aortic arch. *Angiology and Vascular Surgery*. 2016;22(1):195–198. (In Russ.).]

5. Мониторинг церебральной гемодинамики во время коронарного шунтирования без искусственного кровообращения / А. В. Лысенко, Ю. В. Белов, Р. Н. Комаров, А. В. Стоногин // *Кардиология и сердечно-сосуд. хир.* – 2015. – Т. 8, № 6. – С. 4–7. [Lysenko AV, Belov YuV, Komarov RN, Stonogin AV. Monitoring of cerebral hemodynamics during off-pump coronary artery bypass grafting // *Russian Journal of Cardiology and Cardiovascular Surgery*. 2015;8(6):4–7 (In Russ.). Doi: 10.17116/kardio2015864-7.

6. Ono M, Brady K, Easley RB, Brown C, Kraut M, Gottesman RF. Duration and magnitude of blood pressure below cerebral autoregulation threshold during cardiopulmonary bypass is associated with major morbidity and operative mortality // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg*. 2014;147(1):483–489. Doi: 10.1016/j.jtcvs.2013. D7.069.

7. Hessel EA. What's new in cardiopulmonary bypass // *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth*. 2019;33(8):2296–2326. Doi: 10.1053/j.jvca.2019.01.039.

8. Корнилов И. А., Пономарев Д. Н., Шмырев В. А. и др. Физиологические параметры искусственного кровообращения с точки зрения доказательной медицины (часть 2) // *Вестн. анестезиологии и реаниматологии*. 2016;13(3):29–42. [Kornilov IA, Ponomarev DN, Shmyrev VA, Skopets AA, Sinelnikov YS, Lomivorotov VV. Physiological parameters of artificial blood circulation from the position of the evidence based medicine (part 2) // *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*. 2016;13(3):29–42. (In Russ.). Doi: 10.21292/2078-5658-2016-13-3-2942.

9. Зарубина И. В. Современные представления о патогенезе гипоксии и ее фармакологической коррекции // *Обзоры по клин. фармакологии и лекарств. тер.* – 2001. – Т. 9, № 3. – С. 31–48. [Zarubina IV. Modern ideas about the pathogenesis of hypoxia and its pharmacological correction. *Reviews on the clinical pharmacology and drug therapy* 2001;9(3):31–48. (In Russ.).]

10. Vedel AG, Holmgaard F, Rasmussen LS, Langkilde A, Paulson OB, Lange T. High-Target Versus Low-Target Blood

*Pressure Management During Cardiopulmonary Bypass to Prevent Cerebral Injury in Cardiac Surgery Patients: A Randomized Controlled Trial* // *Circulation* 2018;137(17):1770–1778. Doi: 10.1161/circulationaha.117.030308.

11. Sun LY, Chung AM, Farkouh ME, van Diepen S, Weinberger J, Bourke M. Defining an intraoperative hypotension threshold in association with stroke in cardiac surgery // *Anesthesiology*. 2018;129(3):440–447. Doi: 10.1097/aln.0000000000002298.

12. Miller NR, Arnold AC. Current concepts in the diagnosis, pathogenesis and management of nonarteritic anterior ischaemic optic neuropathy // *Eye (Lond)*. 2015;29(1):65–79.

13. Cestari DM, Gaier ED, Bouzika P, Blachley TS, De Lott LB. Demographic, systemic, and ocular factors associated with nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy // *Ophthalmology*. 2016;(123):2446–2455. Doi: 10.1016/j.optha.2016.08.017.

### Информация об авторах

**Дьякова Мария Леонидовна** – канд. мед. наук, научный сотрудник отделения сердечно-сосудистой хирургии, Томский НИМЦ НИИ кардиологии, г. Томск, Россия, ORCID: 0000-0001-9353-7234, e-mail: prima.maria@mail.ru.

**Подоксенов Юрий Кириллович** – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения сердечно-сосудистой хирургии, Томский НИМЦ НИИ кардиологии, г. Томск, Россия; профессор кафедры госпитальной хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии, СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия, ORCID: 0000-0002-8939-2340, e-mail: uk@cardio-tomsk.ru.

**Шихнева Евгения Васильевна** – канд. мед. наук, зав. отделением анестезиологии и реанимации, отделение сердечно-сосудистой хирургии, Томский НИМЦ НИИ кардиологии, г. Томск, Россия, ORCID: 0000-0003-2799-0190, e-mail: sri@cardio-tomsk.ru.

**Дениско Марьяна Сергеевна** – ассистент кафедры офтальмологии, СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия, ORCID: 0000-0003-2696-7183, e-mail: m.s.sharova@mail.ru.

**Крылова Анна Андреевна** – канд. мед. наук, доцент кафедры офтальмологии, СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия, ORCID: 0000-0001-8009-6302, e-mail: krilovane@yandex.ru.

**Кривошеина Ольга Ивановна** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой офтальмологии, СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия, ORCID: 0000-0001-7509-5858, e-mail: oikr@yandex.ru.

**Шипулин Владимир Митрофанович** – д-р мед. наук, профессор, научный руководитель отделения сердечно-сосудистой хирургии, Томский НИМЦ НИИ кардиологии, г. Томск, Россия; профессор кафедры госпитальной хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии, СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия, ORCID: 0000-0003-1956-0692, e-mail: shipulin@cardio-tomsk.ru.

### Authors information

**Diakova Maria L.** – Cand. of Sci. (Med.), Research Scientist, Department of Cardiovascular Surgery, Cardiology Research Institute, National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia, ORCID: 0000-0001-9353-7234, e-mail: prima.maria@mail.ru.

**Podoksenov Yuri K.** – Dr. of Sci. (Med.), Leading Research Scientist, Department of Cardiovascular Surgery, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia, ORCID: 0000-0002-8939-2340, e-mail: uk@cardio-tomsk.ru.

**Shishneva Evgeniya V.** – Cand. of Sci. (Med.), Chief of the Department of Anesthesiology and Resuscitation, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia, ORCID: 0000-0003-2799-0190, e-mail: sri@cardio-tomsk.ru.

**Denisko Maryana S.** – Assistant Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia, ORCID: 0000-0003-2696-7183, e-mail: m.s.sharova@mail.ru.

**Krylova Anna A.** – Cand. of Sci. (Med.), Assistant Professor Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia, ORCID: 0000-0001-8009-6302, e-mail: krilovane@yandex.ru.

**Shipulin Vladimir M.** – Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Cardiovascular Surgery Cardiology Research Institute Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia, ORCID: 0000-0003-1956-0692, e-mail: shipulin@cardio-tomsk.ru.

**Krivosheina Olga I.** – Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia, ORCID: 0000-0001-7509-5858, e-mail: oikr@yandex.ru.

УДК 616-092.12

DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-34-45

Е. А. ПОЛЯКОВА<sup>1, 2</sup>

## Роль растворимых рецепторов лептина в патогенезе ишемической болезни сердца

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия  
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия  
197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2  
E-mail: polyakova\_ea@yahoo.com

Статья поступила в редакцию 29.04.21 г.; принята к печати 16.07.21 г.

### Резюме

**Введение.** Обсуждается участие растворимого рецептора лептина (РРЛ) в формировании гиперлептинемии и лептинорезистентности у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) в сочетании с ожирением. **Цель** – изучение роли РРЛ в патогенезе ИБС. **Материалы и методы.** Проведено когортное исследование 744 пациентов: 465 больных ИБС (56 лет, Q1=44; Q3=62), 270 обследованных без ИБС (52 года, Q1=44; Q3=56). Методы исследования: ЭХО-КГ, КТ сердца, КАГ. В сыворотке крови оценивали липидный спектр, глюкозу, креатинин, мочевую кислоту, С-реактивный белок высокочувствительным методом (ВЧ-СРБ). Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови определяли концентрации РРЛ, лептина (ЛН), адипонектина (общего и высокомолекулярного), белка-связывающего жирные кислоты-4 (ФАВР-4), фактора некроза опухолей-альфа (ФНО-α), интерлейкина-6 (ИЛ-6), инсулина. **Результаты.** Уровень РРЛ в сыворотке крови у мужчин и женщин, больных ИБС, ниже, чем у мужчин без ИБС ( $p < 0,001$ ). У больных ИБС наличие ожирения ассоциировалось с низким уровнем РРЛ в сыворотке крови и высоким индексом свободного ЛН. При концентрации РРЛ в сыворотке крови  $< 7,5$  нг/мл у мужчин, больных ИБС, встречаемость ожирения была выше одновременно с признаками висцерального ожирения сердца, наличием атеросклеротических бляшек (АТБ) в общих сонных артериях, высокими уровнями глюкозы, инсулина, ИЛ-6, ЛН сыворотки крови, соотношения ЛН/адипонектин сыворотки крови и высоким индексом НОМА-IR. У женщин, больных ИБС, с уровнем РРЛ  $< 10,2$  нг/мл чаще выявлялись сахарный диабет, висцеральное ожирение, высокие уровни ВЧ-СРБ, ФНО-α, ФАВР-4, инсулина сыворотки крови, индекса НОМА-IR. У мужчин и женщин, больных ИБС, различий по концентрации РРЛ в зависимости от степени коронарного атеросклероза не выявлено. **Заключение.** Повышение индекса свободного ЛН отражает нарушение связей в системе «лептин – рецептор» и отражает механизмы компенсации для преодоления резистентности периферических тканей к лептину, что подтверждается заметной отрицательной связью между уровнями РРЛ и лептина в сыворотке крови у мужчин с ИБС. Низкая концентрация РРЛ у больных ИБС ассоциируется с ожирением, проатерогенными и провоспалительными маркерами сердечно-сосудистых заболеваний.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, растворимый рецептор лептина, лептин, атеросклероз, воспаление, лептинорезистентность, инсулинорезистентность

**Для цитирования:** Полякова Е. А. Роль растворимых рецепторов лептина в патогенезе ишемической болезни сердца. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021;20(3):34–45. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-34-45.

UDC 616-092.12

DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-34-45

Е. А. POLYAKOVA<sup>1, 2</sup>

## The role of soluble leptin receptor in the pathogenesis of coronary heart disease

<sup>1</sup> Pavlov University, Saint Petersburg, Russia  
6-8, L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022

<sup>2</sup> Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia  
2, Akkuratova street, Saint Petersburg, Russia, 197341  
E-mail: polyakova\_ea@yahoo.com

Received 29.04.21; accepted 16.07.21

### Summary

**Introduction.** The participation of soluble leptin receptor (SLR) in the formation of hyperleptinemia and leptin resistance in patients with coronary artery disease (CAD) in combination with obesity is discussed. **Aim.** Study of the role of SLR in the pathogenesis of ischemic heart disease. **Materials and methods.** A cohort study of 744 patients was performed: 465 patients with CAD (56 years old, Q1=44; Q3=62), 270 patients without CAD (52 years old, Q1=44; Q3=56). Methods: EchoCG, heart

computed tomography, coronary angiography. In the blood serum, the lipids, glucose, creatinine, uric acid, and c-reactive protein were assessed using a highly sensitive method (HF-CRP). Concentrations of SLR, leptin (LN), adiponectin (total and high molecular weight), fatty acid binding protein-4 (FABP-4) tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6), serum insulin were determined by enzyme immunoassay. *Results.* The level of SLR in blood serum in men and women with CAD is lower than in men without CAD ( $p < 0.001$ ). In CAD patients, obesity was associated with a low SLR level in the blood serum and a high free LN index. At a serum SLR concentration of  $< 7.5$  ng/ml in men with CAD, the incidence of obesity was higher simultaneously with signs of visceral obesity of the heart, the presence of atherosclerotic plaques in the common carotid arteries, high glycaemic levels, insulin, IL-6, and LN in serum, serum LN/adiponectin ratio and a high HOMA-IR index. Diabetes mellitus, visceral obesity, high levels of hs-CRP, TNF- $\alpha$ , FABP-4, serum insulin, and HOMA-IR index were more often detected in women with coronary artery disease with SLR  $< 10.2$  ng/ml. In men and women with CAD, there were no differences in SLR concentration depending on the extent of coronary atherosclerosis. *Conclusion.* An increase in the free LN index indicates the disruption of connections in the leptin-receptor system and reflects the mechanisms of compensation for overcoming the resistance of peripheral tissues to leptin, which is confirmed by a noticeable negative relationship between the levels of SLR and leptin in the serum of men with coronary artery disease. A low concentration of SLR in patients with CAD is associated with obesity, pro-atherogenic and pro-inflammatory markers of cardiovascular diseases.

**Keywords:** ischemic heart disease, soluble leptin receptor, leptin, atherosclerosis, inflammation, leptin resistance, insulin resistance

**For citation:** Polyakova E. A. The role of soluble leptin receptor in the pathogenesis of coronary heart disease. Regional hemodynamics and microcirculation. 2021;20(3):34–45. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-34-45.

## Введение

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) – это поражение миокарда, вызванное нарушением кровотока по коронарным артериям [1]. По данным Всемирной организации здравоохранения, Европейского кардиологического общества и Росстата, ИБС занимает ведущее место среди причин смертности, в том числе в Российской Федерации [1, 2].

Одной из причин развития и прогрессирования ИБС является высокая распространенность сопутствующего ожирения [3]. Ожирение характеризуется увеличением массы висцерального жира, снижением чувствительности периферических тканей к инсулину и гиперинсулинемией, которые вызывают нарушения липидного, углеводного и пуринового обменов, артериальную гипертензию [1, 4, 5]. Наряду с важной ролью инсулина, существуют и другие механизмы, приводящие к увеличению количества жировой ткани в организме и повышающие риск развития атеросклероза. Жировая ткань секретирует большое количество адипоцитокинов, многие из которых и, в частности, лептин (ЛН) влияют на чувствительность тканей к инсулину, воспаление, тромбогенез [4]. Исследования на экспериментальных животных показали прямую связь между увеличением массы жировой ткани и атерогенезом, обусловленную провоспалительными и протромбогенными эффектами лептина [6, 7].

Лептин – циркулирующий белок с молекулярной массой 16 кДа, состоящий из 167 аминокислот, продуцируемый преимущественно адипоцитами [8]. Лептин структурно гомологичен с фактором некроза опухолей альфа (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкином-6 (ИЛ-6), лейкоз-ингибирующим фактором, колониестимулирующим фактором гранулоцитов, гликопротеином 130 (gp130) и другими семействами цитокинов и, вследствие этого, считается цитокиноподобной субстанцией [8]. Лептин взаимодействует с рецептором на клеточной мембране, что приводит к образованию гомодимера. Рецептор к лептину – это трансмембранный белок, структурно гомологичный с семейством рецепторов к gp130. Известно пять изоформ рецеп-

торов к лептину – Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd и Ob-Re [8]. Растворимая изоформа рецепторов лептина циркулирует в сыворотке крови и выступает в роли лептин-связывающего белка. Описано, что у женщин данная изоформа рецептора экспрессируется в меньшей степени, чем у мужчин, что в некоторой степени может объяснять более высокую концентрацию свободного лептина в сыворотке крови у женщин [9–11]. До настоящего времени предметом исследований и обсуждений является участие растворимого рецептора лептина в формировании гиперлептинемии и лептинорезистентности у больных ИБС в сочетании с ожирением.

Исходя из этого, **целью** исследования стало изучение роли растворимого рецептора лептина (РРЛ) в патогенезе ишемической болезни сердца.

## Материалы и методы исследования

Работа одобрена Локальным этическим комитетом ПСПБГМУ им. И. П. Павлова, все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование выполнено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (в ред. 2013 г.).

*Дизайн исследования.* Проведено когортное исследование, в рамках которого выполнена оценка значения концентрации РРЛ и ЛН в патогенезе ИБС.

*Изучаемая выборка.* Обследованы 744 пациента, включая 465 больных ИБС, средний возраст которых составил 56 лет (Q1=44; Q3=62), из них 265 мужчин. В группу сравнения без ИБС вошли 270 пациентов, средний возраст составил 52 года (Q1=44; Q3=56), из них 160 мужчин, которые проходили обследование сердечно-сосудистой системы по иным причинам. 84 пациентам без ИБС была выполнена коронарная ангиография как этап подготовки к оперативному лечению клапанных пороков сердца. Больные ИБС были сопоставимы по возрасту с обследованными без ИБС ( $p=0,781$ ).

Критериями включения в группу больных ИБС были диагноз ИБС, доказанный клинически и под-

твержденный диагностическими тестами и коронарной ангиографией в соответствии с критериями European Society of Cardiology (ESC) и European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), 2014 г. Критерием включения больных ИБС в исследование также было наличие значимого поражения одной и более коронарных артерий, которое характеризовалось степенью стеноза более 60 % для ствола левой коронарной артерии и более 70 % – для других коронарных артерий. Пациенты с ИБС имели гемодинамически значимые стенозы коронарных артерий по данным коронароангиографии, требующие реваскуляризации миокарда (ангиопластика со стентированием или коронарное шунтирование), в соответствии с критериями EACTS.

Критерии не включения в исследование: инсульт в анамнезе, вторичный характер ожирения и артериальной гипертензии, злокачественное новообразование в анамнезе, хроническая обструктивная болезнь легких, хроническая болезнь почек с СКФ <60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, системное заболевание соединительной ткани, острая ревматическая лихорадка, тяжелая патология печени, инфекционный эндокардит, гипотиреоз и гипертиреоз, органические заболевания головного мозга, алкоголизм, наркомания.

Все пациенты с ИБС регулярно получали терапию антиагрегантами, бета-адреноблокаторами, ингибиторами АПФ/сартанами и ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы в соответствии с отечественными и зарубежными рекомендациями. Пациенты из группы сравнения подобной лекарственной терапии не получали. Анализ влияния лекарственной терапии на изучаемые показатели в данном исследовании не проводился.

**Методы обследования.** Лабораторное исследование сыворотки крови. Образцы крови собирали после 12-часового голода в вакуумные пробирки LIND-VAC (OÜ InterVacTechnology, Эстония), покрытые сухим активатором образования сгустка для ускорения свертывания крови, далее – центрифугировали 10 мин при комнатной температуре (3000 об./мин). Полученную сыворотку помещали в стерильные эппендорфы, затем хранили при температуре –80 °С до момента исследования. Стандартными биохимическими методами были определены концентрации показателей липидного спектра, глюкозы, креатинина, мочевой кислоты, С-реактивного белка (высокочувствительным методом) сыворотки крови. Концентрации РРЛ, ЛН, общего адипонектина и высокомолекулярного адипонектина (ВМАН), фактора некроза опухолей-альфа, интерлейкина-6, инсулина сыворотки крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы DRG (США).

Индекс свободного лептина рассчитывали как отношение концентрации ЛН крови (нг/мл) к концентрации РРЛ (нг/мл), умноженное на 100. Индекс инсулинорезистентности (НОМА-IR) рассчитывали по формуле малой модели гомеостаза [12]. Определение функциональной активности β-клеток поджелудочной железы (НОМА-FB) также проводили

по методу НОМА, предложенному D. Matthews et al. (1985).

Двухмерная эхокардиография (Эхо-КГ) сердца выполнена всем пациентам на ультразвуковом сканере экспертного класса GE VIVID 7 Dimension (GE, США), в том числе с определением параметров левого предсердия (ЛП), индекса массы миокарда (ИММ), толщины задней стенки левого желудочка (ТЗСЛЖ), толщины межжелудочковой перегородки (ТМЖП), фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ), определением толщины эпикардиальной жировой ткани (ЭЖТ) в предсердно-желудочковой борозде (ПЖБ), одновременно с дуплексным сканированием брахиоцефальных артерий и определением комплекса интима-медиа общих сонных артерий (КИМ ОСА).

Компьютерная томография (КТ) сердца без введения контраста выполнена на компьютерном томографе Optima CT660 (GE, США).

Всем больным ИБС была выполнена селективная коронароангиография (КАГ) на аппарате GE Innova 2100 (GE, США), для дифференциальной диагностики спазма коронарных артерий при необходимости интракоронарно вводился Sol. Nitroglycerini 1 % 5 мл в дозе до 0,6 мг.

Всем обследованным проведены измерения роста, веса, окружности талии (ОТ), рассчитаны индексы массы тела (ИМТ, кг/м<sup>2</sup>).

**Статистический анализ.** Статистический анализ данных проводили с использованием статистического пакета программ «SPSS», версия 17.0 (SPSS Inc., США). Для количественных показателей проверка вида распределения проводилась путем построения гистограмм распределения и с помощью критериев Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова. Так как подавляющее большинство количественных переменных в исследовании имело распределение, отличное от нормального, при их описании использовались медиана и квартили (Me (Q1; Q3)). Оценивая данные с нормальным распределением, использовали среднюю величину (M) и стандартное отклонение (SD); t-критерий Стьюдента.

Сравнение несвязанных количественных переменных проводили с помощью непараметрических критериев Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса, сравнение связанных (парных) количественных переменных проводили с использованием парного критерия Вилкоксона. Для статистического сравнения качественных переменных использовали критерий χ<sup>2</sup> Пирсона. Корреляция между изучаемыми параметрами и показателями ЭЖТ проводилась с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Различия результатов считали статистически значимыми при p < 0,05. С учетом эффекта множественных сравнений корректировка критического значения p была проведена с помощью формулы Бонферрони.

### Результаты исследования и их обсуждение

Основные клинические характеристики обследованных ИБС и без ИБС приведены в табл. 1.

Концентрация РРЛ в сыворотке крови у мужчин из группы сравнения без ИБС была ниже, чем у женщин,

Таблица 1

## Основные клинические характеристики обследованных

Table 1

## Clinical characteristics of subjects

Характеристика		ИБС (+), n=465	ИБС (-), n=270	Р
Возраст, лет Me (Q1; Q3)		56,0 (44,0; 62,0)	52,0 (44,0; 56,0)	0,781
Пол, n (%)	Мужчины	265 (57)	160 (59)	0,187
	Женщины	200 (43)	110 (41)	
Артериальная гипертензия, n (%)		414 (89)	32 (12)	<0,001
Сахарный диабет, n (%)		88 (19)	43 (16)	0,275
Креатинин крови, мкмоль/л		79,4±12,5	77,9±11,6	0,521
СКФ, мл/мин/1,73м <sup>2</sup>		83,5±10,2	87,5±9,7	0,098
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	Мужчины	27,3 (23,7; 31,4)	28,4 (25,6; 34,1)	0,738
	Женщины	30,3 (25,8; 33,0)	30,0 (27,6; 32,4)	0,891
ОТ, см	Мужчины	102,0 (94,0; 108,0)	101,0 (90,0; 110,0)	0,384
	Женщины	94,0 (85,0; 104,0)	96,7 (86,0; 107,0)	0,248

Таблица 2

## Концентрация растворимого рецептора лептина в сыворотке крови у больных ИБС различного возраста

Table 2

## Concentration of soluble leptin receptor in blood serum in CHD patients of different ages

Возраст, лет	n	РРЛ у мужчины, нг/мл	р	n	РРЛ у женщин, нг/мл	р
<50	43	8,1 (7,6; 8,9)	1,0	29	13,6 (9,4; 17,8)	0,503
≥50	222	8,3 (7,0; 9,7)		171	11,1 (8,9; 12,8)	

Таблица 3

## Концентрация лептина сыворотки крови у мужчин и женщин, больных ИБС, и в группе сравнения

Table 3

## Serum leptin concentration in men and women with coronary artery disease and in the comparison group

Исследуемая группа		Лептин, нг/мл	Р		Лептин, нг/мл	Р
		Мужчины			Женщины	
Группа сравнения	1	9,1±2,8	Р <sub>1-2</sub> =0,005	3	26,5±3,6	Р <sub>3-4</sub> =0,004; Р <sub>1-3</sub> =0,001; Р <sub>2-4</sub> =0,001
ИБС	2	14,8±3,2		4	38,1±4,2	

и составила 12,0 (11,0; 13,1) и 15,1 (13,1; 19,5) нг/мл, соответственно (р=0,007).

Концентрация растворимого рецептора лептина сыворотки крови у мужчин, больных ИБС, была также ниже, чем у женщин, больных ИБС, и составила 8,3 (7,2; 9,8) и 11,1 (8,9; 12,8) нг/мл соответственно (р<0,001).

Концентрация растворимого рецептора лептина в сыворотке крови у мужчин, больных ИБС, была ниже, чем у мужчин без ИБС (р<0,001). Женщины, страдающие ИБС, также имели меньший уровень растворимого рецептора лептина сыворотки крови по сравнению с женщинами без ИБС (р<0,001). В связи с выявленными гендерными особенностями, анализ показателей относительно концентрации раствори-

мого рецептора лептина в сыворотке крови проводили отдельно у мужчин и женщин.

Уровень РРЛ в сыворотке крови у мужчин и женщин, больных ИБС, разных возрастных групп значимо не различался (табл. 2).

У мужчин и женщин, больных ИБС, концентрация лептина в сыворотке крови была выше, чем у обследованных без ИБС (табл. 3). Концентрация лептина в сыворотке крови у женщин была выше, чем у мужчин во обеих исследуемых группах.

Уровень РРЛ так же, как и уровень его лиганда – лептина, в сыворотке крови у мужчин, больных ИБС, статистически значимо различался в зависимости от индекса массы тела. Так, наибольшая концентрация РРЛ и наименьшая концентрация лептина в сыворотке крови

**Концентрации лептина и его растворимого рецептора в сыворотке крови у больных ИБС с различными показателями индекса массы тела**

Table 4

**Concentrations of leptin and its soluble receptor in blood serum in CAD patients with different indices of body mass index**

ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	n	РРЛ, нг/мл	Лептин, нг/мл	Индекс свободного лептина
<i>Мужчины</i>				
<25	29	11,9 (7,5; 12,1)	4,0 (2,4; 9,7)	33,6 (19,3; 52,9)
25–29,9	141	8,7 (7,3; 9,7)	5,9 (3,2; 8,8)	67,8 (35,2; 88,0)
≥30	95	7,6 (6,9; 8,2)	10,1 (5,1; 14,1)	132,9 (89,2; 190,4)
p		0,031 P <sub>1-2</sub> =0,028; P <sub>2-3</sub> =0,049; P <sub>1-3</sub> =0,024	0,025 P <sub>1-2</sub> =0,017; P <sub>2-3</sub> =0,059; P <sub>1-3</sub> =0,012	0,002 P <sub>1-2</sub> =0,031; P <sub>2-3</sub> =0,011; P <sub>1-3</sub> <0,001
<i>Женщины</i>				
<25	45	13,8 (11,7; 14,7)	14,2 (12,2; 17,9)	102,9 (63,8; 140,1)
25–29,9	71	11,2 (9,2; 12,4)	18,5 (12,5; 23,85)	165,1 (111,5; 218,3)
≥30	84	9,4 (8,7; 11,1)	44,5 (26,7; 61,0)	473,4 (391,7; 580,3)
p		0,041 P <sub>4-5</sub> =0,062; P <sub>5-6</sub> =0,051; P <sub>4-6</sub> =0,037	0,007 P <sub>4-5</sub> =0,049; P <sub>5-6</sub> =0,004; P <sub>4-6</sub> <0,001	0,004 P <sub>4-5</sub> =0,019; P <sub>5-6</sub> <0,001; P <sub>4-6</sub> <0,001

Таблица 5

**Концентрации лептина и его растворимого рецептора в сыворотке крови у больных ИБС с различными показателями окружности талии**

Table 5

**Concentrations of leptin and its soluble receptor in blood serum in CAD patients with different indicators of waist circumference**

Окружность талии, см	n	РРЛ, нг/мл	p	Лептин, нг/мл	p	Индекс свободного лептина	p
<i>Мужчины</i>							
<94	54	10,7 (8,8; 12,0)	0,031	5,3 (2,3; 12,7)	0,009	49,5 (38,1; 61,4)	<0,001
≥94	211	8,0 (7,0; 9,3)		10,3 (5,7; 17,1)		128,8 (64,0; 149,9)	
<i>Женщины</i>							
<80	32	13,0 (11,7; 13,8)	0,051	23,7 (15,6; 45,3)	0,078	182,3 (135,9; 227,1)	0,007
≥80	168	10,6 (8,9; 12,6)		32,7 (19,7; 41,8)		308,5 (231,4; 399,1)	

были выявлены у мужчин, больных ИБС, с нормальным ИМТ. Тогда как у мужчин с ожирением (ИМТ ≥30 кг/м<sup>2</sup>) концентрация РРЛ была наименьшей, а концентрация лептина в сыворотке крови – наибольшей. Индекс свободного лептина статистически значимо увеличивается с ростом ИМТ (табл. 4).

Вместе с тем наибольшая концентрация РРЛ и наименьшая концентрация лептина в сыворотке крови были выявлены у женщин, больных ИБС, с нормальным ИМТ. Тогда как у женщин с ожирением (ИМТ ≥30 кг/м<sup>2</sup>) концентрация РРЛ была наименьшей, а концентрация лептина в сыворотке крови – наибольшей. Так же, как и у мужчин, больных ИБС, у женщин индекс свободного лептина был статистически значимо выше при более высоких значениях ИМТ (табл. 4).

У мужчин, больных ИБС, концентрации лептина и его растворимого рецептора в сыворотке крови были исследованы в зависимости от окружности талии. Увеличение окружности талии у мужчин ≥94 см и у женщин ≥80 см (по критериям International Diabetes Federation, 2005 г.) отражает наличие абдоминального ожирения (АО). Так, у мужчин, больных ИБС, в сочетании с абдоминальным ожирением концентрация РРЛ в сыворотке крови была статистически значимо ниже, а лептина – значимо выше, чем у обследованных без АО. Индекс свободного лептина у мужчин был статистически значимо выше при сочетании ИБС с АО (табл. 5). У женщин значимых различий по концентрации РРЛ в сыворотке крови у женщин в зависимости от наличия АО не выявлено. Вместе с тем концентрация лептина в сыворотке крови была

## Показатели структурного и функционального состояния сердца и сосудов у больных ИБС в зависимости от концентрации растворимого рецептора лептина в сыворотке крови

Table 6

## Indicators of the structural and functional state of the heart and blood vessels in CAD patients, depending on the concentration of soluble leptin receptor in serum

Показатель	РРЛ <7,5 нг/мл, n=94 (1 тертиль)	РРЛ 7,6–9,3 нг/мл, n=85 (2 тертиль)	РРЛ >9,4 нг/мл, n=86 (3 тертиль)	P
<i>Мужчины</i>				
Число больных, n	94	85	86	–
ФВЛЖ по Симпсон, %	53,5 (49,0; 64,0)	61,0 (58,0; 65,0)	58,0 (56,0; 65,0)	0,134
Объем ЭЖТ (КТ), см <sup>3</sup>	187,9 (146,2; 219,3)	180,5 (163,0; 198,0)	131,5 (128,7; 155,9)	0,030 P <sub>1-2</sub> =0,427; P <sub>2-3</sub> =0,019; P <sub>1-3</sub> =0,012
Толщина ЭЖТ в ПЖБ (КТ), мм	9,8 (9,1; 10,7)	7,1 (5,8; 9,1)	7,0 (4,6; 9,4)	0,056
Толщина ЭЖТ в ПЖБ (Эхо-КГ), мм	10,4 (6,9; 13,9)	8,2 (5,3; 10,7)	6,4 (4,3; 8,5)	0,046 P <sub>1-2</sub> =0,099; P <sub>2-3</sub> =0,062; P <sub>1-3</sub> =0,037
ТЗСЛЖ, мм	11,0 (10,0; 12,0)	12,0 (11,0; 13,0)	10,9 (9,8; 12,8)	0,649
ТМЖП, мм	11,0 (10,0; 12,0)	12,0 (11,5; 12,5)	10,1 (8,9; 11,9)	0,286
ИММ, г/м <sup>2</sup>	117,5 (109,0; 131,0)	111,5 (98,0; 122,0)	100,0 (99,0; 119,0)	0,411
Индекс объема ЛП, мл/м <sup>3</sup>	44,0 (33,0; 51,0)	37,0 (34,0; 41,0)	38,5 (35,0; 48,0)	0,570
КИМ ОСА, мм	1,1 (0,9; 1,3)	1,1 (0,8; 1,3)	0,7 (0,7; 0,9)	0,052
АТБ в сонных артериях, % от числа больных в группе	94,0	70,6	66,7	0,042 P <sub>1-2</sub> =0,052; P <sub>2-3</sub> =0,129; P <sub>1-3</sub> =0,022
<i>Женщины</i>				
Число больных, n	81	60	59	–
ФВЛЖ по Симпсон, %	50,5 (43,0; 62,0)	62,0 (56,5; 66,5)	52,0 (43,4; 60,6)	0,131
Объем ЭЖТ (КТ), см <sup>3</sup>	179,8 (153,9; 181,8)	159,3 (153,9; 162,6)	132,5 (128,3; 136,7)	0,029 P <sub>1-2</sub> =0,057; P <sub>2-3</sub> =0,041; P <sub>1-3</sub> =0,011
Толщина ЭЖТ в ПЖБ (КТ), мм	9,0 (8,7; 10,3)	6,6 (5,5; 8,7)	6,2 (5,1; 7,3)	0,071
Толщина ЭЖТ в ПЖБ (Эхо-КГ), мм	9,4 (6,4; 13,4)	7,1 (4,8; 9,4)	5,9 (4,0; 7,8)	0,063
Толщина ЭЖТ над ПЖ (КТ), мм	6,9 (6,6; 7,2)	6,2 (4,9; 7,7)	5,2 (4,5; 7,1)	0,104
Толщина ЭЖТ над ПЖ (Эхо-КГ), мм	7,0 (4,7; 9,3)	6,5 (4,4; 8,6)	5,5 (3,7; 7,3)	0,085
ТЗСЛЖ, мм	10,8 (9,8; 12,9)	10,0 (9,2; 11,0)	10,0 (9,4; 11,0)	0,376
ТМЖП, мм	10,1 (9,5; 11,6)	10,0 (9,2; 10,2)	10,0 (9,4; 11,0)	0,662
ИММ, г/м <sup>2</sup>	119,5 (96,0; 133,0)	110,0 (95,0; 116,0)	112,0 (104,0; 125,0)	0,379
Индекс объема ЛП, мл/м <sup>3</sup>	38,0 (35,0; 45,5)	37,0 (34,0; 45,0)	33,0 (31,0; 41,0)	0,324
КИМ ОСА, мм	0,9 (0,9; 1,1)	0,9 (0,8; 0,9)	0,8 (0,8; 1,2)	0,842
АТБ в сонных артериях, % от числа больных в группе	61,5	71,4	64,3	0,906

статистически значимо выше у женщин, больных ИБС, в сочетании с АО. Индекс свободного лептина у женщин, так же, как и у мужчин, был статистически значимо выше при сочетании ИБС с АО (табл. 5).

Изучение показателей структурного и функционального состояния сердца и сосудов у больных ИБС

было проведено в зависимости от концентрации растворимого рецептора лептина в сыворотке крови, разделенной на тертили (табл. 6). У мужчин, больных ИБС, с более низкой концентрацией РРЛ в сыворотке крови обращают на себя внимание значимо более высокие показатели объема ЭЖТ (по данным

Показатели сыворотки крови, отражающие углеводный и липидный обмен, хроническое воспаление, гормоны жировой ткани у больных ИБС в зависимости от концентрации растворимого рецептора лептина в сыворотке крови

Table 7

Serum indicators reflecting carbohydrate and lipid metabolism, chronic inflammation, hormones of adipose tissue in CAD patients, depending on the concentration of soluble leptin receptor in blood serum

Показатель	РРЛ <7,5 нг/мл (1 тертиль)	РРЛ 7,6–9,3 нг/мл (2 тертиль)	РРЛ >9,4 нг/мл (3 тертиль)	Р
<i>Мужчины</i>				
Число больных, n	94	85	86	–
Глюкоза, ммоль/л	6,9 (4,6; 9,2)	5,25 (5,0; 6,2)	5,3 (4,9; 5,8)	0,035 P <sub>1-2</sub> =0,031; P <sub>2-3</sub> =0,378; P <sub>1-3</sub> =0,037
Мочевая кислота, мкмоль/л	360,0 (314,0; 390,0)	370,0 (337,5; 400,0)	346,0 (320,0; 410,0)	0,163
Инсулин, мкМЕ/мл	17,0 (11,4; 22,6)	10,4 (6,7; 13,8)	5,5 (2,6; 9,0)	0,020 P <sub>1-2</sub> =0,051; P <sub>2-3</sub> =0,058; P <sub>1-3</sub> =0,017
НОМА-IR	1,8 (1,3; 2,4)	1,1 (0,5; 2,2)	0,7 (0,4; 0,9)	0,039 P <sub>1-2</sub> =0,057; P <sub>2-3</sub> =0,065; P <sub>1-3</sub> =0,012
НОМА-FB	58,6 (56,9; 87,2)	58,7 (24,0; 87,1)	66,6 (34,6; 110,0)	0,091
Общий холестерин (ХС), ммоль/л	4,9 (3,6; 5,3)	5,0 (3,1; 6,1)	4,5 (4,1; 5,5)	0,703
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,26 (1,1; 1,46)	1,1 (1,2; 1,36)	1,17 (1,16; 1,58)	0,215
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,2 (1,37; 3,26)	2,42 (1,9; 3,3)	2,4 (1,9; 3,3)	0,786
Триглицериды, ммоль/л	1,4 (1,1; 1,6)	1,9 (1,25; 2,6)	1,62 (0,99; 2,25)	0,173
ВЧ-СРБ, мг/л	3,0 (2,0; 5,2)	3,0 (1,5; 3,0)	3,0 (1,2; 3,2)	0,636
Лептин, нг/мл	14,7 (9,7; 19,8)	4,7 (3,1; 10,3)	5,1 (2,5; 7,3)	0,027 P <sub>1-2</sub> =0,019; P <sub>2-3</sub> =0,195; P <sub>1-3</sub> =0,029
Адипонектин, нг/мл	8,9 (5,9; 17,0)	8,7 (6,9; 22,1)	8,9 (7,37; 18,5)	0,746
ВМАН, нг/мл	1,2 (0,35; 1,5)	2,4 (1,5; 3,9)	2,0 (1,14; 2,4)	0,055
Соотношение «лептин/адипонектин», кровь	1,4 (0,9; 1,9)	0,5 (0,2; 0,9)	0,5 (0,2; 0,7)	0,060
Оментин-1, нг/мл	6,7 (3,8; 9,8)	7,3 (4,4; 10,8)	7,7 (6,1; 11,3)	0,164
FAVR-4, нг/мл	80,1 (63,2; 106,3)	71,8 (60,9; 100,7)	70,0 (49,2; 110,3)	0,085
ИЛ-6, нг/мл	7,0 (4,9; 11,0)	4,6 (3,5; 5,7)	4,2 (2,7; 5,5)	0,035 P <sub>1-2</sub> =0,059; P <sub>2-3</sub> =0,517; P <sub>1-3</sub> =0,011
ФНО-α, нг/мл	50,3 (33,0; 77,35)	65,7 (4,1; 94,7)	50,35 (2,5; 87,9)	0,388
<i>Женщины</i>				
Число больных, n	81	60	59	–
Глюкоза, ммоль/л	6,6 (4,3; 8,9)	5,9 (5,2; 6,7)	5,6 (5,4; 6,1)	0,052
Мочевая кислота, мкмоль/л	359,0 (328,0; 420,0)	298,5 (230,0; 393,5)	391,0 (238,5; 428,0)	0,721
Инсулин, мкМЕ/мл	14,4 (7,4; 22,6)	7,3 (4,3; 8,4)	7,8 (6,5; 8,6)	0,017 P <sub>1-2</sub> =0,004; P <sub>2-3</sub> =0,755; P <sub>1-3</sub> =0,005
НОМА-IR	3,2 (1,7; 5,5)	1,8 (1,1; 2,1)	1,8 (1,6; 2,2)	0,031 P <sub>1-2</sub> =0,020; P <sub>2-3</sub> =0,896; P <sub>1-3</sub> =0,021

Показатель	PPJ <7,5 нг/мл (1 тертиль)	PPJ 7,6–9,3 нг/мл (2 тертиль)	PPJ >9,4 нг/мл (3 тертиль)	p
НОМА-FB	92,9 (59,0; 125,8)	69,5 (34,2; 79,2)	74,3 (49,4; 99,5)	0,034 P <sub>1-2</sub> =0,013; P <sub>2-3</sub> =0,087; P <sub>1-3</sub> =0,028
ОХ, ммоль/л	4,5 (4,2; 4,7)	4,6 (4,0; 6,6)	4,6 (4,4; 7,6)	0,685
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,4 (1,1; 1,5)	1,4 (1,2; 1,5)	1,2 (1,2; 1,7)	0,852
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,2 (2,0; 4,4)	2,1 (2,0; 4,4)	2,6 (2,3; 3,2)	0,571
Триглицериды, ммоль/л	1,3 (1,2; 1,6)	2,0 (1,1; 2,3)	1,6 (1,3; 2,0)	0,410
ВЧ-СРБ, мг/л	10,2 (3,7; 20,6)	4,8 (3,0; 8,5)	3,0 (2,0; 3,9)	0,025 P <sub>1-2</sub> =0,038; P <sub>2-3</sub> =0,419; P <sub>1-3</sub> =0,006
Лептин, нг/мл	31,7 (13,4; 48,2)	25,8 (16,7; 38,9)	18,8 (12,5; 23,7)	0,029 P <sub>1-2</sub> =0,078; P <sub>2-3</sub> =0,091; P <sub>1-3</sub> =0,010
Адипонектин, нг/мл	23,1 (11,3; 27,5)	30,8 (10,8; 47,8)	29,3 (19,7; 39,1)	0,089
ВМАН, нг/мл	2,4 (1,7; 3,6)	3,9 (1,9; 4,9)	2,1 (1,6; 2,9)	0,135
Соотношение «лептин/адипонектин» кровь	1,4 (1,1; 4,7)	0,8 (0,5; 2,3)	0,7 (0,5; 0,9)	0,102
Оментин-1, нг/мл	6,4 (3,4; 7,6)	10,9 (9,4; 18,0)	14,3 (10,7; 19,2)	0,014 P <sub>1-2</sub> =0,057; P <sub>2-3</sub> =0,084; P <sub>1-3</sub> =0,007
FABP-4, нг/мл	165,7 (100,0; 232,2)	143,7 (107,2; 303,3)	71,5 (51,2; 107,8)	0,019 P <sub>1-2</sub> =0,067; P <sub>2-3</sub> =0,017; P <sub>1-3</sub> =0,012
ИЛ-6, нг/мл	5,8 (5,4; 18,7)	5,4 (3,5; 8,5)	3,8 (2,2; 6,1)	0,069
ФНО-α, нг/мл	86,2 (12,7; 140,9)	46,5 (19,0; 93,8)	25,4 (13,9; 94,7)	0,021 P <sub>1-2</sub> =0,035; P <sub>2-3</sub> =0,067; P <sub>1-3</sub> =0,003

КТ сердца), толщины ЭЖТ в ПЖБ (по данным Эхо-КГ), а также более высокая частота встречаемости атеросклеротических бляшек (АТБ) в общих сонных артериях. При анализе других показателей структурного и функционального состояния сердца и сосудов значимых различий выявлено не было (табл. 6).

Изучение показателей структурного и функционального состояния сердца и сосудов у женщин, больных ИБС, показало, что при с концентрации PPJ в сыворотке крови менее 10,2 нг/мл объем ЭЖТ (по данным КТ) больше, чем у пациенток с концентрацией PPJ более 10,3 нг/мл. При анализе других показателей значимых различий выявлено не было (табл. 6).

Содержание показателей сыворотки крови, отражающих углеводный и липидный обмен, хроническое воспаление, а также гормонов жировой ткани у мужчин, больных ИБС, изучено в зависимости от концентрации растворимого рецептора лептина в сыворотке крови, также разделенной на тертили (табл. 7). Так, обследованные с более низкой концентрацией PPJ в сыворотке крови (менее 7,5 нг/мл)

имели значимые различия показателей углеводного обмена, которые выражались в более высокой концентрации глюкозы и инсулина сыворотки крови, более высоком индексе НОМА-IR, чем при уровне PPJ более 9,4 нг/мл. Также пациентам мужского пола, выделенным в первый тертиль по уровню концентрации PPJ, были свойственны более высокий уровень лептина сыворотки крови и соотношения «лептин/адипонектин» сыворотки крови. Особенностью пациентов-мужчин с уровнем PPJ в сыворотке крови менее 7,5 нг/мл было и более высокое содержание интерлейкина-6 в крови (табл. 7).

В то время как у женщин с более низкой концентрацией PPJ в сыворотке крови (менее 10,2 нг/мл) выявлены значимо более высокий уровень инсулина сыворотки крови, более высокий индекс НОМА-IR, показатель которого в данном наблюдении составил 3,2 (1,7; 5,5), что соответствует наличию инсулинорезистентности, а также в первом тертиле был более высокий индекс и НОМА-FB, чем при уровне PPJ более 10,3 нг/мл. Также пациентам женского пола с

## Концентрация растворимого рецептора лептина в сыворотке крови у мужчин и женщин, больных ИБС, со стенозами 1–2, 3 и более коронарных артерий и в группе сравнения без ИБС

Table 8

## Concentration of soluble leptin receptor in blood serum of men and women with CAD with stenoses of 1–2, 3 or more coronary arteries and in the comparison group without CAD

Исследуемая группа	№ группы	n	РРЛ, нг/мл		p	№ группы	n	РРЛ, нг/мл		p
			Мужчины	Женщины						
Группа сравнения без ИБС	1	46	12,9 (11,2; 16,1)		P <sub>1-2</sub> =0,002	6	38	14,9 (12,3; 17,9)		P <sub>6-7</sub> =0,002; P <sub>1-6</sub> =0,009; P <sub>2-7</sub> <0,001
ИБС, все стенозы	2	198	8,4 (7,4; 9,9)			7	145	11,2 (9,0; 12,9)		
Группа сравнения	3	46	12,9 (11,2; 16,1)		P <sub>3-4</sub> =0,003; P <sub>4-5</sub> =0,927; P <sub>3-5</sub> =0,002	8	38	14,9 (12,3; 17,9)		P <sub>8-9</sub> =0,002; P <sub>9-10</sub> =0,943; P <sub>8-10</sub> =0,002
ИБС, стеноз 1–2 коронарных артерий >70 %	4	86	8,8 (7,3; 10,1)			9	78	11,3 (10,3; 13,9)		
ИБС, стеноз 3 и более коронарных артерий >70 %	5	112	8,2 (7,4; 9,6)			10	67	10,5 (8,9; 12,6)		

концентрацией РРЛ менее 12,3 нг/мл был свойственен более высокий уровень лептина сыворотки. Особенностью женщин, больных ИБС, с уровнем РРЛ в сыворотке крови менее 10,2 нг/мл было и более высокое содержание маркеров хронического воспаления, таких как ВЧ-СРБ и ФНО- $\alpha$ . У женщин, больных ИБС, с наиболее высокой концентрацией РРЛ выявлен значимо более высокий уровень антиатерогенного адипокина – оментина-1 – в сыворотке крови и, вместе с тем, более низкая концентрация проатерогенного маркера – ФАВР-4 (табл. 7).

При проведении корреляционного анализа выявлен ряд статистически значимых связей между уровнем РРЛ и изучаемыми показателями у мужчин и женщин, больных ИБС.

У мужчин выявлен ряд связей между уровнем РРЛ и следующими показателями: заметная обратная связь с лептином сыворотки крови ( $r=-0,520$ ,  $p=0,021$ ); умеренная обратная связь с возрастом ( $r=-0,349$ ,  $p=0,011$ ); умеренная обратная связь с массой тела ( $r=-0,326$ ,  $p=0,018$ ); заметная обратная связь с ОТ ( $r=-0,537$ ,  $p<0,001$ ); умеренная обратная связь с ИМТ ( $r=-0,431$ ,  $p=0,001$ ).

У женщин выявлен ряд связей между уровнем РРЛ и следующими показателями: заметная обратная связь с уровнем инсулина ( $r=-0,549$ ,  $p=0,015$ ) и индексом НОМА ( $r=-0,621$ ,  $p=0,009$ ); умеренная обратная связь с возрастом ( $r=-0,466$ ,  $p=0,002$ ); заметная обратная связь с массой тела ( $r=-0,537$ ,  $p<0,001$ ); умеренная обратная связь с окружностью талии ( $r=-0,486$ ,  $p<0,001$ ); заметная обратная связь с ИМТ ( $r=-0,628$ ,  $p<0,001$ ); заметная обратная связь со средней толщиной КИМОСА ( $r=-0,669$ ,  $p=0,014$ ).

Индекс свободного лептина в подгруппе мужчин заметно и прямо коррелировал ХС ЛПНП сыворотки крови ( $r=0,594$ ,  $p=0,027$ ), а также с окружностью талии ( $r=0,622$ ,  $p<0,001$ ).

У женщин, больных ИБС, индекс свободного лептина прямо коррелировал с окружностью талии,

сила связи умеренная ( $r=0,486$ ,  $p=0,014$ ), и с высокой силой связи с индексом НОМА-IR ( $r=0,768$ ,  $p<0,001$ ).

Учитывая полученные выше данные, была исследована концентрация РРЛ в сыворотке крови у мужчин и женщин, больных ИБС, в зависимости от тяжести коронарного атеросклероза, а именно – у больных с гемодинамически значимыми стенозами 1–2, 3 и более коронарных артерий и в группе сравнения без ИБС. В анализ были включены только те обследованные, которым, кроме определения в сыворотке крови РРЛ, была выполнена КАГ (табл. 8). Концентрация РРЛ в сыворотке крови у мужчин из группы сравнения без ИБС была значимо ниже, чем у женщин. Концентрация РРЛ сыворотки крови у мужчин, больных ИБС, была также значимо ниже, чем у женщин, больных ИБС. Концентрация РРЛ в сыворотке крови у мужчин, больных ИБС была ниже, чем у мужчин без ИБС. Женщины, страдающие ИБС, также имели меньший уровень РРЛ сыворотки крови по сравнению с женщинами без ИБС. Как у мужчин, так и у женщин, больных ИБС, различий по концентрации РРЛ в зависимости от числа пораженных атеросклерозом КА не было (табл. 8).

Проведенное исследование показало, что концентрация растворимого рецептора лептина в сыворотке крови у больных ИБС значимо ниже, чем у обследованных без ИБС, а также ниже у мужчин, чем у женщин. Гендерные особенности различий концентрации РРЛ в крови согласуются с данными более ранних исследований [9]. Однако данные о снижении уровня РРЛ в крови у больных ИБС противоречивы. Так, по данным более раннего исследования [10], у пациентов с ангиографически установленной ИБС только концентрация лептина оказалась значительно ниже, различий же в концентрации РРЛ выявлено не было. В последующих работах появились данные о негативном метаболическом влиянии низкой концентрации РРЛ, которое сопровождалось резистентностью к инсулину и снижением функциональной

активности  $\beta$ -клеток поджелудочной железы на модели гомеостаза [11], которые являются независимыми факторами риска развития атеросклероза [12].

Настоящее исследование выявило снижение концентрации РРЛ одновременно с увеличением ИМТ как у мужчин, так и у женщин, что может являться причиной развития не только инсулинорезистентности, но и развития резистентности к лептину, прогрессированию их метаболически негативных эффектов и атеросклероза, что согласуется с данными более ранних исследований [9, 12].

В представленной работе у больных ИБС степень увеличения жировой массы тела, выражаемая в более высоких показателях ИМТ и окружности талии, а значит, и наличие ожирения ассоциировались с более низкими показателями РРЛ в сыворотке крови и более высоким индексом свободного лептина. Повышение индекса свободного лептина отражает нарушение связей в системе «лептин – рецептор» и отражает механизмы компенсации для преодоления резистентности периферических тканей к лептину, что подтверждается заметной отрицательной связью между уровнями РРЛ и лептина в сыворотке крови у мужчин с ИБС. Известно, что связанная с ожирением гиперлептинемия является причиной развития нечувствительности к лептину, т. е. лептинорезистентности. На протяжении многих лет исследователями вычисляется индекс свободного лептина, точно отражающий баланс в системе «лептин – рецептор» [13]. Данная работа свидетельствует о том, что расчетный индекс свободного лептина может быть использован для объективной оценки лептинорезистентности у мужчин и женщин, больных ИБС, независимо от наличия ожирения.

Учитывая, что все включенные в исследование больные ИБС имели абсолютные показания и получали лечение ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы, а обследованные из группы сравнения не имели показаний и не получали подобную терапию, необходимо упомянуть, что, по данным литературы [14, 15], терапия статинами приводит к снижению концентрации лептина в крови и значимо не влияет на концентрацию его растворимого рецептора. Однако данный эффект статинов не имеет существенного клинического значения, так как описанное снижение уровня лептина недостаточно для подавления его негативного метаболического влияния, что явно показано в данной работе при сравнении с пациентами группы сравнения.

Описано, что статин-зависимое снижение лептина в крови обусловлено подавлением экспрессии мРНК лептина в адипоцитах белой жировой ткани не зависит от действующего вещества и дозы ингибитора ГМГ-КоА-редуктазы. Эффект достигается, в первую очередь, опосредованно через внеклеточные регулируемые сигнальные киназные пути и систему гамма-рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом [14]. Нужно помнить, что одно из главных свойств лептина – регуляция пищевого поведения и достижение чувства насыщения [8, 11], следовательно, статин-зависимое снижение лептина в какой-то мере может способствовать подавлению чувства

насыщения и увеличению потребления пищи, что создает порочный круг поддержания жировой массы тела и повышенной концентрации лептина [14] и его негативных метаболических эффектов на фоне терапии статинами по сравнению с группой сравнения.

При анализе данных также было выявлено, что при концентрации РРЛ в сыворотке крови менее 7,5 нг/мл у мужчин, больных ИБС, частота встречаемости АО возрастает одновременно с увеличением объема и толщины ЭЖТ (один из типов висцерального жира) и более высокой частотой встречаемости атеросклеротических бляшек в общих сонных артериях. Необходимо отметить, что адипоциты эпикардальной жировой ткани отличаются выраженным провоспалительным профилем секреции, который оказывает непосредственное варокринное и паракринное влияние на миокард и коронарные артерии, так как между эпикардальным жиром и тканями сердца отсутствует разделительная фасция [16, 17].

Одновременно с этим, по данным проведенного исследования, при более низком содержании РРЛ в сыворотке крови у мужчин, больных ИБС, были также выявлены более высокие концентрации глюкозы, инсулина, интерлейкина-6, лептина сыворотки крови, соотношения «лептин/адипонектин» сыворотки крови и более высокий индекс НОМА-IR. Подобные наблюдения других авторов [18] заставляют обсуждать взаимосвязь низкого содержания РРЛ в крови с риском развития и прогрессирования атеросклероза и признать снижение этого показателя звеном атерогенного каскада.

По результатам данного исследования, у женщин, больных ИБС, с концентрацией РРЛ менее 10,2 нг/мл выявлена большая частота встречаемости сахарного диабета (СД) и выявлен наибольший объем ЭЖТ, тогда как у пациенток с концентрацией РРЛ в сыворотке крови более >12,4 нг/мл частота СД была наименьшей. Также женщины, больные ИБС, с концентрацией РРЛ менее 10,2 нг/мл отличались более высоким уровнем ВЧ-СРБ, ФНО- $\alpha$ , FАВР-4, инсулина сыворотки крови и инсулинорезистентностью. Гиперинсулинемия стимулирует синтез лептина адипоцитами белой жировой ткани, который, в свою очередь, подавляет секрецию инсулина поджелудочной железой, стимулирует выработку провоспалительных факторов фибробластами и гепатоцитами, а также подавляет регуляцию лептиновых рецепторов в гипоталамусе [19]. Таким образом, снижение активности рецепторов лептина может быть обусловлено гиперинсулинемией и резистентностью к инсулину [19]. Данная взаимосвязь подтверждена в данной работе отрицательной связью между уровнем РРЛ и содержанием в сыворотке крови лептина, инсулина и индексом НОМА-IR.

Вместе с тем, по полученным данным, у женщин, больных ИБС, с наиболее высокой концентрацией РРЛ в крови и менее выраженным ожирением уровень антиатерогенного адипокина – оментина-1 – в сыворотке крови был значимо выше. Среди причин прогрессирования атеросклероза при ИБС многими авторами обсуждается дисбаланс синтеза адипокинов при ожирении [10, 13, 17].

Несмотря на то, что, по полученным данным, концентрация РРЛ в сыворотке крови у больных ИБС была значимо ниже, чем у обследованных без ИБС, различий по концентрации РРЛ в зависимости от выраженности атеросклероза КА выявлено не было, что согласуется с данными более раннего исследования [10].

### Заключение

Снижение концентрации растворимых рецепторов лептина в сыворотке крови у больных ИБС зависит от увеличения степени абдоминального ожирения у мужчин и эпикардального ожирения у мужчин и женщин, а также может быть причиной развития и прогрессирования инсулинорезистентности, резистентности к лептину, хронического воспаления. Низкая концентрация РРЛ у больных ИБС ассоциируется с ожирением, проатерогенными и провоспалительными маркерами сердечно-сосудистых заболеваний.

Повышение индекса свободного лептина отражает нарушение связей в системе «лептин – рецептор» и отражает механизмы компенсации для преодоления резистентности периферических тканей к лептину, что подтверждается заметной отрицательной связью между уровнями лептина и его растворимых рецепторов в сыворотке крови у мужчин, больных ИБС. Как у мужчин, так и у женщин, больных ИБС, различий по концентрации растворимых рецепторов лептина в зависимости от числа пораженных атеросклерозом коронарных артерий не было.

Вместе с тем ограничением данного исследования является относительно небольшая выборка пациентов, которая, однако, позволила статистически идентифицировать значимость низкой концентрации растворимых рецепторов лептина в патогенезе ИБС. Также пациенты с ИБС, включенные в это исследование, имели значимое поражение коронарных артерий атеросклерозом, поэтому представляют собой лишь небольшую часть больных, и наши результаты не могут распространяться на больных ИБС с клинически незначимым коронарным атеросклерозом. Поэтому необходимы дальнейшие фундаментальные и клинические исследования патогенеза ИБС и развития осложнений, которые послужат основой для разработки персонализированных подходов к лечению.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

### Благодарности / Acknowledgements

Автор выражает признательность за оказанную помощь в осуществлении работы сотрудникам ФГБОУ ВО «ПСПБГМУ им. И. П. Павлова» Елене Николаевне Ляпиной, врачу-радиологу отделения лучевой диагностики; Сергею Евгеньевичу Нифонтову, врачу отделения функциональной диагностики клиники факультетской терапии; Алексею Владимировичу Бирюкову, канд. мед. наук, заведующему отделением рентгенохирургических методов диагностики и лечения № 1. / The author thanks Dr. E. N. Lyapina, S. E. Nifontov, A. V. Biryukov for invaluable technical assistance.

### Литература / References

1. Shahjehan RD, Bhutta BS. Coronary Artery Disease. 2021 Feb 7. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021:33231974.
2. Концепция развития системы здравоохранения в Российской Федерации до 2020 г. URL: <http://federalbook.ru/files/FSZ/soderghanie/Tom %2012/1-9.pdf> (дата обращения: 21.05.2021). [Konceptiya razvitiya sistemy zdavoohraneniya v Rossijskoj Federacii do 2020 g. Available at: <http://federalbook.ru/files/FSZ/soderghanie/Tom %2012/1-9.pdf> (accessed: 21.05.2021)].
3. Dwivedi AK, Dubey P, Cistola DP, Reddy SY. Association Between Obesity and Cardiovascular Outcomes: Updated Evidence from Meta-analysis Studies // *Curr Cardiol Rep.* 2020;22(4):25. Doi: 10.1007/s11886-020-1273-y.
4. Buschmann K, Wrobel J, Chaban R, Rösch R, Ghazy A, Hanf A, Schäfer K, Daiber A, Beiras-Fernandez A, Vahl CF. Body Mass Index (BMI) and Its Influence on the Cardiovascular and Operative Risk Profile in Coronary Artery Bypass Grafting Patients: Impact of Inflammation and Leptin // *Oxid Med Cell Longev.* 2020:5724024. Doi: 10.1155/2020/5724024.
5. Полякова Е. А., Нифонтов С. Е., Бутомо М. И. и др. Возможности ультразвукового метода исследования эпикардальной жировой ткани у пациентов с ишемической болезнью сердца при различной тяжести поражения коронарных артерий // *Атеросклероз и дислипидемии.* – 2019. – Т. 4, № 37. – С. 54–63. [Polyakova EA, Nifontov SE, Butomo MI, Berkovich OA, Baranova EI. Possibilities of an ultrasound method for studying epicardial adipose tissue in patients with coronary heart disease with varying severity of coronary artery disease. *Ateroskleroz i dyslipidemii.* 2019;4(37):54–63. (In Russ.)]. Doi: 10.34687/2219-8202.JAD.2019.04.0006
6. Ganguly R, Khanal S, Mathias A, Gupta S, Lallo J, Sahu S, Ohanyan V, Patel A, Storm K, Datta S, Raman P. TSP-1 (Thrombospondin-1) Deficiency Protects ApoE<sup>-/-</sup> Mice Against Leptin-Induced Atherosclerosis // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020. 17:ATVBAHA120314962. Doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314962.
7. Sithu SD, Malovichko MV, Riggs KA, Wickramasinghe NS, Winner MG, Agarwal A, Hamed-Berair RE, Kalani A, Riggs DW, Bhatnagar A, Srivastava S. Atherogenesis and metabolic dysregulation in LDL receptor-knockout rats. *JCI Insight.* 2017;2(9):E86442. Doi: 10.1172/jci.insight.86442.
8. Dornbush S, Aeddula NR. Physiology, Leptin. 2020 Apr 24. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan. PMID: 30725723.
9. Williams PT. Quantile-specific heritability of sibling leptin concentrations and its implications for gene-environment interactions // *Sci Rep.* 2020;10(1):22152. Doi: 10.1038/s41598-020-79116-1.
10. Hoefle G, Saely CH, Risch L, Rein P, Koch L, Schmid F, Aczél S, Marte T, Langer P, Drexel H. Leptin, leptin soluble receptor and coronary atherosclerosis. *Eur J Clin Invest.* 2007;37(8):629–36. Doi: 10.1111/j.1365-2362.2007.01842.x.
11. Morioka T, Emoto M, Yamazaki Y, Kurajoh M, Motoyama K, Mori K, Fukumoto S, Shioi A, Shoji T, Inaba M. Plasma soluble leptin receptor levels are associated with pancreatic  $\beta$ -cell dysfunction in patients with type 2 diabetes // *J Diabetes Invest.* 2018;9(1):55–62. Doi: 10.1111/jdi.12657.
12. Naryzhnaya NV, Koshelskaya OA, Kologrivova IV, Kharitonova OA, Evtushenko VV, Boshchenko AA. Hyper trophy and Insulin Resistance of Epicardial Adipose Tissue Adipocytes: Association with the Coronary Artery Disease Severity // *Biomedicine.* 2021;9(1):64. Doi: 10.3390/biomedicine9010064.
13. Hendarto A, Nagrani DG, Meiliana A, Sastroasmoro S, Sjarif DR. Determinants of Circulating Soluble Leptin Recep-

tor and Free Leptin Index in Indonesian Pre-Pubertal Obese Male Children: A Preliminary Cross-Sectional Study // *Pediatric Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2020;23(2):163–173. Doi: 10.5223/pghn.2020.23.2.163.

14. Singh P, Zhang Y, Sharma P, Covassin N, Soucek F, Friedman PA, Somers VK. Statins decrease leptin expression in human white adipocytes // *Physiol Rep.* 2018;6(2):E13566. Doi: 10.14814/phy2.13566.

15. Al-Azzam SI, Khabour OF, Alzoubi KH, Alzayadeen RN. The effect of leptin promoter and leptin receptor gene polymorphisms on lipid profile among the diabetic population: modulations by atorvastatin treatment and environmental factors // *J Endocrinol Invest.* 2014;37(9):835–42. Doi: 10.1007/s40618-014-0113-6.

16. Gruzdeva OV, Akbasheva OE, Dyleva YA, Antonova LV, Matveeva VG, Uchasova EG, Fanaskova EV, Karetnikova VN, Ivanov SV, Barbarash OL. Adipokine and Cytokine Profiles of Epicardial and Subcutaneous Adipose Tissue in Patients with Coronary Heart Disease // *Bull Exp Biol Med.* 2017;163(5):608–611. Doi: 10.1007/s10517-017-3860-5.

17. Полякова Е. А., Беркович О. А., Баранова Е. И. Прогностическое значение толщины эпикардальной жировой ткани у больных ишемической болезнью сердца, перенесших реваскуляризацию миокарда // *Кардиология.* – 2020. – Т. 60, № 3. – С. 4–13. [Polyakova EA, Berkovich OA, Baranova EI. Prognostic Value of Epicardial fat thickness in Coronary Heart Disease Patients After Myocardial Revascularization // *Kardiologiya.* 2020;60(3):4–13. (In Russ.)]. Doi: 10.18087/cardio.2020.3.n874.

18. Luo W, Bodary PF, Shen Y, Wickenheiser KJ, Ohman MK, Guo C, Bahrou KL, Myers MG Jr, Eitzman DT. Leptin receptor-induced STAT3-independent signaling pathways are protective against atherosclerosis in a murine model of obesity and hyperlipidemia // *Atherosclerosis.* 2011;214(1):81–5. Doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2010.10.009.

19. Boucsein A, Kamstra K, Tups A. Central signalling cross-talk between insulin and leptin in glucose and energy homeostasis. *J Neuroendocrinol.* 2021;33(4):E12944. Doi: 10.1111/jne.12944.

### Информация об авторе

**Полякова Екатерина Анатольевна** – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; старший научный сотрудник НИО микроциркуляции и метаболизма миокарда Центра экспериментального биомоделирования, Институт экспериментальной медицины, Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: polyakova\_ea@yahoo.com.

### Author information

**Polyakova Ekaterina A.** – Associate professor, Department of Faculty Therapy, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia; Senior Researcher, Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia, e-mail: polyakova\_ea@yahoo.com.

УДК: 611.161+612.135  
DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-46-53

В. И. КОЗЛОВ<sup>1, 2</sup>, В. Н. САХАРОВ<sup>1</sup>, О. А. ГУРОВА<sup>1</sup>,  
В. В. СИДОРОВ<sup>3</sup>

## Оценка состояния микроциркуляции у детей 6–7 лет по данным лазерной доплеровской флоуметрии

<sup>1</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр лазерной медицины» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

121165, Россия, Москва, ул. Студенческая, д. 40, стр. 1

<sup>3</sup> ООО НПП «Лазма», Москва, Россия

123458, Россия, Москва, ул. Твардовского, д. 8., Технопарк «Строгино»

E-mail: sakharov-vn@rudn.ru

Статья поступила в редакцию 12.02.21 г.; принята к печати 28.05.21 г.

### Резюме

**Введение.** Состояние кровотока в капиллярах и близлежащих кровеносных сосудах представляет большой интерес в практическом отношении для раскрытия патогенеза как системных, так и локальных нарушений кровообращения. **Цель** – определить показатели микроциркуляции и степень колебаний потока (флакса) на дистальных сегментах верхних и нижних конечностей (на пальцах рук и ног) у детей 6–7 лет, а также выявить возможные различия в механизмах модуляции тканевого кровотока у мальчиков и девочек. **Материалы и методы.** Изучали состояние кожной микроциркуляции одновременно на средних пальцах обеих рук и на больших пальцах ног у детей 6–7 лет (14 девочек и 7 мальчиков) с помощью лазерной доплеровской флоуметрии в положении лежа. **Результаты.** Установлены показатели микроциркуляции (ПМ) в дистальных сегментах верхних и нижних конечностей для данной возрастной группы, а также показано, что ПМ на нижних конечностях достоверно ниже по сравнению с верхними конечностями у детей обоего пола. На стопах асимметрия ПМ не выявлена; обсуждаются особенности право-левосторонней асимметрии ПМ на пальцах кистей у девочек и мальчиков. При анализе частотных модуляций колебаний тканевого кровотока (флаксмоций) показана базовая роль вазомоторного (миогенного) ритма в регуляции микроциркуляции. **Заключение.** Усиление нейрогенных влияний на модуляцию флаксмоций, выявленное у девочек 6–7 лет, свидетельствует о начальных проявлениях перестройки механизмов регуляции тканевого кровотока, которая приурочена к окончанию полуростового скачка и начинается у девочек раньше, чем у мальчиков.

**Ключевые слова:** вазомоции, дети, лазерная доплеровская флоуметрия, микроциркуляция крови, флаксметрия

**Для цитирования:** Козлов В. И., Сахаров В. Н., Гурова О. А., Сидоров В. В. Оценка состояния микроциркуляции у детей 6–7 лет по данным лазерной доплеровской флоуметрии. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021;20(3):46–53. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-46-53.

УДК: 611.161+612.135  
DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-46-53

V. I. KOZLOV<sup>1, 2</sup>, V. N. SAKHAROV<sup>1</sup>, O. A. GUROVA<sup>1</sup>,  
V. V. SIDOROV<sup>3</sup>

## Laser doppler flowmetry assessment of microcirculation in children of 6–7 years old

<sup>1</sup> RUDN University, Moscow, Russia

6, Miklukho-Maklaya street, Moscow, Russia, 117198

<sup>2</sup> Skobelkin State Scientific Center of Laser Medicine, FMBA of Russia, Moscow, Russia

40, Studencheskaya street, Moscow, Russia, 121165,

<sup>3</sup> SPE «LAZMA» Moscow, Russia

8, Tvardovskogo street, Moscow, Russia, 123458,

E-mail: sakharov-vn@rudn.ru

Received 12.02.21; accepted 28.05.21

### Summary

**Introduction.** The state of the blood flow within the capillaries and close blood vessels is highly important in practice for the revealing of pathogenetic mechanisms of both systemic and local circulatory disorders. **Aim** of the study was to define the parameters of microcirculation and the level of blood flow fluctuations (flux) in the distal segments of upper and lower limbs (in fingers of hands and toes of feet) in children of 6–7 years old; and to describe the possible differences in the mechanisms of

blood flow modulation in boys and girls. *Materials and methods.* Skin microcirculation was assessed in middle fingers of hands and great toes of feet in children of 6-7 years old (14 girls and 7 boys in prone position) by means of laser doppler flowmetry. *Results.* The ranges for parameters of microcirculation (PM) for distal segments of upper and lower limbs in children of mentioned age group were defined, also it was shown that the PM are significantly lower in the lower limbs comparing to those of the upper limbs (both in groups of girls and boys). Asymmetry of PM in the feet was not found; the features of right hand-left hand asymmetry for PM in girls and boys are described. The analysis of modulation of blood flow fluctuations (fluxmotions) of different frequencies showed the profound role of vasomotor (myogenic) rhythm for regulation of microcirculation. *Conclusion.* Increased neurogenic influences on the modulation of fluxmotions in girls of 6-7 years old may be an evidence of the ongoing development of the mechanisms of blood flow regulation, particularly the association with the growth rate of girls is possible.

**Keywords:** *vasomotions, children, laser doppler flowmetry, blood microcirculation, fluxmetry*

**For citation:** Kozlov V. I., Sakharov V. N., Gurova O. A., Sidorov V. V. Laser doppler flowmetry assessment of microcirculation in children of 6–7 years old. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2021;20(3):46–53. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-46-53.

## Введение

Состояние кровотока в капиллярах и близлежащих кровеносных сосудах представляет большой интерес в практическом отношении для раскрытия патогенеза как системных, так и локальных нарушений кровообращения [1–6]. Однако для решения этих проблем необходимо иметь достаточно устойчивые представления о границах нормы (с учетом возрастных нормативов) и согласованный протокол клинических исследований микроциркуляции. Среди различных методов как прямой, так и косвенной регистрации капиллярного кровотока, используемых для клинической оценки состояния микроциркуляции, лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ), которая, как известно, основывается на оптическом зондировании тканей монохроматическим сигналом в красной области спектра и анализе отраженного от движущихся эритроцитов сигнала, получила достаточно широкое распространение благодаря, прежде всего, тому, что это достаточно надежный и относительно простой способ мониторинга уровня тканевого кровотока.

Регистрируемый при ЛДФ сигнал характеризует кровотоки в микрососудах в объеме несколько более  $1 \text{ мм}^3$  ткани, что дает интегральную информацию по подвижности очень большого числа эритроцитов (около  $3,4 \cdot 10^4$ ), одновременно находящихся в зондируемом объеме ткани. Подвижность эритроцитов является усредненной величиной, так как осуществляется одновременное зондирование эритроцитов, движущихся с различной скоростью и различных направлениях по микрососудам разного типа и диаметра. Как показывают расчеты, в коже в области пальцев кисти в объеме  $1 \text{ мм}^3$  содержится около 200 микрососудов – примерно 20 артериол, 110 капилляров, 40 посткапиллярных венул и 30 венул [7, 8]. Наибольшее число эритроцитов присутствует в посткапиллярных сосудах [9, 10], поэтому примерно половина величины ЛДФ-сигнала формируется за счет тех эритроцитов, которые находятся в посткапиллярно-венулярном звене микроциркуляторного русла. В последнее время при прямой биомикроскопической регистрации кровотока в капиллярах и интегральной оценке перфузии методом ЛДФ [1, 11] получены важные экспериментальные доказательства тесной связи между природой сигнала ЛДФ с объективными физиологическими характеристиками капиллярного кровотока в коже.

Фундаментальной особенностью микроциркуляции крови является ее постоянная изменчивость,

которая проявляется в спонтанных колебаниях тканевого кровотока. Эти колебания потока крови на микроциркуляторном уровне совершаются с разными биоритмами, что позволяет судить о конкретных соотношениях различных механизмов, определяющих состояние микроциркуляции крови. Для обозначения этих колебаний были введены специальные термины – «flowmotion» [12] и «fluxmotion» [13, 14]. Нами [1, 9, 10] для характеристики величины временной изменчивости потока крови в сосудах микроциркуляторного русла использовался термин «флакс».

**Цель** исследования состояла в том, чтобы определить показатели микроциркуляции и степень колебаний потока (флакса) на дистальных сегментах верхних и нижних конечностей (на пальцах рук и ног) у детей 6–7 лет, а также выявить возможные гендерные различия в механизмах модуляции тканевого кровотока.

## Материалы и методы исследования

В исследовании приняли участие здоровые дети: 14 девочек и 7 мальчиков старшего дошкольного возраста – 6–7 лет. Исследования проведены на условиях добровольного согласия всех его участников и их родителей, а также с одобрения Этического комитета РУДН.

Исследование микроциркуляции проводили с помощью портативного ЛДФ-анализатора «ЛАЗМА ПФ» (Регистрационное удостоверение Росздравнадзора № РЗН 2018/7853 от 26.11.2018 г.), передающего регистрируемые сигналы в компьютер по протоколу Bluetooth. Одновременная установка нескольких анализаторов позволяет синхронно регистрировать состояние микроциркуляции в нескольких точках, что существенно расширяет возможности метода; при обследовании детей применено впервые. ЛДФ-анализаторы устанавливали на средние пальцы кистей и большие пальцы стоп (рис. 1). Запись показателей с 4 анализаторов проводилась одновременно в положении испытуемого лежа в течение 5 мин. Итоговый объем выборки измерений микроциркуляции составил на кистях – 42 и на стопах – 42. Встроенный датчик движения анализатора, реагирующий на произвольные движения обследуемого, позволяет производить последующую фильтрацию ЛДФ-граммы и исключить из записи артефакты, обусловленные этими движениями.

Регистрируемый при ЛДФ показатель микроциркуляции (ПМ) представляет собой интегральную



Рис. 1. Положение анализаторов на пальцах рук и ног при регистрации ЛДФ-граммы  
Fig. 1. Positions of LDF-tools on the fingers of hands and toes of feet during the recording of LDF-data

характеристику подвижности эритроцитов в зондируемом объеме ткани. Поскольку запись ЛДФ-граммы ведется в режиме мониторинга, то регистрируемый статистически усредненный ПМ характеризует в относительных (перфузионных) единицах (перф. ед.) поток эритроцитов в единицу времени через единицу объема ткани. Флакс (или СКО) – это средняя амплитуда колебаний потока крови в микрососудах (среднее квадратическое отклонение ЛДФ-сигнала), которая также измеряется в относительных единицах (перф. ед.).

Природа колебательных процессов в системе микроциркуляции достаточно сложна. На сегодняшний момент установлено, что спонтанные колебания кровотока в тканях преимущественно обусловлены вазомоциями [15, 16]. Ритмическая структура флаксмоций, которая выявляется с помощью спектрального анализа ЛДФ-граммы, есть интегральный результат суперпозиции различных ритмов, обусловленных миогенной природой, а также нейрогенными, дыхательными, сердечными и другими влияниями на подвижность эритроцитов в микрососудах. В данном исследовании определялись амплитуды ритмов в соответствующих частотных диапазонах: миогенных ( $A_{MF}$ ), а также нейрогенных ( $A_{NF}$ ), дыхательных ( $A_{HF}$ ) и кардиогенных ( $A_{CF}$ ) ритмов, влияющих на модуляцию тканевого кровотока. Вклад различных ритмических составляющих оценивали по их мощности  $R_i$  в процентном отношении к общей мощности спектра  $M$  флаксмоций:

$$R_i = A_i^2 / M \cdot 100 \%,$$

где  $M = A_{NF}^2 + A_{MF}^2 + A_{HF}^2 + A_{CF}^2$ .

Интегральную характеристику состояния вазомоторного механизма модуляции тканевого кровотока дает индекс флаксмоций (ИФМ), который определяется по соотношению амплитуд флуктуаций в физиологически наиболее значимых диапазонах частот, выявляемых при спектральном анализе ЛДФ-граммы:  $ИФМ = A_{MF} / (A_{HF} + A_{CF})$ .

Статистическая обработка данных произведена в программном обеспечении «R» [17] с использованием непараметрического критерия (Mann – Whitney – Wilcoxon). Результаты представлены в виде медианы и 25–75-го перцентилей (квартилей  $Q_1$  и  $Q_3$ ). Уро-

вень статистической значимости при проверке нулевой гипотезы принимали соответствующим  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

При сравнении показателей микроциркуляции (ПМ) между группами мальчиков и девочек достоверных различий ни на кистях, ни на стопах не выявлено, отсутствуют также гендерные различия в показателях. Однако при сравнении показателей тканевого кровотока между пальцами рук и ног различия оказались достоверны как в группах мальчиков и девочек, так и в целом по выборке ( $p < 0,01$ ). Таким образом, на нижних конечностях у детей обследованной возрастной группы были определены достоверно более низкие значения ПМ ( $M = 17,0$  перф.ед.), чем на верхних конечностях ( $M = 24,1$  перф. ед.); разброс в перцентилях показан на рис. 2.

Сравнение показателей микроциркуляции в симметричных точках на верхних и нижних конечностях показывает, что на больших пальцах ног слева и справа различия по уровню ПМ практически отсутствуют как у мальчиков ( $M = 17,0$  перф. ед.), так и у девочек ( $17,0$  перф. ед.). На верхних конечностях асимметрия в показателях ПМ проявляется как у мальчиков, так и у девочек. При статистическом сравнении показателей микроциркуляции у девочек на пальцах правой кисти отмечались достоверно более высокие значения, чем на левой ( $p = 0,01$ ). В группе мальчиков различия в показателях хотя и выявлялись, но не были достоверны; возможно, это связано с недостаточной выборкой. В целом по объединенной группе мальчиков и девочек выявлено достоверное различие показателей микроциркуляции на средних пальцах правой и левой кисти ( $p = 0,004$ ). Как показано на рис. 3, более высокие показатели определялись на пальцах правой кисти, что, видимо, связано с более частой встречаемостью праворукости у детей.

Колебание потоков эритроцитов в микрососудах, которую мы обозначаем как флакс, отражает важную характеристику микроциркуляции, свидетельствующую о постоянной приспособляемости тканевого кровотока к локальным, прежде всего, трофическим, потребностям, а также о его зависимости от состояния системной гемодинамики. На рис. 4 показаны данные

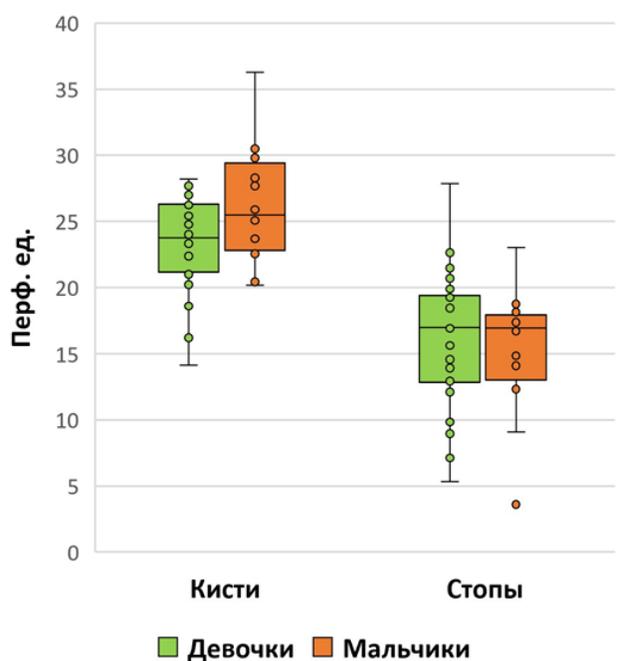


Рис. 2. Разброс показателей микроциркуляции на пальцах кисти и стопы у девочек и мальчиков

Fig. 2. Microcirculation blood flow ranges in the fingers of hands and in toes in girls and boys

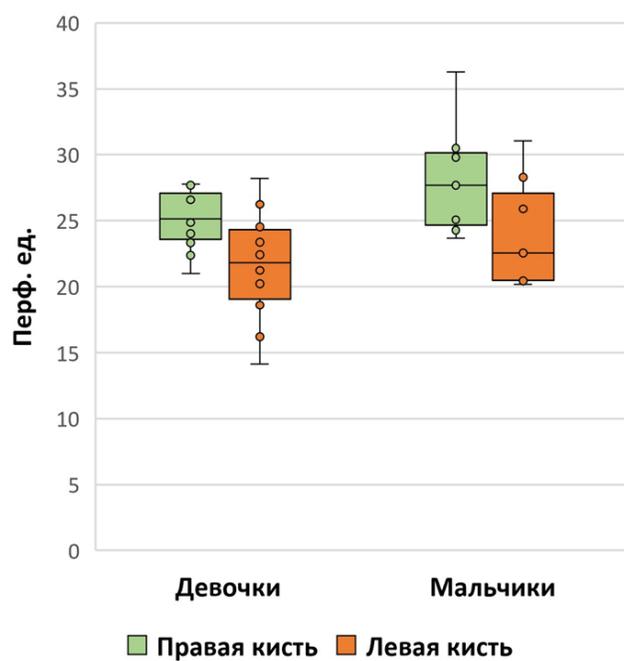


Рис. 3. Асимметрия показателя микроциркуляции на пальцах кисти у девочек и мальчиков

Fig. 3. Asymmetry of parameters of microcirculation in the fingers of hands in girls and boys

флаксометрии по уровню СКО на пальцах кистей и стоп у мальчиков и девочек. При сравнении показателей СКО на пальцах рук ( $M = 2,1$  перф. ед.) и ног ( $M = 3,1$  перф. ед.) между объединенными группами мальчиков и девочек выявлены достоверно более высокие показатели на нижних конечностях ( $p < 0,001$ ). По коэффициенту вариации  $K_v$  уровень флаксмоций на пальцах руки составляет 8,3 % от уровня ПМ, а на пальцах нижних конечностей – 21 %. Считается [9, 10], что более высокие значения флакса отражают лучшее функционирование вазомоторного механизма модуляции тканевого кровотока. Обнаруженные более высокие показатели флакса у детей на нижних конечностях, по всей вероятности, объясняются тем, что ЛДФ у них проводилась в положении лежа. Различия в показателях флаксметрии у девочек и мальчиков выявлены лишь на пальцах верхних конечностей ( $p < 0,05$ ), на нижних конечностях различия были недостоверны.

Разложение ЛДФ-граммы на физиологически значимые ритмические составляющие позволяет проследить, в какой мере вазомотории сосудов микроциркуляторного русла подвержены различным влияниям со стороны других механизмов, лежащих за пределами системы микроциркуляции, но также влияющих на модуляцию тканевого кровотока. В таблице приведены данные средних значений амплитуд вазомоторного ритма (в диапазоне 0,1 Гц), а также три наиболее физиологически значимых биогенных ритмов в соответствующих частотных диапазонах.

Анализ данных таблицы показывает, что вазомоторный (миогенный) ритм, являющийся базовым и для флаксмоций в системе микроциркуляции, на средних пальцах кисти у девочек 6–7 лет ( $M = 0,5$  перф. ед.) достоверно ( $p = 0,03$ ) ниже по амплитуде, чем у мальчиков ( $M = 1,03$  перф. ед.). Вклад

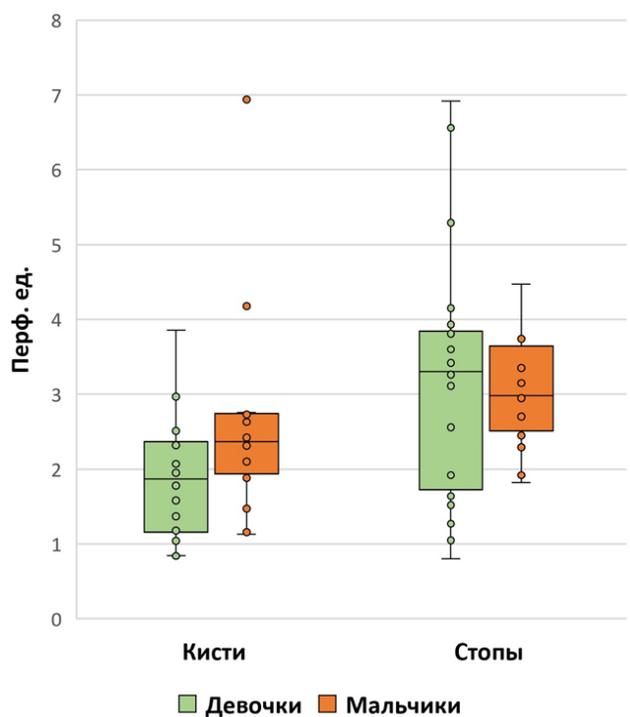


Рис. 4. Разброс показателей флаксмоций (по уровню СКО) на пальцах кисти и стопы у девочек и мальчиков

Fig. 4. Ranges of fluxmotion parameters (standard deviation) in fingers and toes in girls and boys

вазомоторного ритма в общую мощность спектра флаксмоций у мальчиков составляет 33 %, а у девочек – лишь 27 % (рис. 5). Сравнительное ослабление вазомоторного ритма у девочек компенсируется усилением вклада в частотный спектр кардиогенного и респираторного ритмов. Поэтому эффективность флаксмоций у девочек ниже (ИФМ = 0,6) по сравнению с мальчиками (ИФМ = 0,8). Достоверных

## Показатели частотно-амплитудного спектра флаксмоций на пальцах кисти

## Fluxmotions frequency-amplitude spectrum parameters in the fingers of hands

Флаксмоции	Пол	Медиана М	Q1	Q3
NF (нейрогенные)	Девочки	0,6	0,47	1,22
	Мальчики	1,21	0,78	1,54
LF (миогенные)	Девочки	0,5	0,37	1,12
	Мальчики	1,03	0,69	1,18
HF (респираторные)	Девочки	0,4	0,37	0,58
	Мальчики	0,66	0,53	1,14
CF (кардиогенные)	Девочки	0,43	0,41	0,5
	Мальчики	0,57	0,48	0,7

различий нейрогенных ритмов по амплитуде у детей 6–7 лет не выявлено ( $p=0,067$ ), хотя вклад нейрогенных колебаний у девочек составил 39 %, а у мальчиков – 44 %.

На нижних конечностях вазомоторный ритм как у мальчиков, так и у девочек, примерно соответствует таковому на верхних конечностях (рис. 6), что является важным свидетельством определяющей роли этого ритма в модуляциях флаксмоций в системе микроциркуляции. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что вклад миогенных флаксмоций в общую мощность спектра у мальчиков несколько выше, чем у девочек. Эти различия, находящиеся на грани достоверности, могут быть объяснены тем, что обследованные дети находятся в том возрастном периоде (верхняя граница полуростового скачка), когда гендерные различия проявляются наиболее отчетливо. Индекс эффективности флаксмоций, как у мальчиков (ИФМ=1,6), так и у девочек (ИФМ=1,3), оказался существенно выше на пальцах стоп, чем на пальцах кистей. Мы полагаем, что это обусловлено тем, что ЛДФ проводилась в положении лежа, когда изменяется гипостатическая нагрузка на сосуды микроциркуляторного русла на дистальных сегментах конечностей.

В связи с некоторым снижением у девочек показателей вазомоторного (миогенного) ритма, у них наблюдается неустойчивость других ритмов модуляции флаксмоций по сравнению с мальчиками. Это проявляется в усилении кардиогенного ритма на пальцах кисти и нейрогенного ритма на пальцах стопы, что в целом свидетельствует о более выраженной на данном возрастном этапе перестройке в организме девочек.

По результатам проведенного исследования, у детей 6–7 лет определены показатели состояния микроциркуляции (по уровню ПМ) в коже пальцев кистей и стоп, которые характеризуются определенной устойчивостью в исследованных выборках. Эти показатели закономерно ниже на нижних конечностях по сравнению с таковыми на верхних конечностях, независимо от гендерных различий обследованных детей. Полученные данные совпадают с результатами других исследователей, определявших состояние микроциркуляции в различных сегментах верхних и нижних конечностей [18, 19]. Более низкие значения

ПМ на нижних конечностях обусловлены тем, что они находятся в иных гемодинамических условиях, по сравнению с верхними. При наиболее характерном для человека вертикальном положении у него сформировались гемодинамические механизмы, обеспечивающие функционирование сосудистого русла на нижних конечностях при более низком уровне тканевого кровотока, в том числе и микроциркуляции.

Нормативные параметры флакса, характеризующие степень колебания потоков эритроцитов в микрососудах, у детей 6–7 лет по уровню  $K_v$  в среднем составили на пальцах кисти в пределах 8,3 %, а на пальцах стоп – 21 %, при незначительных гендерных различиях. Эти данные о варьировании показателей ПМ на верхних и нижних конечностях хорошо согласуются с выраженностью вазомоторного (миогенного) ритма и эффективностью флаксмоций у детей.

Обращает на себя внимание крайне низкая асимметрия ПМ на стопах как у мальчиков, так и у девочек. С одной стороны, это свидетельствует еще о незрелости механизмов модуляции тканевого кровотока у детей 6–7 лет [9, 10, 19], а с другой – о том, что асимметрия показателей микроциркуляции в дистальных сегментах конечностей во многом может зависеть от разной физиологической нагрузки на них [20]. Известны попытки объяснить причину лево-правосторонней асимметрии показателей микроциркуляции, исходя из асимметрии хиральных характеристик сосудов симметричных органов [21], однако это требует еще дополнительных исследований для обоснования возможности применения математического аппарата теории хаоса для определения степени хаотичности флаксмоций.

Для понимания механизмов модуляции тканевого кровотока существенное значение имеют представления о природе колебательных процессов в потоках эритроцитов в микрососудах, регистрируемых при ЛДФ. Представленные нами данные свидетельствуют о том, что эффективность флаксмоций в системе микроциркуляции у обследованной возрастной группы детей определяется, прежде всего, устойчивостью и выраженностью вазомоторного (миогенного) ритма. Это еще раз подтверждает результаты основополагающих исследований В. W. Zweifach [16], а также последующих исследований в этой области [7, 15]. При торможении активных вазомоций, что наблюдается



Рис. 5. Соотношение основных ритмических составляющих флаксмоций в ЛДФ-грамме на пальцах кистей у девочек и мальчиков по их вкладу (в %) в мощность спектра

Fig. 5. Ratio of the main rhythmical types of fluxmotions in LDF-data for fingers of hands in girls and boys (percentages of the fluxmotions' contributions to the spectrum power)

при анестезии или фармакологической блокаде, а также при любых нарушениях микроциркуляции [22–24] микрососуды как бы утрачивают свою мобильность и превращаются в пассивные проводники крови, в результате чего возрастает роль модуляции флаксмоций за счет других влияний, в частности, за счет кардиогенного, респираторного и нейрогенного ритмов, рождающихся за пределами системы микроциркуляции. В исследовании колебательных процессов в микрососудистом русле кожи человека на фоне физиологического старения организма [25] убедительно показано, что в результате системных заболеваний происходит снижение вазомоторного и нейрогенного ритмов при возрастании кардиогенного, а при легочной патологии имеет место усиление респираторных колебаний [26]. Интересные данные по сочетанному увеличению миогенных осцилляций кровотока и кардиогенных флаксмоций получены при изучении микроциркуляции при псориазе [27]; при восстановлении тканевого кровотока при облитерирующих поражениях сосудов нижних конечностей [28, 29].

Устойчивость показателей вазомоторного ритма у обследованных детей позволяет думать о том, что этот биоритм, отражающий сократительную активность гладких миоцитов в прекапиллярном звене микроциркуляторного русла, является базовой характеристикой состояния микроциркуляции как системной функции организма. Нейрогенный ритм, порождаемый в артериальных сосудах, лежащих за пределами системы микроциркуляции, достигает капиллярного звена при усилении нейрогенных влияний и может передаваться и на посткапиллярное звено, которое дает наибольший вклад в регистрируемый при ЛДФ оптический сигнал.

Ранее [9, 10, 18, 30] отмечалось, что в онтогенезе на протяжении от 7 до 20 лет у лиц как женского, так и мужского пола, наблюдается постепенное усиление нейрогенного влияния на модуляцию флаксмоций как результат совершенствования механизма регуляции сосудов микроциркуляторного уровня. Наибольшую выраженность эти процессы имеют в пубертатный период. Представленные в настоящей работе данные по модуляции флаксмоций позволяют думать, что у девочек совершенствование регуляторных механизмов начинается раньше, чем у мальчиков, а его начало приходится на конец полуростового скачка [31].



Рис. 6. Соотношение основных ритмических составляющих флаксмоций в ЛДФ-грамме на пальцах стоп у девочек и мальчиков по их вкладу (в %) в мощность спектра

Fig. 6. Ratio of the main rhythmical types of fluxmotions in LDF-data for toes of feet in girls and boys (percentages of the fluxmotions' contributions to the spectrum power)

### Заключение

Таким образом, проведенное исследование позволило впервые получить у детей дошкольного возраста синхронную запись ЛДФ-грамм в четырех областях тела. Определены показатели микроциркуляции в дистальных сегментах верхних и нижних конечностей у детей 6–7 лет и установлено, что базовую роль в организации флаксмоций на микроциркуляторном уровне играет вазомоторный (миогенный) ритм. Начальные проявления усиления нейрогенных модуляций флаксмоций, выявленные у девочек данного возраста, свидетельствуют о начале перестройки регуляторных механизмов, приуроченной к концу полуростового скачка.

Работа выполнена по Программе стратегического академического лидерства РУДН «Приоритет-2030» Министерства науки и высшего образования РФ; тема № 030211-0-000. / The study was performed under the Strategic Academic Leadership Program in RUDN University «Priority-2030» of the Ministry of Education and Science; theme № 030211-0-000.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

### Литература / References

1. Козлов В. И. Капилляроскопия в клинической практике. – М.: Практ. мед., 2015. – С. 232. [Kozlov VI. Kapillyaroskopiya v klinicheskoy praktike [Capillaroscopy in clinical practice]. Moscow, Prakticheskaya Meditsina Publ., 2015:232. (In Russ.)].
2. Покровский А. В. Значение оценки состояния микроциркуляции в клинической практике // Ангиология и сосуд. хир.: Микроциркуляция в клинической практике: Материалы Всеросс. науч. конф. – 2004. – Т. 10, № 3. – С. 3–4. [Pokrovskiy AV. Znacheniye otsenki sostoyaniya mikrotsirkulatsii v klinicheskoy praktike. Angiology and vascular surgery. Mikrotsirkulatsiya v klinicheskoy praktike: materialy Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii. . 2004;10(3):-3–4. (In Russ.)].
3. Роль фотоплетизмографии и пальцевого давления в ранней диагностике тромбозов щунта / А. В. Покровский, Р. М. Догужиева, А. Ф. Хазаров, Л. С. Селезнева // Ангиология и сосуд. хир. – 2008. – Т. 14, № 3. – С. 133.

- [Pokrovskiy AV, Doguzhieva RM, Khazarov AF, Selezneva LS. Rol' fotopletizmografii i pal'tsevogo davleniya v ranney diagnostike trombozov shunta. *Angiology and vascular surgery*. 2008;14(3):133. (In Russ.)].
4. Allegra C. The microvascular circulation. *Minerva Cardioangiol*. 2000;48(9):77.
  5. Johnson PC. Overview of the microcirculation. In: *Handbook of physiology Microcirculation* / eds by RF. Tuma, WN. Duran, R. Ley. Amsterdam-Tokyo. 2008:XI-XXIV.
  6. Pries AR, Secomb TW. Blood flow in microvascular networks. In: *Handbook of physiology. Microcirculation* / eds by RF. Tuma, WN. Duran, R. Ley. Amsterdam-Tokyo. 2008:3-36.
  7. Гистофизиология капилляров / В. И. Козлов, Е. П. Мельман, Б. В. Шутка, Е. М. Нейко // СПб.: Наука, 1994. [Kozlov VI, Mel'man EP, Shutka BV, Neyko EM. *Gistofiziologiya kapillyarov*. SPb., Nauka Publ., 1994. (In Russ.)].
  8. Braverman IM, Yen A, Goldminz D. Correlation of laser Doppler wave patterns with underlying microvascular anatomy // *J. Invest. Dermatol*. 1990;95(3):283-286.
  9. Козлов В. И. Развитие системы микроциркуляции. – М.: Изд-во РУДН, 2012. [Kozlov VI. *Razvitie sistemy mikrotsirkulatsii*. Moscow, RUDN Publ., 2012. (In Russ.)].
  10. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке состояния и расстройств микроциркуляции крови / В. И. Козлов, Г. А. Азизов, О. А. Гурова, Ф. Б. Литвин. – М.: Изд-во РУДН, 2012. – С. 32. [Kozlov VI, Azizov GA, Gurova OA, Litvin FB. *Lazernaya dopplerovskaya floumetriya v otsenke sostoyaniya i rasstroystv mikrotsirkulatsii krovi*. Moscow, RUDN Publ., 2012:32. (In Russ.)].
  11. Dremin V, Kozlov I, Volkov M, Margaryants N, Potemkin A, Zherebtsov E, Dunaev A, Gurov I. Dynamic evaluation of blood flow microcirculation by combined use of the laser Doppler flowmetry and high-speed videocapillaroscopy methods // *J. Biophotonics*. 2019;12(6): E201800317. Doi: 10.1002/jbio.201800317.
  12. Fagrell B. Problems using laser Doppler on the skin in clinical practice. *Med. Acad. Publ.*, 1994:49-54.
  13. Bollinger A, Jager K, Junger M, Seifert H. The vascular laboratory: advances of non-invasive techniques // *World J. Surg*. 1988;(12):724-731.
  14. Hoffman U, Yanar A, Franzeck UK, Edwards JM, Bollinger A. The frequency histogram – a new method for the evaluation of laser Doppler flux motion // *Microvasc. Res*. 1990;40(3):293-301. Doi: 10.1016/0026-2862(90)90028-p.
  15. Intaglietta M. Capillary flow motion and vasomotion // *J. Microcirculation*. 1994;14(1):3.
  16. Zweifach BW. Functional behavior of the microcirculation. Springfield, Illinois. 1961.
  17. R Core Team (2016, 2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at: <https://www.R-project.org/> (accessed: 12.05.2021).
  18. Литвин Ф. Б. Возрастные и индивидуально-типологические особенности микроциркуляции у мальчиков-подростков и юношей // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 44-50. [Litvin FB. *Vozrastnyye i individual'no-tipologicheskie osobennosti mikrotsirkulatsii u mal'chikov-podrostkov i yunoshey* // *Regional blood circulation and microcirculation*. 2006; 5(1):44-50. (In Russ.)].
  19. Тихомирова И. А., Бабошина Н. В., Терехин С. С. Возможность метода лазерной доплеровской флоуметрии в оценке возрастных особенностей функционирования системы микроциркуляции // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2018. – Т. 17, № 3. – С. 80-86. [Tikhomirova IA, Baboshina NV, Terekhin SS. *LDF method capabilities in the estimation of age-related features of the microcirculation system functioning. Regional blood circulation and microcirculation*. 2018;17(3):80-86. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-80-86.
  20. Мезенцева Л. В. Нелинейный анализ флуктуаций показателей микроциркуляции сосудов симметричных органов у человека на основании данных лазерной доплеровской флоуметрии // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2018. – Т. 17, № 4. – С. 33-38. [Mezentseva LV. *Nonlinear analysis of fluctuations of microcirculation parameters in symmetrical organs of humans by laser doppler flowmetry. Regional blood circulation and microcirculation*. 2018;17(4):33-38. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-4-33-38.
  21. Михайличенко Л. А., Тимкина М. И. Микрососуды зачечных мешков хомячка в условиях снижения системного давления // *Бюлл. эксперим. биологии и мед.* – 2004. – Т. 138, № 12. – С. 617-621. [Mikhaylichenko LA, Timkina MI. *Mikrososudy zashchechnykh meshkov khomyachka v usloviyakh snizheniya sistemnogo davleniya* // *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2004;138(12):617-621. (In Russ.)].
  22. Место микроциркуляции в развитии сосудистых нарушений у детей и подростков / К. В. Жмеренецкий, О. В. Каплиева, З. В. Сиротина, Р. Ф. Езерский // *Дальневосточ. мед. журн.* – 2012. – Т. 2. – С. 59-62. [Zmerenetsky KV, Kaplieva OV, Sirotnina ZV, Eserskii RF. *The place of microcirculation in the development of vascular disorders in children and adolescents* // *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal*. 2012;(2):59-62. (In Russ.)].
  23. Мач Э. С., Алекперов Р. Т. Нарушения микроциркуляции при системной склеродермии // *Ангиология и сосуд. хир.: Микроциркуляция в клинической практике: Материалы Всерос. науч. конф.* – 2004. – Т. 10, № 3. – С. 4. [Mach ES, Alekperov RT. *Narusheniya mikrotsirkulatsii pri sistemnoy sklerodermii* // *Angiology and vascular surgery. Mikrotsirkulatsiya v klinicheskoy praktike: Materialy Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii*. 2004;10(3):4. (In Russ.)].
  24. Shepro D. Introduction // *Microvascular research*. Elsevier Academic Press, 2006.
  25. Тихонова И. В. Возрастные изменения в системе колебательных процессов в микрососудистом русле кожи человека в норме и при сосудистых патологиях // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2018. – Т. 17, № 3. – С. 42-57. [Tikhonova IV. *Age-dependent changes of oscillation processes of human skin microcirculation in normal and vascular pathologies* // *Regional blood circulation and microcirculation*. 2018;17(3):42-57. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-42-57.
  26. Долгова Е. В., Федорович А. А., Мартынюк Т. М. и др. Состояние микроциркуляторного русла кожи у больных с легочной гипертензией на фоне врожденных пороков сердца // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2018. – Т. 17, № 3 – С. 65-70. [Dolgova EV, Fedorovich AA, Martynyuk TM, Rogoza AN, Chazova IE. *The state of the microcirculation of the skin in patients with pulmonary hypertension due to congenital heart defects* // *Regional blood circulation and microcirculation*. 2018;17(3):65-70. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-65-70.
  27. Потапова Е. В., Филина М. А., Козлов И. О. и др. Особенности локальной микроциркуляции крови у пациентов с псориазом // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2018. – Т. 17, № 3. – С. 58-64. [Potarova EV, Filina MA, Kozlov IO, Zharkikh EV, Dremin VI, Malaya NS, Snimshchikova IA, Dunaev AV, Sidorov VV, Krupatkin AI. *Peculiarities of local blood microcirculation in patients with the psoriasis* // *Regional blood circulation and microcirculation*. 2018;17(3):58-64. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-58-64.

28. Азизов Г. А. Особенности микроциркуляции при хронической венозной недостаточности нижних конечностей // II Всерос. науч. конф. по клин. гемостазиологии и гемореологии в сердечно-сосуд. хир. М., 2005. – С. 3. [Azizov GA. Osobennosti mikrotsirkulatsii pri khronicheskoy venoznoy nedostatochnosti nizhnikh konechnostey. II Vserossiyskaya nauchnaya konferentsiya po klinicheskoy gemostasiologii i gemoreologii v serdechno-sosudistoy khirurgii. Moscow, 2005:3. (In Russ.)].

29. Стрельцова Н. Н., Васильев А. П., Бессонов И. С., Колунин Г. В. Изменение микроциркуляторной картины у больных перемежающейся хромотой после эндоваскулярного восстановления магистрального кровотока конечности // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17, № 2. – С. 42–48. [Streltsova NN, Vasilyev AP, Bessonov IS, Kolunin GV. The microcirculatory changes in patients with intermittent claudication after endovascular restoration of main blood flow to the extremity. Regional blood circulation and microcirculation. 2018;17(2):42–48. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-42-48.

30. Станишевская Т. И. Особенности микроциркуляции крови у девушек-студенток с разными конституциональными типами // Запорож. мед. журн. – 2005. – Т. 4. – С. 56–58. [Stanishevskaya TI. Osobennosti mikrotsirkulatsii krovi u devushek-studentok s raznymi konstitutsionnymi tipami // Zaporozhskiy meditsinskiy zhurnal. 2005;(4):56–58. (In Russ.)].

31. Сонькин В. Д., Корниенко И. А., Козлов А. И. и др. Основные закономерности роста и физического развития // Физиология развития ребенка: рук. по возрастной физиологии / под ред. М. М. Безруких, Д. А. Фарбер. – М.: Изд-во МПСИ; Воронеж: Изд-во НПО «МОДЭК», 2010:43–122. [Sonkin VD, Kornienko IA, Kozlov AI. et al. Osnovnyye zakonernosti rosta i fizicheskogo razvitiya // Fiziologiya razvitiya rebenka: Rukovodstvo po vozrastnoy fiziologii / eds

by MM. Bezrukikh, DA. Farber. Moscow, Publishing house of the Ministry of State Social Communications; Voronezh: Publishing house NPO «MODEK», 2010:43–122. (In Russ.)].

### Информация об авторах

**Козлов Валентин Иванович** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой анатомии человека, Медицинский институт РУДН, Москва, Россия; главный научный сотрудник ГНЦ ЛМ им. О. К. Скобелкина ФМБА России, Москва, Россия, e-mail: kozlov-vi@rudn.ru.

**Сахаров Владимир Николаевич** – ассистент кафедры анатомии человека, Медицинский институт РУДН, Москва, Россия, e-mail: sakharov-vn@rudn.ru.

**Гурова Ольга Александровна** – канд. биол. наук, доцент кафедры анатомии человека, Медицинский институт РУДН, Москва, Россия, e-mail: gurova-oa@rudn.ru.

**Сидоров Виктор Васильевич** – генеральный директор ООО НПП «ЛАЗМА», Москва, Россия, e-mail: lazma@plusnet.ru.

### Authors information

**Kozlov Valentin I.** – Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Human Anatomy, Institute of Medicine, RUDN University, Moscow, Russia; Chief scientific researcher, Skobelkin State Scientific Center of Laser Medicine, FMBA of Russia, Moscow, Russia, e-mail: kozlov-vi@rudn.ru.

**Sakharov Vladimir N.** – assistant of the Department of Human Anatomy, Institute of Medicine, RUDN University, Moscow, Russia, e-mail: sakharov-vn@rudn.ru.

**Gurova Olga A.** – Cand. of Sci. (Biol.), Associate Professor of the Department of Human Anatomy, Institute of Medicine, RUDN University, Moscow, Russia, e-mail: gurova-oa@rudn.ru.

**Sidorov Viktor V.** – CEO SPE «LAZMA», Moscow, Russia, e-mail: lazma@plusnet.ru.

УДК 616.72-002.772: 616.137.86  
DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-54-60

Б. М. ШАРАФУТДИНОВ<sup>1, 2</sup>, С. А. РЫЖКИН<sup>1, 3, 4</sup>,  
Э. А. ГАЗИЕВ<sup>2</sup>, М. К. МИХАЙЛОВ<sup>1</sup>

## Успешный опыт транскатетерной артериальной эмболизации при гонартрозе у пациентов с выраженным болевым синдромом и при неэффективности консервативной терапии

<sup>1</sup> Казанская государственная медицинская академия – филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Казань, Россия  
Россия, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 36

<sup>2</sup> Медико-санитарная часть федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Казань, Россия  
Россия, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Казань, Россия  
Россия, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49

<sup>4</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Казань, Россия  
Россия, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18

E-mail: bulaty555@mail.ru

Статья поступила в редакцию 16.03.21 г.; принята к печати 16.07.21 г.

### Резюме

Остеоартрит является распространенным заболеванием опорно-двигательного аппарата, причиной развития боли, потери функции суставов и, как следствие, фактором инвалидизации населения. Стратегия лечения пациентов с гонартрозом не до конца определена, особенно у пациентов с 1–2-й степенью. Одним из вариантов лечения таких пациентов является проведение транскатетерной эмболизации гиперваскулярной сети подколенных артерий. В статье представлена серия клинических случаев проведения эмболизации ветвей подколенной артерии. Под местной анестезией выполнялась ретроградная чрескожная пункция и катетеризация целевой бедренной артерии. Далее осуществлялась селективная ангиография подколенной артерии с целью выявления гиперваскулярной сосудистой сети коленного сустава. После выявления целевой артерии по интервенционному проводнику с помощью микрокатетера проведена селективная катетеризация артерии гиперваскулярной сосудистой сети. Транскатетерная артериальная эмболизация гиперваскулярной сосудистой сети при остеоартрозах различного генеза и локализации может быть успешно применена в качестве альтернативного лечения при неэффективности консервативной терапии и при наличии противопоказаний к оперативному лечению. Следует отметить необходимость дальнейшего проведения рандомизированных многоцентровых исследований и метаанализов для внедрения данного метода лечения в повседневную клиническую практику.

**Ключевые слова:** остеоартрит, гонартроз, подколенная артерия, транскатетерная артериальная эмболизация

**Для цитирования:** Шарафутдинов Б. М., Рыжкин С. А., Газиев Э. А., Михайлов М. К. Успешный опыт транскатетерной артериальной эмболизации при гонартрозе у пациентов с выраженным болевым синдромом и при неэффективности консервативной терапии. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021;20(3):54–60. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-54-60.

UDC 616.72-002.772: 616.137.86  
DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-54-60

B. M. SHARAFUTDINOV<sup>1, 2</sup>, S. A. RYZHKIN<sup>1, 3, 4</sup>,  
E. A. GAZIEV<sup>2</sup>, M. K. MIKHAILOV<sup>1</sup>

## Successful experience of transcatheter arterial embolization for gonarthrosis in patients with severe pain syndrome and ineffectiveness of conservative therapy

<sup>1</sup> Kazan State Medical Academy – Branch Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Kazan, Russia  
36, Butlerova street, Kazan, Russia

<sup>2</sup> Medical unit of the Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia  
18, Kremlevskaya street, Kazan, Russia

<sup>3</sup> Kazan State Medical University, Kazan, Russia  
49, Butlerova street, Kazan, Russia

<sup>4</sup> Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia  
18, Kremlevskaya street, Kazan, Russia

E-mail: bulaty555@mail.ru

Received 16.03.21; accepted 16.07.21

### Summary

Osteoarthritis is a common disease of the musculoskeletal system, the cause of pain, loss of joint function and, as a consequence, a factor in the disability of the population. The treatment strategy for patients with gonarthrosis is not fully defined,

especially in patients with stage 1–2. One of the treatment options for such patients is transcatheter embolization of the hypervascular network of the popliteal arteries. The article presents a series of clinical cases of embolization of the popliteal artery branches. Retrograde percutaneous puncture and catheterization of the target femoral artery were performed under local anesthesia. Then, selective angiography of the popliteal artery was performed to identify the hypervascular vasculature of the knee joint. After revealing the target artery along the interventional guidewire, selective catheterization of the artery of the hypervascular vascular network was performed using a microcatheter. Transcatheter arterial embolization of the hypervascular vascular network in osteoarthritis of various origins and localization can be successfully applied as an alternative treatment if conservative therapy is ineffective and if there are contraindications to surgical treatment. It should be noted that further randomized multicenter studies and meta-analyses are needed to introduce this treatment method into everyday clinical practice.

**Keywords:** *osteoarthritis, gonarthrosis, popliteal artery, transcatheter arterial embolization*

**For citation:** Sharafutdinov B. M., Ryzhkin S. A., Gaziev E. A., Mikhailov M. K. Successful experience of transcatheter arterial embolization for gonarthrosis in patients with severe pain syndrome and ineffectiveness of conservative therapy. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2021;20(3):54–60. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-54-60.

## Введение

Остеоартрит коленного сустава (ОА) является весьма распространенным явлением, и с каждым годом его распространенность растет ввиду старения населения [1]. Распространенность ОА коленных суставов, как и другой локализации, различается в зависимости от изучаемой популяции и эпидемиологического метода. Так, заболеваемость ОА коленных суставов, по данным ряда эпидемиологических исследований, колеблется от 2,0 до 42,4 % при использовании для диагностики только клинических критериев, от 16,3 до 33,0 % – рентгенологических критериев и от 1,5 до 15,9 % – комбинации клинических и рентгенологических критериев. В 2010 г. рентгенологически подтвержденный симптоматический ОА коленного сустава затронул примерно 3,8 % людей во всем мире, а ОА коленного и тазобедренного суставов занял 11-е место среди самых распространенных факторов глобальной инвалидности. Частота ОА коленных суставов нарастает с увеличением возраста больных (данная тенденция характерна для пациентов до 80 лет) и выше у лиц женского пола [2]. Эпидемиологическое исследование, проведенное в Соединенных Штатах Америки [3], также свидетельствует о возрастной зависимости в распространенности остеоартрита, которая у лиц старше 60 лет составила 37 %.

В эпидемиологическом исследовании НИИ ревматологии РАМН было выявлено, что в России ОА коленных и (или) тазобедренных суставов страдают около 13 % населения старше 18 лет [4].

Транскатетерная артериальная эмболизация – один из распространенных методов лечения, применяемых в рентгеноэндоваскулярной хирургии. Суть данного метода заключается в достижении окклюзии целевого сосуда путем селективной внутриартериальной транскатетерной инфузии эмболизационного материала. С появлением новых технологий и навыков работы в этой области рентгеноэндоваскулярной хирургии стала возможна эмболизация аномальных сосудов мелкого калибра, которая может быть использована в качестве перспективного метода лечения различных хронических воспалительно-дегенеративных заболеваний.

В исследовании D. Vjug et al. [5] показано, что при неоваскулогенезе в области боли, связанной с хронической болезненной тендинопатией, иммуногистохимически идентифицирована субстанция Р, связанная с сопровождающими сосудистую сеть

нервными волокнами. M. Gotoh et al. [6] измерили уровни субстанции Р в подакромиальной сумке при импиджмент-синдроме и обнаружили, что число иммунореактивных к субстанции Р нервных волокон в области артериальной сети плечевого сустава было значительно повышено. На основании понятия о том, что увеличение числа кровеносных сосудов и сопутствующих нервов является возможным источником боли, селективная окклюзия сосудов может уменьшить выраженность болевого синдрома при консервативном лечении энтезопатий и тендинитов, а также у пациентов, имеющих противопоказания к хирургическому лечению. Кроме того, селективная окклюзия сосудов может уменьшить приток медиаторов воспаления и провоспалительных цитокинов [7].

В исследовании, проведенном Y. Okuno et al. [8], технический успех селективной эмболизации при тендино- и энтезопатиях различных локализаций (тендинит собственной связки надколенника, тендинит плечевого сустава, плантарный фасциит, латеральный эпикондилит, синдром илиотибиального тракта, тендинит ахиллова сухожилия) был достигнут в 100 % случаев, значимых послеоперационных осложнений (некроз тканей, язвенно-некротическое повреждение кожных покровов, разрыв сухожилия, периферические парестезии) в течение наблюдения отмечено не было. Пациенты продолжали принимать консервативную терапию на 1-й день после эмболизации. Регрессия болевого синдрома была достигнута у всех 7 пациентов.

В другом исследовании [9] проводилась транскатетерная артериальная эмболизация подколенных артерий при остеоартрозе коленного сустава у 35 пациентов. Критериями включения в исследование являлось наличие болей в коленном суставе, 1–3-я степень радиологической шкалы остеоартроза по Kellgren – Lawtence, локальная болезненность, возраст 40–80 лет, 3 и более месяца проводимой консервативной терапии, а также показатель визуально-аналоговой шкалы оценки боли (VASscore) более 50 мм. Клинический показатель успеха процедуры в виде снижения уровня проявлений болевого синдрома через 6 месяцев и 3 года после проведения эмболизации подколенных артерий составил, соответственно, 86,3 и 79,8 %.

Таким образом, результаты этих успешных, но пока еще немногочисленных исследований показывают, что транскатетерная эмболизация является потенциально эффективным вариантом лечения у па-

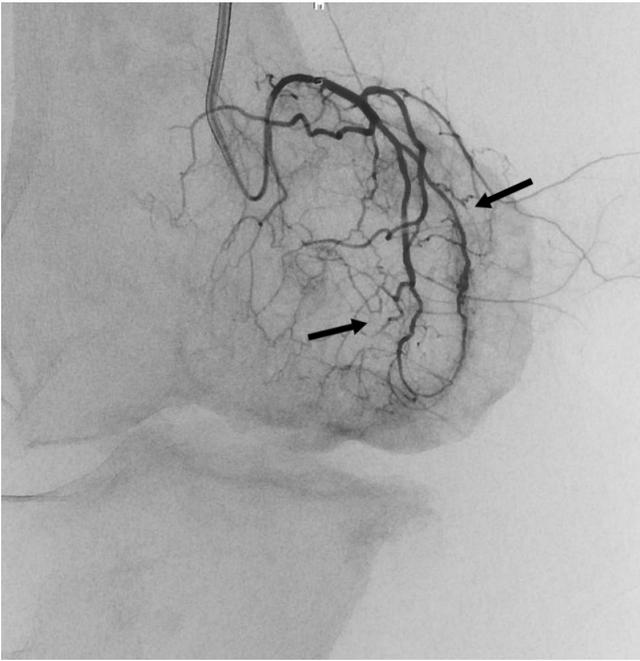


Рис. 1. Ангиография ветвей правой подколенной артерии до эмболизации (клинический случай № 1)

Fig. 1. Angiography of the right popliteal artery branches before embolization (case report No. 1)

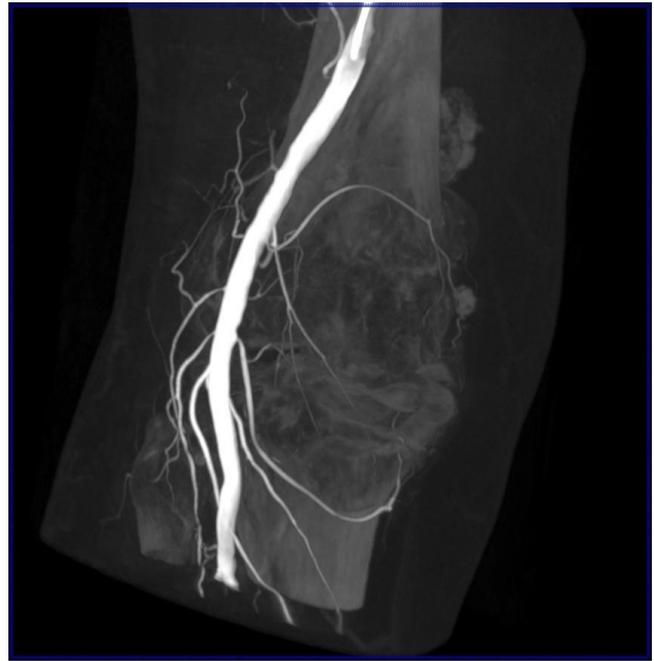


Рис. 2. Ротационная ангиография ветвей правой подколенной артерии (клинический случай № 1)

Fig. 2. Rotational angiography of the right popliteal artery branches (case report No. 1)

циентов с легкой и умеренной степенью боли, а также у пациентов, которые не поддаются консервативному лечению.

**Целью** исследования является оценка результатов транскатетерной артериальной эмболизации при гонартрозе у пациентов с выраженным болевым синдромом при неэффективности консервативной терапии.

#### Клинический случай № 1

Пациент Р., возраст – 68 лет, пол – женский, обратилась к ревматологу университетской клиники



Рис. 3. Контрольная ангиография ветвей правой подколенной артерии после эмболизации (клинический случай № 1)

Fig. 3. Control angiography of the right popliteal artery branches after embolization (case report No. 1)

Казанского федерального университета в ноябре 2019 г. с жалобами на боли в коленных суставах, больше справа, усиливающихся при движениях, подъеме и спуске по лестнице, также боли в области пояснично-крестцового отдела позвоночника, суставах кистей, в правом плечевом суставе.

Госпитализирована в отделение ревматологии университетской клиники Казанского федерального университета для дообследования и решения дальнейшей тактики лечения с основным клиническим диагнозом «Первичный генерализованный остеоартрит с преимущественным поражением коленных суставов, рентген-стадия 2 слева, справа рентген-стадия 3, суставов кистей, стоп, рентген-стадия 2, ФНС 1. Вторичный синовит коленных суставов».

Суставной синдром пациентка отмечает с 2005 г. Принимает хондропротекторы курсами (хондроитина сульфат + глюкозамина сульфат в разных дозах), различные нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) местно, внутрь и парентерально при усилении болевого синдрома. Отмечает увеличение интенсивности болевых ощущений в обоих коленных суставах, несмотря на проводимое консервативное лечение. В феврале 2019 г. проведена эвакуация жидкости из правого коленного сустава, обкалывание Дипроспаном, с незначительным положительным эффектом.

Костно-суставная система: болезненность при пальпации плечевых, лучезапястных суставов, выраженная болезненность при пальпации коленных суставов, сопровождающаяся ограничением движений справа. Боль по шкале VAS правого коленного сустава 82 мм, левого коленного сустава – 65 мм. Ввиду неэффективности предыдущей длительной консервативной терапии пациентке предложено проведение эмболизации ветвей правой подколенной артерии.



Рис. 4. Ангиография ветвей левой подколенной артерии до эмболизации (клинический случай № 2)

Fig. 4. Angiography of the left popliteal artery branches before embolization (case report No. 2)

Под местной анестезией выполнена ретроградная чрескожная пункция и катетеризация правой бедренной артерии. Перед катетеризацией внутривенно введен раствор гепарина 3000 МЕ. Далее выполнена селективная ангиография подколенной артерии с целью выявления гиперваскулярной сосудистой сети правого коленного сустава.

После выявления целевой артерии (гиперваскулярная сосудистая сеть) по интервенционному проводнику с помощью микрокатетера и 3D-ротационной ангиографии проведена селективная катетеризация артерии гиперваскулярной сосудистой сети (рис. 1; 2). Проведена эмболизация эмболизационным материалом 300–500 мкм до стаза контраста в дистальных сегментах (рис. 3). Катетер и интродьюсер удалены. Мануальный гемостаз, без осложнений.

Пациентка выписана на 2-е сутки в удовлетворительном состоянии с улучшением. Через 1 месяц на контрольном осмотре ревматолога после эмболизации пациентка отметила значительное уменьшение интенсивности болевых ощущений в правом коленном суставе, увеличился объем движений в нем. Боль по шкале VAS при пальпации области правого коленного сустава составила 25 мм, пальпация области *pes anserinus* правого коленного сустава была безболезненна. Клинически значимых нежелательных явлений до визита не отмечалось.

### Клинический случай № 2

Пациент М., возраст – 61 год, пол – женский, обратилась к ревматологу университетской клиники Казанского федерального университета в октябре 2019 г. с жалобами на боли в левом коленном суставе, усиливающиеся при ходьбе, периодические боли в покое.

Госпитализирована в отделение ревматологии КФУ с основным клиническим диагнозом «Первич-



Рис. 5. Эмболизация гиперваскулярной сети левой подколенной артерии (клинический случай № 2)

Fig. 5. Hypervascular network embolization of the left popliteal artery (case report No. 2)

ный двухсторонний гонартроз, рентген-стадия 3 слева, рентген-стадия 1 справа, ФНС 1».

Вышеуказанные жалобы беспокоят с 2013 г. Наблюдалась у ревматолога Городского ревматологического центра г. Казани. Принимает хондропротекторы (хондроитина сульфат, глюкозамина гидрохлорид), прием НПВП ограничен ввиду периодических рецидивов язвенной болезни желудка. Клинического эффекта от проводимого консервативного лечения не наблюдалось. С августа 2019 г. принимает Трамадол при выраженных болях в коленных суставах.

Костно-суставная система: болезненность при пальпации левого коленного сустава. Боль по шкале



Рис. 6. Ангиография ветвей левой подколенной артерии после эмболизации (клинический случай № 2)

Fig. 6. Angiography of the left popliteal artery branches after embolization (case report No. 2)

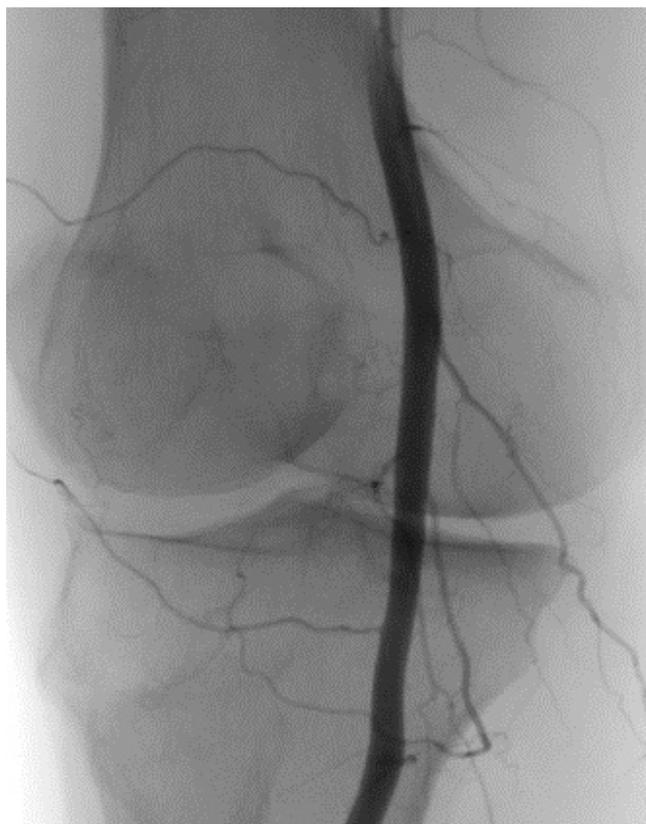


Рис. 7. Ангиография ветвей правой подколенной артерии до эмболизации (клинический случай № 3)

Fig. 7. Angiography of the right popliteal artery branches before embolization (case report No. 3)

VAS правого коленного сустава 77 мм, левого коленного сустава – 23 мм. Пациентке предложено проведение эмболизации ветвей левой подколенной артерии.

Под местной анестезией выполнена ретроградная чрескожная пункция и катетеризация левой бедренной артерии после предварительного внутривенного введения 3000 МЕ гепарина. После селективной ангиографии (рис. 4) и выявления целевой артерии (гиперваскулярная сосудистая сеть) по интервенционному проводнику с помощью микрокатетера проведена селективная катетеризация артерии гиперваскулярной сосудистой сети (рис. 5).

Проведена эмболизация эмболизационным материалом 300–500 мкм до стаза контраста в дистальных сегментах (рис. 6).

Пациентка выписана на 3-и сутки в удовлетворительном состоянии с улучшением. Через 1 месяц на контрольном осмотре ревматолога после эмболизации пациентка отмечает значительное уменьшение интенсивности болевого синдрома в левом коленном суставе. Боль по шкале VAS при пальпации области правого коленного сустава составила 27 мм.

### Клинический случай № 3

Пациент Э., возраст – 54 года, пол – женский, обратилась к ревматологу университетской клиники Казанского федерального университета в декабре 2019 г. с жалобами на боли в обоих коленных суставах, больше справа, возникающие при нагрузке, хромоту, ограничение объема движений справа, утреннюю скованность в коленных суставах.



Рис. 8. Эмболизация гиперваскулярной сети правой подколенной артерии (клинический случай № 3)

Fig. 8. Hypervascular network embolization of the left popliteal artery (case report No. 3)

Госпитализирована в отделение ревматологии КФУ с основным клиническим диагнозом «Первичный двусторонний гонартроз, рентген-стадия 3 справа, рентген-стадия 2 слева, ФНС 1».

Вышеуказанные жалобы беспокоят около 10 лет. Принимает НПВП, хондропротекторы. Различные физиотерапевтические методы лечения (электро-терапия, иглоукальвание, ультразвук) не снижают интенсивность болевого синдрома в долгосрочном порядке.

Костно-суставная система: болезненность при пальпации правого коленного сустава. Боль по шкале VAS правого коленного сустава 85 мм, левого коленного сустава – 40 мм. Пациентке предложено проведение эмболизации ветвей правой подколенной артерии.

После введения 3000 МЕ гепарина, антеградной катетеризации правой общей бедренной артерии, селективной ангиографии (рис. 7) и выявления гиперваскулярной сосудистой сети микрокатетером при помощи интервенционного проводника выполнена селективная катетеризация артерии гиперваскулярной сосудистой сети (рис. 8). Проведена эмболизация 300–500 мкм эмболизационным материалом до стаза контраста в дистальных сегментах (рис. 9).

Пациентка выписана на 2-е сутки в удовлетворительном состоянии с улучшением. Через 1 месяц на контрольном осмотре ревматолога после эмболизации пациентка отмечает значительное уменьшение интенсивности болевого синдрома в левом коленном

ном суставе. Боль по шкале VAS при пальпации области правого коленного сустава составила 36 мм.

### Результаты исследования и их обсуждение

В дальнейшем пациенты были приглашены на амбулаторный осмотр к врачу-ревматологу через 1 месяц и через 3 месяца после проведенной манипуляции для оценки эффективности транскатетерной эндоваскулярной эмболизации. Через 1 месяц на контрольном осмотре ревматолога после эмболизации все пациенты отметили значительное уменьшение интенсивности болевых ощущений в коленных суставах, увеличение объема движений в них. Отмечается снижение в потребности приема НПВП. На повторном осмотре через 3 месяца после эмболизации у всех 3 пациентов отмечалось сохранение эффекта от проведенной процедуры, интенсивность болевых ощущений в коленных суставах не увеличивалась.

Как известно, ОА колена является сложным, многофакторным заболеванием без четко сформированного принципа лечения. К факторам риска относятся травма сустава, сила и масса мышц, ожирение, пол, метаболические факторы, факторы питания, плотность костей, психологическое здоровье и вид трудовых занятий [10, 11]. Основные принципы лечения ОА коленного сустава включают в себя внутрисуставные кортикостероиды, физические упражнения, контроль веса и прием пероральных препаратов, таких как парацетамол и нестероидные противовоспалительные средства [12]. Замена сустава обычно рекомендована пациентам с тяжелыми заболеваниями суставов, болями и функциональными ограничениями [13].

Одним из основных патогенетических звеньев развития воспаления при ОА является ангиогенез, опосредованный преимущественно влиянием фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) [14]. Ангиогенез – это рост кровеносных сосудов от существующей сосудистой системы, который необходим для роста и развития и восстановления тканей [15]. Результатом неоваскуляризации является приток медиаторов воспаления и, как следствие, усиление болевого синдрома в периартикулярных тканях и внутрисуставных структурных элементах – сухожилиях, энтезисах, суставной капсуле, хряще и т. д. Сопровождающий воспалительные изменения ангиогенез стимулирует прорастание новых сенсорных волокон в ткани поврежденного сустава и может способствовать хронизации боли даже после стихания воспаления [16]. Поскольку ангиогенез сопровождается ростом чувствительных нервов, периваскулярный нерв переходит обычно в аневральные структуры. Считается, что суставной хрящ и мениск способствуют боли при ОА за счет химической и механической стимуляции новообразованных нервов. Блокирование ангиогенеза и связанного с ним роста нервов – это вероятный путь лечения, влияющий на патогенез и симптомы ОА [17]. Использование ингибитора ангиогенеза снижало болевое поведение на моделях у животных [18]. Механизм облегчения симптомов не ясен, но может включать в себя уменьшение синовита, уменьшение периартикулярной иннервации и поддержание целостности остеохондрального соединения [17].



Рис. 9. Ангиография ветвей правой подколенной артерии после эмболизации (клинический случай № 3)

Fig. 9. Angiography of the right popliteal artery branches after embolization (case report No. 3)

### Заключение

Транскатетерная артериальная эмболизация гипervasкулярной сосудистой сети при остеоартрозах различного генеза может быть рассмотрена в качестве альтернативного лечения при неэффективности консервативной терапии и наличии противопоказаний к оперативному лечению. Резюмируя вышеуказанные клинические случаи, а также результаты исследований с высоким процентом клинического успеха транскатетерной эмболизации при данной патологии, следует отметить необходимость дальнейшего проведения рандомизированных многоцентровых исследований и метаанализов для внедрения данного метода лечения в повседневную клиническую практику.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

### Соответствие нормам этики / Ethical Compliance

Все пациенты, участвующие в научном исследовании, дали на это письменное добровольное информированное согласие. / All patients participating in the research study have given written voluntary informed consent.

### Литература / References

1. Cross M, Smith E, Hoy D, Nolte S, Ackerman I, Franzen M, et al. The global burden of hip and knee osteoarthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study // *Ann Rheum Dis.* 2014;73(7):1323–1330. Doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204763.

2. Comas M, Sala M, Román R, Hoffmeister L, Castells X. Variaciones en la estimación de la prevalencia de artrosis de rodilla según los criterios diagnósticos utilizados en los estudios poblacionales // *Gac Sanit*. 2010;24(1):28–32. Spanish. Doi: 10.1016/j.gaceta.2009.06.002.
3. Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, Arnold LM, Choi H, Deyo RA et al. National Arthritis Data Workgroup. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II // *Arthritis Rheum*. 2008;58(1):26–35. Doi: 10.1002/art.23176.
4. Галушко Е. А., Большакова Т. В., Виноградова И. Б. и др. Структура ревматических заболеваний среди взрослого населения России по данным эпидемиологического исследования (предварительные результаты) // *Науч.-практ. ревматология*. – 2009. – Т. 47, № 1. – С. 11–17. [Galushko EA, Bolshakova TY, Vinogradova IB, Ivanova ON, Lesnyak OM, Menshikova LV, Petrachkova TN, Erdes SF. Structure of rheumatic diseases among adult population of Russia according to data of an epidemiological study (preliminary results) // *Rheumatology Science and Practice*. 2009;47(1):11–17. (In Russ.)]. Doi: 10.14412/1995-4484-2009-136.
5. Bjur D, Alfredson H, Forsgren S. The innervation pattern of the human Achilles tendon: studies of the normal and tendinosis tendon with markers for general and sensory innervation // *Cell Tissue Res*. 2005;320(1):201–206. Doi: 10.1007/s00441-004-1014-3.
6. Gotoh M, Hamada K, Yamakawa H, Inoue A, Fukuda H. Increased substance P in subacromial bursa and shoulder pain in rotator cuff diseases // *J Orthop Res*. 1998;16(5):618–621. Doi: <https://doi.org/10.1002/jor.1100160515>.
7. Okuno Y, Iwamoto W, Matsumura N, Oguro S, Yasumoto T, Kaneko T, et al. Clinical Outcomes of Transcatheter Arterial Embolization for Adhesive Capsulitis Resistant to Conservative Treatment // *J Vasc Interv Radiol*. 2017;28(2):161–167. Doi: 10.1016/j.jvir.2016.09.028.
8. Okuno Y, Matsumura N, Oguro S. Transcatheter arterial embolization using imipenem/cilastatin sodium for tendinopathy and enthesopathy refractory to nonsurgical management // *J Vasc Interv Radiol*. 2013;24(6):787–92. Doi: 10.1016/j.jvir.2013.02.033.
9. Okuno Y, Korchi AM, Shinjo T, Kato S, Kaneko T. Mid-term Clinical Outcomes and MR Imaging Changes after Transcatheter Arterial Embolization as a Treatment for Mild to Moderate Radiographic Knee Osteoarthritis Resistant to Conservative Treatment // *J Vasc Interv Radiol*. 2017;28(7):995–1002. Doi: 10.1016/j.jvir.2017.02.033.
10. Blagojevic M, Jinks C, Jeffery A, Jordan KP. Risk factors for onset of osteoarthritis of the knee in older adults: a systematic review and meta-analysis // *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18(1):24–33. Doi: 10.1016/j.joca.2009.08.010.
11. McAlindon TE, Bannuru RR, Sullivan MC, Arden NK, Berenbaum F, Bierma-Zeinstra SM, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis // *Osteoarthritis Cartilage*. 2014;22(3):363–388. Doi: 10.1016/j.joca.2014.01.003.
12. Dieppe P, Lim K, Lohmander S. Who should have knee joint replacement surgery for osteoarthritis // *Int J Rheum Dis*. 2011;14(2):175–180. Doi: 10.1111/j.1756-185X.2011.01611.x.
13. Loeser RF, Goldring SR, Scanzello CR, Goldring MB. Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ // *Arthritis Rheum*. 2012;64(6):1697–1707. Doi: 10.1002/art.34453.
14. Robinson WH, Lepus CM, Wang Q, Raghu H, Mao R, Lindstrom TM, et al. Low-grade inflammation as a key mediator of the pathogenesis of osteoarthritis // *Nat Rev Rheumatol*. 2016;12(10):580–592. Doi: 10.1038/nrrheum.2016.136.
15. Wang Y, Xu J, Zhang X, Wang C, Huang Y, Dai K. et al. TNF- $\alpha$ -induced LRG1 promotes angiogenesis and mesenchymal stem cell migration in the subchondral bone during osteoarthritis // *Cell Death Dis*. 2017;8(3):E2715. Doi: 10.1038/cddis.2017.129.
16. Туровская Е. Ф., Алексеева Л. И., Филатова Е. Г. Современные представления о патогенетических механизмах боли при остеоартрозе // *Научно-практ. ревматология*. 2014. – Т. 52, № 4. – С. 438–444. [Turovskaya EF, Alekseeva LI, Filatova EG. Current ideas about the pathogenetic mechanisms of pain in osteoarthritis // *Rheumatology Science and Practice*. 2014;52(4):438–444. (In Russ.)]. Doi: 10.14412/1995-4484-2014-438-444.
17. Mapp PI, Walsh DA. Mechanisms and targets of angiogenesis and nerve growth in osteoarthritis // *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8(7):390–398. Doi: 10.1038/nrrheum.2012.80.
18. Ashraf S, Mapp PI, Walsh DA. Contributions of angiogenesis to inflammation, joint damage, and pain in a rat model of osteoarthritis // *Arthritis Rheum*. 2011;63(9):2700–2710. Doi: 10.1002/art.30422.

### Информация об авторах

**Шарафутдинов Булат Марсович** – канд. мед. наук, ассистент кафедры кардиологии, рентгеноэндоваскулярной и сердечно-сосудистой хирургии, КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО, г. Казань, Россия, зав. отделением рентгенохирургических методов диагностики и лечения Медико-санитарной части, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия, e-mail: bulaty555@mail.ru.

**Рыжкин Сергей Александрович** – д-р мед. наук, доцент, доцент кафедры лучевой диагностики, КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО, г. Казань, Россия, доцент кафедры общей гигиены, Казанский ГМУ, доцент кафедры медицинской физики, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия, e-mail: rsa777@inbox.ru.

**Газиев Эдгар Айратович** – врач отделения рентгенохирургических методов диагностики и лечения Медико-санитарной части, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

**Михайлов Марс Константинович** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой лучевой диагностики, КГМА – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО, г. Казань, Россия, e-mail: mikhailovmk@mail.ru.

### Authors information

**Sharafutdinov Bulat M.** – Cand. Med. Sc., Head of Angiographic Department, Health Service of Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia, Assistant at the Department of Cardiology, X-ray Endovascular and Cardiovascular Surgery, Kazan State Medical Academy – Branch Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Kazan, Russia, e-mail: bulaty555@mail.ru.

**Ryzhkin Sergey A.** – Dr. Med. Sc., Associate Professor of the Department of X-ray Diagnostics, Kazan State Medical Academy – Branch Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Kazan, Russia, Associate Professor of the Department of General Hygiene, Kazan State Medical University, Kazan, Russia, Associate Professor of the Department of Medical Physics, Institute of Physics of Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia, e-mail: rsa777@inbox.ru.

**Gaziev Edgar A.** – Surgeon of Angiographic Department, Health Service of Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia.

**Mikhailov Mars K.** – Dr. Med. Sc., Professor, Chief of the Department of X-ray Diagnostics, Kazan State Medical Academy – Branch Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Kazan, Russia, e-mail: mikhailovmk@mail.ru.

УДК 599.323.4:618.3:612.017.2]:543.9  
DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-61-69

Л. Е. БЕЛЯЕВА, А. Н. ПАВЛЮКЕВИЧ

## Биохимическая оценка системы синтеза оксида азота у пренатально стрессированных крыс

Учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
г. Витебск, Республика Беларусь  
Республика Беларусь, г. Витебск, пр. Фрунзе, д. 27  
E-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by

Статья поступила в редакцию 17.11.20 г.; принята к печати 04.02.21 г.

### Резюме

**Введение.** Развитие беременности в неблагоприятных условиях может способствовать нарушению образования оксида азота NO у потомства в постнатальной жизни и «программировать» заболевания сердечно-сосудистой системы потомства. Выяснение особенностей и механизмов нарушения функционирования системы синтеза и действия оксида азота после перенесенного пренатального стресса позволит расширить представления о патогенезе целого ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы и предложить новые подходы к их профилактике и лечению. **Цель** – оценить характер образования и действия оксида азота у половозрелых крыс, матери которых во время беременности подвергались воздействию хронического «непредсказуемого» стресса. **Материалы и методы.** Из беременных крыс сформировали группы «контроль» и «стресс» (по 20 голов). Крыс группы «стресс» подвергали неоднократным стрессорным воздействиям через различные промежутки времени: лишению пищи в течение суток, иммобилизации в воде комнатной температуры в течение 20 мин, контакту с экскрементами кошек в течение суток. В сыворотке крови 3-месячного потомства (n=96, в том числе группа «контроль» самцы – 24, группа «контроль» самки – 26, группа «стресс» самцы – 22, группа «стресс» самки – 24) определяли содержание конечных продуктов деградации NO – нитратов/нитритов ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ), концентрацию эндотелиальной (eNOS) и индуцибельной (iNOS) изоформ NO-синтазы, ингибитора NO-синтазной реакции – асимметричного диметиларгинина (АДМА), содержание циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), концентрацию продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА), а также концентрацию С-реактивного белка высокочувствительным методом ( $^{\text{hs}}\text{CRP}$ ). **Результаты.** Было обнаружено снижение содержания eNOS и цГМФ (на 12,9 и 31,9 % соответственно), повышение концентрации iNOS,  $^{\text{hs}}\text{CRP}$  и АДМА (на 49,9, 20,3 и 63,1 % соответственно) без статистически значимых изменений уровня  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ , а также увеличение содержания ДК на 21,1 % и МДА в 1,5 раза в сыворотке крови пренатально стрессированных самцов, по сравнению с самцами, родившимися у крыс группы «контроль». У самок, матери которых подвергались хроническому «непредсказуемому» стрессу во время беременности, были обнаружены тенденция к снижению концентрации eNOS, увеличение содержания iNOS на 30,6 %,  $^{\text{hs}}\text{CRP}$  на 23,9 % и МДА в 2,3 раза (сравнение с соответствующими показателями группы «контроль» самки) без статистически значимых изменений в концентрации цГМФ, АДМА,  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  и ДК в сыворотке крови. **Выводы.** Выявленные изменения в системе образования и функционирования оксида азота у пренатально стрессированных крыс-самцов могут свидетельствовать о высоком риске поражения у них сердечно-сосудистой системы.

**Ключевые слова:** пренатальный стресс, NO-синтаза, асимметричный диметиларгинин, цГМФ, нитраты/нитриты, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, С-реактивный белок

**Для цитирования:** Беляева Л. Е., Павлюкевич А. Н. Биохимическая оценка системы синтеза оксида азота у пренатально стрессированных крыс. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021;20(3):61–69. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-61-69.

UDC 599.323.4:618.3:612.017.2]:543.9  
DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-61-69

L. E. BELYAeva, H. N. PAULIUKEVICH

## The biochemical estimation of the nitric oxide system in prenatally stressed rats

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus  
27, Frunze pr., Vitebsk, Republic of Belarus  
E-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by

Received 17.11.20; accepted 04.02.21

### Summary

**Introduction.** Pregnancy development following unfavorable conditions could facilitate disorders of nitric oxide (NO) production during offspring's postnatal life and «program» offspring's cardiovascular diseases. Investigation of particular features and mechanisms of nitric oxide synthesis and action disorders following prenatal stress will promote expansion of considerations about pathogenesis of different cardiovascular diseases and propose new approaches to their prevention and management. The *aim* of the investigation is to assess the nature of nitric oxide synthesis and action in mature rats whose moth-

ers were exposed to chronic «unpredictable» stress during pregnancy. *Materials and methods.* Pregnant rats were subdivided into the «control» and «stress» groups (in 20 animals). The rats from the «stress» group were exposed to multiple different stressors at various intervals, such as 1-day famine; 20-min. immobilization in the water at room temperature; 1-day contact with cats' excrements. In the blood serum of 3-mo offspring (n=96, including «control» males – 24, «control» females – 26, «stress» males – 22, «stress» females – 24) concentration of the stable products of NO degradation – nitrates/nitrites ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ), endothelial (eNOS) and inducible (iNOS) isoforms of the NO-synthase, inhibitor of NO-synthase asymmetric dimethylarginine (ADMA), cyclic guanosine monophosphate (cGMP), lipid peroxidation products – diene conjugates (DC) and malonic dialdehyde (MDA) and C-reactive protein ( $^{\text{hs}}\text{CRP}$ ) was detected. *Results.* The decrease of eNOS and cGMP concentration (by 12.9 and 31.9 %, respectively), increase of iNOS,  $^{\text{hs}}\text{CRP}$  and ADMA concentration (by 49.9, 20.3 и 63.1 %, respectively) without statistically significant fluctuation in the  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  level and accumulation of DC and MDA by 21.1 % and 1.5 times in a prenatally stressed male rats' blood serum were found (as compared with «control» male rats). In a blood serum of female rats, whose mothers were exposed to chronic «unpredictable» stress during pregnancy, a tendency to eNOS concentration decreasing, and increase of iNOS by 30.6 %,  $^{\text{hs}}\text{CRP}$  by 23.9 % and MDA by 2.3 times without statistically significant changes in cGMP, ADMA,  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ , and DC concentration were detected (as compared with «control» female rats). *Conclusion.* Identified changes of the nitric oxide system synthesis and action in the prenatally stressed male rats could argue the high risk of their cardiovascular system lesion.

**Keywords:** prenatal stress, NO-synthase, asymmetric dimethylarginine, cGMP, nitrates/nitrites, diene conjugates, malonic dialdehyde, C-reactive protein

**For citation:** Belyaeva L. E., Pauliukevich H. N. The biochemical estimation of the nitric oxide system in prenatally stressed rats. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2021;20(3):61–69. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-61-69.

## Введение

Оксид азота NO представляет собой сигнальную молекулу малых размеров (диаметром около 1 нм) с высокой диффузионной способностью, интра-, ауто- и паракринным действием, активно реагирующую с другими биомолекулами и имеющую период существования всего около 2 мс, что делает достаточно сложным определение концентрации этого вещества [1]. В настоящее время количественные методы по определению содержания оксида азота условно разделяются на две группы: 1) прямые методы определения NO *in situ* в режиме реального времени, которые являются весьма точными, но малоудобными при трансляции результатов научных исследований в практику; 2) непрямые методы, основанные на определении содержания в крови метаболитов оксида азота (нитратов/нитритов) и (или) различных изоформ NO-синтазы и измерении ее активности [2].

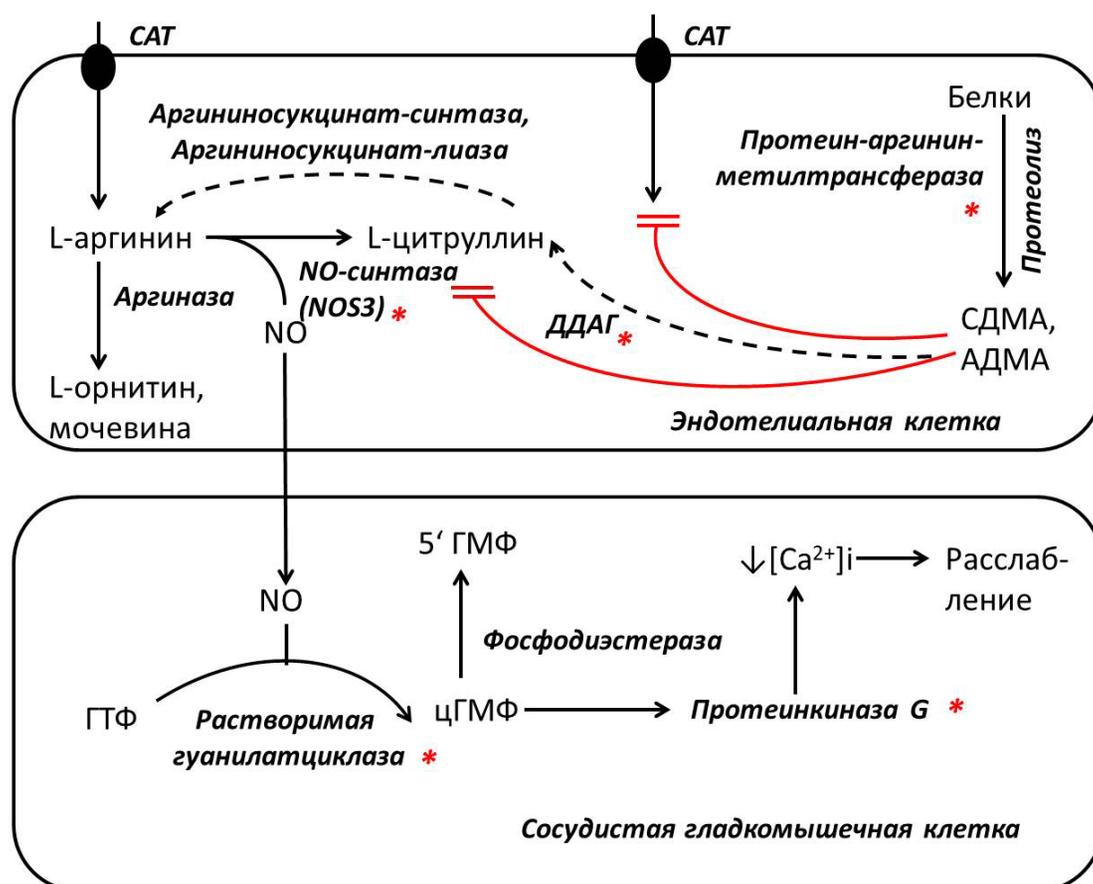
Оксид азота NO был назван «чудесной молекулой» за важность его роли в регуляции функционирования сердечно-сосудистой системы. Помимо вазодилаторного действия, описанного в 80-е гг. прошлого века, NO обеспечивает атромбогенные свойства эндотелия; подавляет воспаление в сосудистой стенке; регулирует ангиогенез; подавляет пролиферацию сосудистых гладкомышечных клеток; ингибирует окисление ЛПНП и др. [3]. Краткие представления об образовании и действии оксида азота в сосудистой стенке показаны на рис. 1.

Оксид азота в кровеносных сосудах ферментативным путем образуется эндотелиальной NO-синтазой (eNOS, NOS3), индуцибельной NO-синтазой (iNOS, NOS2), экспрессирующейся в сосудистых гладкомышечных клетках, нейтрофилах, макрофагах и тромбоцитах, а также нейрональной NO-синтазой (nNOS, NOS1) и митохондриальной NO-синтазой (mtNOS) из аминокислоты L-аргинина (для этого расходуется примерно 1,5 % от количества этой аминокислоты в организме), а также неферментативным путем из нитратов и нитритов (с участием бактерий, а также в условиях гипоксии и ацидоза). На рис.1 показано действие только eNOS в эндотелиоцитах в физио-

логических условиях. L-аргинин транспортируется в клетки катионными переносчиками CAT. В физиологических условиях NO-синтаза образует оксид азота и L-цитруллин, а при недостатке кофактора тетрагидробиоптерина и при окислительном стрессе происходит «разобщение» NOS, и этот фермент образует супероксидный радикал и пероксинитрит. Концентрация нитратов/нитритов в биологических жидкостях отражает «валовое» образование NO всеми изоформами NOS. В клетках присутствуют естественные ингибиторы NOS – симметричный диметиларгинин (СДМА) и асимметричный диметиларгинин (АДМА), которые ограничивают продукцию NO: СДМА – подавляя транспорт L-аргинина, а АДМА – конкурентно ингибируя активность NOS. Под влиянием ферментов диметиларгинин диметиламиногидролаз (ДДАГ) АДМА разрушается и превращается в L-цитруллин. Оксид азота диффундирует в сосудистые гладкомышечные клетки (сГМК), в которых он активирует растворимую гуанилатциклазу, превращающую ГТФ в цГМФ. Этот нуклеотид посредством активации протеинкиназы G способствует снижению содержания ионизированного кальция в сГМК с последующим их расслаблением. Концентрация цГМФ в крови зависит, во-первых, от активности растворимой и мембранно-связанной изоформ гуанилатциклазы (причем последняя активируется натрийуретическими пептидами); во-вторых, от активности фосфодиэстераз, разрушающих цГМФ, и, в-третьих, от активности белков-транспортеров, выводящих цГМФ из клеток [4–6].

Таким образом, образование и действие оксида азота на клетки сосудистой стенки зависят от множества факторов: экспрессии различных изоформ NO-синтазы и их активности, наличия субстрата и кофакторов для NO-синтазной реакции, а также от концентрации ингибиторов этой реакции; количества образующихся активных форм кислорода (АФК), активности растворимой гуанилатциклазы и характера активности протеинкиназ, связанных с eNOS и др.

Уменьшение количества и (или) снижение биодоступности NO, образуемого в основном eNOS,



\* - биохимические пути, изменяющиеся при окислительном стрессе;

—| ингибирование

Рис. 1. Упрощенные представления об образовании и действии оксида азота в сосудистой стенке

Fig. 1. Simplified interpretation of nitric oxide synthesis and action in the vascular wall

а также повышенное образование оксида азота iNOS – одно из проявлений дисфункции эндотелиоцитов кровеносных сосудов и важное звено патогенеза различных форм патологии сердечно-сосудистой системы: артериальной гипертензии, атеросклероза, ишемической болезни сердца, сосудистых осложнений сахарного диабета и заболеваний почек, септического шока и др. [7]. Многочисленные экспериментальные исследования показывают, что нарушение самых ранних периодов онтогенеза (при развитии беременности в неблагоприятных условиях, например, при гипоксии, неадекватном питании, действии повышенных концентраций глюкокортикоидов, веществ, нарушающих функционирование эндокринной системы и др.) сопровождается изменениями образования и действия NO в более поздние периоды постнатальной жизни [8–11] и вызывает раннее «программирование» заболеваний сердечно-сосудистой системы. Выяснение особенностей и механизмов нарушения функционирования системы синтеза и действия оксида азота крайне актуально, так как позволит расширить представления о патогенезе целого ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы, а значит, и предложить новые подходы к профилактике и лечению таких заболеваний.

**Цель** работы – оценить характер образования и действия оксида азота у половозрелых крыс, матери которых во время беременности подвергались

воздействию хронического «непредсказуемого» стресса.

### Материалы и методы исследования

Эксперименты на животных проводили в соответствии с рекомендациями Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, ТКП 125-2008. Протокол исследования одобрен комитетом по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» (от 30.04.2019 г.). Для получения потомства были отобраны и высажены в клетки в соотношении 1:1 по 20 4-месячных, не использовавшихся ранее для воспроизводства самок и самцов беспородных белых крыс, находящихся в стандартных условиях вивария и получающих стандартный рацион. После наступления беременности, первым днем которой считали день обнаружения сперматозоидов во влагалищном мазке самки, самцы были отсажены, из самок методом случайного выбора сформировали равночисленные группы «контроль беременные» и «стресс беременные». Для моделирования хронического «непредсказуемого» стресса во

## Характеристика используемых наборов для ИФА

## Parameters of employed ELISA kits

Определяемое вещество	Производитель, наименование набора	Минимальная определяемая концентрация вещества
eNOS	Cloud-Clone Corp. (SEA868Ra ELISA Kit for Nitric Oxide Synthase 3, Endothelial, NOS3)	0,65 нг/мл
iNOS	Cloud-Clone Corp. (E-EL-R0520 ELISA Kit for Nitric Oxide Synthase 2, Inducible, NOS2)	0,62 нг/мл
цГМФ	Elabscience (Cyclic GMP, Catalog № E-EL-0083)	0,47 пмоль/мл
АДМА	Bioassay Technology Laboratory (EA0008Ra ELISA Kit for Rat Asymmetrical Dimethylarginine)	0,99 нг/мл
hsCRP	Elabscience (high-sensitivity C-Reactive Protein, Catalog № E-EL-R0506)	0,1 нг/мл

2-й, 9-й и 16-й дни беременности крыс лишали пищи в течение суток, обеспечивая свободный доступ к воде; в 4-й и 11-й дни их фиксировали в вертикальном положении в пластиковом пенале, заполненном водой ( $t=23\pm 2$  °C), до уровня шеи, в течение 20 мин; в 6-й и 13-й дни беременности имитировали присутствие хищника (контакт с экскрементами кошек в течение суток). Данная модель стресса была разработана нами на основании данных о воздействии стрессоров на беременных грызунов [12] таким образом, чтобы не вызвать у беременных крыс преждевременные роды. Стресс такого рода вызывает серьезные нарушения поведения половозрелого потомства, а также способствует повышению у них артериального давления [13]. В 3-месячном возрасте потомство крыс ( $n=96$ , в том числе группа «контроль» самцы – 24, группа «контроль» самки – 26, группа «стресс» самцы – 22, группа «стресс» самки – 24) взвешивали с помощью весов настольных электронных ВН-15 ГП «Завод Эталон» (Республика Беларусь), затем наркотизировали нембуталом (60 мг/кг, внутривенно) и декапитуировали, собирая кровь в пробирку. В сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли концентрацию eNOS, iNOS, цГМФ, АДМА и С-реактивного белка (hsCRP) при длине волны для определения оптической плотности, составлявшей  $450\pm 10$  нм, с помощью фотометра универсального Ф 300 ТП (ОАО «Витязь», Республика Беларусь). Полученные данные обрабатывали с помощью программы «MedARM» (версия 3.4). Характеристика наборов, используемых для ИФА, приведена в таблице.

Спектрофотометрически в сыворотке крови потомства определяли концентрацию продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) [14, 15], а также содержание стабильных продуктов деградации оксида азота – нитратов/нитритов ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ) – методом, основанным на восстановлении нитратов до нитритов цинковой пылью в щелочной среде в присутствии аммиачного комплекса сульфата меди с последующим определением нитрит-ионов с помощью реакции Грисса при длине волны 520 нм [16]. Использовали спектрофлуориметр CM 2203, ЗАО «Спектроскопия, Оптика и Лазеры – Авангардные Разработки» (Республика Беларусь).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы «Statistica 10.0». Харак-

теристики частотных распределений представляли в виде Ме (15 %; 85 %). Цифровые данные сравнивали с использованием U-критерия Манна – Уитни для независимых групп, так как распределение данных в сравниваемых группах не соответствовало нормальному, что обосновывает необходимость использования данного критерия [17]. Различия цифровых показателей считали статистически значимыми при  $p<0,05$ .

## Результаты исследования и их обсуждение

Масса тела крыс группы «стресс» статистически значимо не отличалась от таковой у контрольных крыс: 236 (212; 274) г против 237 (206; 260) г у самок ( $p=0,314$ ) и 294 (250; 374) г против 295 (260; 363) г у самцов ( $p=0,890$ ) соответственно.

Концентрация eNOS в сыворотке крови контрольных самок была более чем в 2 раза выше ( $p=0,006$ ), по сравнению с таковой у самцов (рис. 2).

В сыворотке крови самцов, перенесших пренатальный стресс, содержание eNOS снижалось на 12,9 % ( $p=0,039$ ) по сравнению с концентрацией eNOS у самцов контрольной группы. Содержание eNOS в сыворотке крови пренатально стрессированных самок имело тенденцию к снижению ( $p=0,066$ , сравнение с показателем в группе контрольных самок), но все же было большим, чем у пренатально стрессированных самцов ( $p<0,001$ ).

Содержание iNOS в сыворотке крови контрольных самок и самцов статистически значимо не различалось. У самцов и самок, перенесших пренатальный стресс, концентрация iNOS в сыворотке крови возрастала на 49,9 % ( $p<0,001$ ) и 30,6 % ( $p=0,024$ ) (сравнение с концентрацией iNOS в крови контрольных крыс соответствующего пола) (рис. 3).

Статистически значимых различий в концентрации стабильных продуктов деградации оксида азота в сыворотке крови ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ) контрольных и пренатально стрессированных крыс выявлено не было.

Концентрация естественного ингибитора NO-синтазы – АДМА – в сыворотке крови контрольных самок и самцов статистически значимо не различалась. Развитие беременности в условиях хронического стресса способствовало повышению содержания АДМА в сыворотке крови у родившихся самцов на 63,1 % ( $p=0,009$ ), причем концентрация АДМА была значительно большей по сравнению с таковой

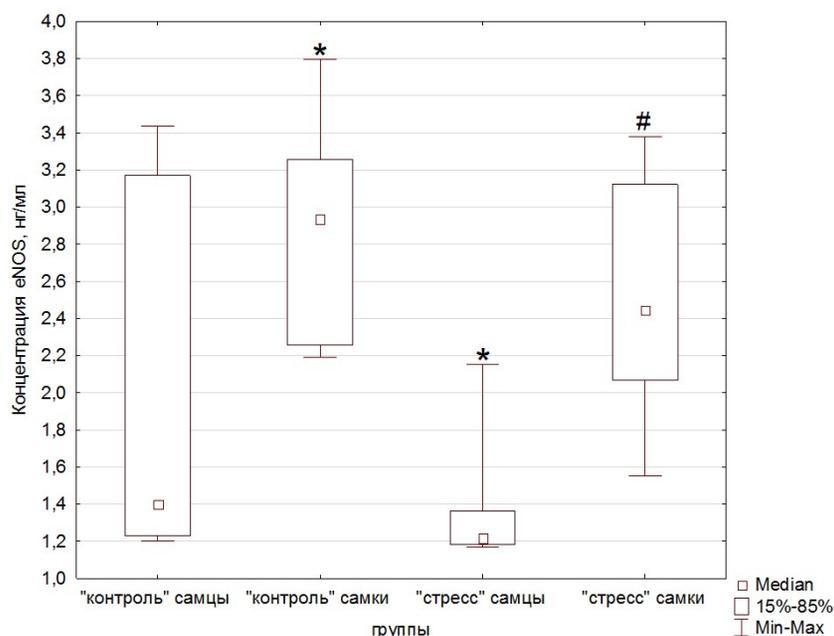


Рис. 2. Содержание eNOS в сыворотке крови крыс, нг/мл: \* –  $p < 0,05$ , сравнение с группой «контроль» самцы; # –  $p < 0,05$ , сравнение с группой «стресс» самцы

Fig. 2. The concentration of eNOS in the rats' blood serum, ng/ml: \* –  $p < 0.05$  comparison with males of the «control» group; # –  $p < 0.05$  comparison with males of the «stress» group

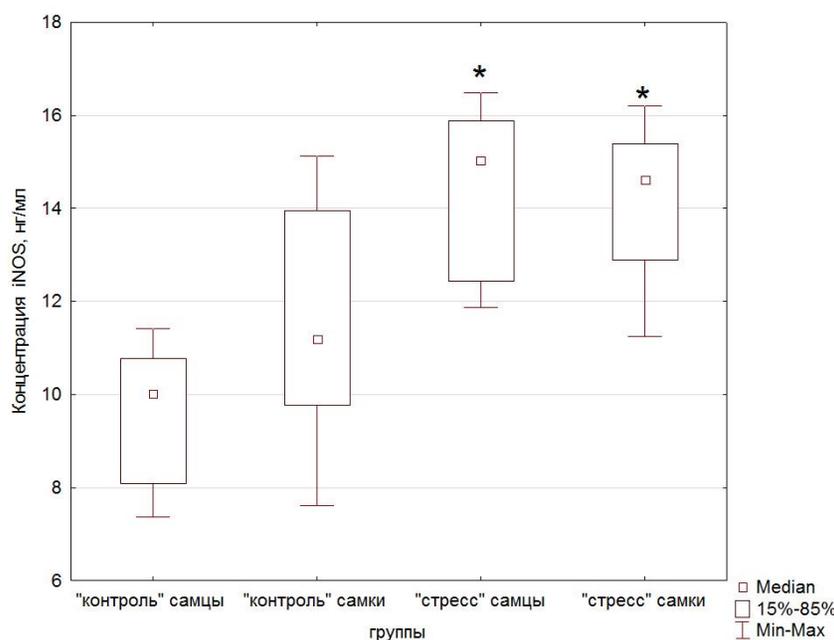


Рис. 3. Содержание iNOS в сыворотке крови крыс, нг/мл: \* –  $p < 0,05$ , сравнение с группой «контроль» соответствующего пола

Fig. 3. The concentration of iNOS in the rats' blood serum, ng/ml: \* –  $p < 0.05$  comparison with the «control» group of corresponding gender

у самок этой же группы ( $p < 0,001$ ). У пренатально стрессированных и контрольных самок статистически значимых изменений содержания этого ингибитора NO-синтазы в сыворотке крови выявлено не было (рис. 4).

Статистически значимых половых различий в содержании цГМФ в сыворотке крови контрольных крыс также не было выявлено. У пренатально стрессированных самцов, но не самок, концентрация цГМФ в сыворотке крови на 31,9 % была ниже таковой ( $p = 0,024$ ) в сыворотке крови контрольных самцов (рис. 5).

Содержание МДА в сыворотке крови контрольных крыс разного пола статистически значимо не различалось. Пренатальный стресс способствовал увеличению содержания ДК в сыворотке крови самцов, но не самок, на 21,1 % ( $p = 0,005$ ), в то время как повышенное содержание МДА было выявлено у крыс обоих полов – в 1,5 раза у самцов ( $p < 0,001$ ) и в 2,3 раза у самок ( $p < 0,001$ ) по сравнению с таковыми в сыворотке крови контрольных крыс соответствующего пола.

Содержание <sup>hs</sup>СРБ в сыворотке крови пренатально стрессированных крыс превышало соответствующую

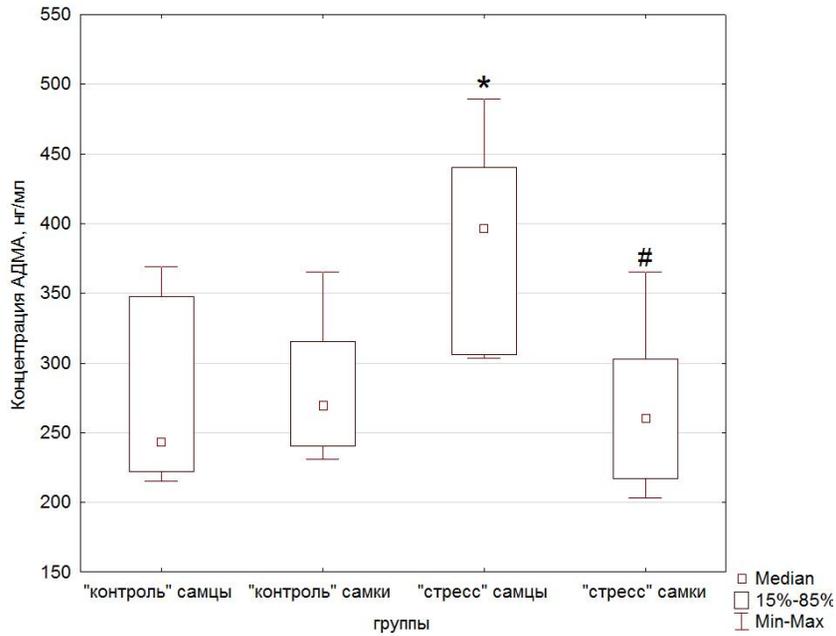


Рис. 4. Содержание АДМА в сыворотке крови крыс, нг/мл: \* –  $p < 0,05$ , сравнение с группой «контроль» самцы; # –  $p < 0,05$ , сравнение с группой «стресс» самцы

Fig. 4. The concentration of ADMA in the rats' blood serum, ng/ml: \* –  $p < 0.05$  comparison with males of the «control» group; # –  $p < 0.05$  comparison with males of the «stress» group

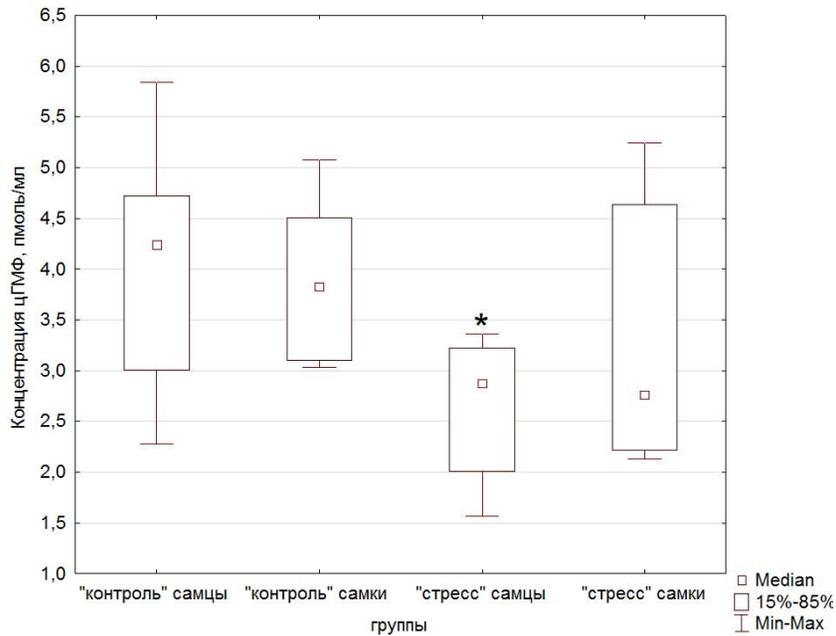


Рис. 5. Содержание цГМФ в сыворотке крови крыс, пмоль/мл: \* –  $p < 0,05$ , сравнение с группой «контроль» самцы

Fig. 5. The concentration of cGMP in the rats' blood serum, pmol/ml: \* –  $p < 0.05$  comparison with males of the «control» group

величину у контрольных крыс: на 23,9 % у самок ( $p < 0,001$ ) и на 20,3 % у самцов ( $p < 0,001$ ).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что хронический «непредсказуемый» стресс у беременных крыс существенным образом нарушает функционирование системы синтеза оксида азота у их 3-месячного потомства, и особенно у самцов. В частности, у пренатально стрессированных самцов имеются все условия для уменьшения образования NO эндотелиальной NO-синтазой и нарушения его действия, о чем свидетельствует, во-первых, уменьшение содержания самого фермента в крови,

во-вторых, увеличение концентрации в крови эндогенного ингибитора NO-синтазной реакции АДМА и, в-третьих, уменьшение содержания цГМФ. Закономерно возникает вопрос о природе таких изменений. Доказано, что при задержке развития плода, благодаря эпигенетическим изменениям – специфическому метилированию ДНК в составе гена eNOS, а также ацетилированию гистона H3 и действию специфических микро-РНК, возникает долговременное изменение экспрессии гена eNOS [18–20].

Сходные результаты были обнаружены группой X. Chen et al. [21], которая установила факт уменьшения

экспрессии мРНК eNOS в эндотелии мезентериальных сосудов 20-месячных крыс-самцов, матери которых с 5-го по 21-й день беременности подвергались гипоксии (содержание кислорода в подаваемом в клетку воздухе составляло 10,5 %). Сниженное содержание eNOS в сыворотке крови является важным индикатором эндотелиальной дисфункции [22], развитие которой можно предположить у пренатально стрессированных самцов. Повышение концентрации АДМА, конкурирующего с L-аргинином за связывание с активным центром NO-синтазы, указывает на возможное снижение активности eNOS у самцов, родившихся от крыс, которые подвергались стрессу во время беременности. Под влиянием АДМА также не исключается «разобщение» eNOS, в результате чего этот фермент образует супероксидный радикал и пероксинитрит [23]. Накопление АДМА в крови самцов, перенесших пренатальный стресс, может быть обусловлено окислительным стрессом, при котором, с одной стороны, повышается образование этого ингибитора NO-синтазной реакции, и, с другой стороны, нарушается разрушение АДМА диметиларгинин диметиламиногидролазами. Факт наличия окислительного стресса в крови пренатально стрессированных крыс подтверждается повышением содержания конечных продуктов ПОЛ – малонового диальдегида и диеновых конъюгатов. В этих условиях может формироваться «порочный круг», в котором увеличение образования АФК является как причиной, так и следствием нарушения функционирования eNOS.

Примечательно, что в сыворотке крови пренатально стрессированного потомства повышалось содержание iNOS, экспрессия гена которой позитивно регулируется АФК, провоспалительными цитокинами, бактериальным липополисахаридом, фактором HIF-1, компонентами клеточной стенки бактерий, различными «образчиками молекул, ассоциированных с патогенами» и др. [24] и, кроме того, действием эпигенетических механизмов [25]. Полученные нами результаты согласуются с данными, свидетельствующими о повышенной экспрессии iNOS в нервной ткани потомства крыс, подвергавшихся холодовому стрессу во время беременности, и в кардиомиоцитах потомства, страдавшего от внутриутробной гипоксии [26, 27]. Повышенное содержание СРБ, определенное высокочувствительным методом в сыворотке крови пренатально стрессированных крыс, свидетельствует о развитии у них системного воспаления низкой интенсивности и является косвенным маркером повышения уровня провоспалительных цитокинов в крови таких животных, а также прогностическим фактором, указывающим на высокий риск поражения у них сердечно-сосудистой системы [28]. Теоретически, гиперцитокинемия у пренатально стрессированных крыс может быть обусловлена нарушением развития кишечника и повышением его проницаемости в условиях дисбиоза с усиленной бактериальной энтеральной транслокацией [29, 30]. Увеличение содержания iNOS в сыворотке крови крыс, перенесших пренатальный стресс, может объяснить, почему в условиях дефицита eNOS концентрация метаболитов NO – нитратов/нитритов – в сыворотке крови крыс не

отличалась от таковой в контроле. При этом у пренатально стрессированных животных нельзя исключить и избыточной активации аргиназы, расщепляющей L-аргинин. По крайней мере, факт активации этого фермента при снижении активности eNOS выявлен у 5-недельных крыс, родившихся от самок, страдавших во время беременности от белкового голодания [31].

Нами также получены косвенные доказательства нарушения действия оксида азота в виде сниженного содержания цГМФ в сыворотке крови у пренатально стрессированных самцов. Во-первых, в условиях дефицита NO, образуемого eNOS, создаются условия для недостаточного образования цГМФ цитозольной гуанилатциклазой; во-вторых, нельзя исключить усиленного разрушения цГМФ фосфодиэстеразой, и, в-третьих, нарушения выведения цГМФ из клеток в кровь. Однако следует иметь в виду, что цГМФ сыворотки крови также отражает характер образования этого циклического нуклеотида мембранно-связанной изоформой гуанилатциклазы, активируемой натрийуретическими пептидами и присутствующей на поверхности многих клеток [32]. R. H. Boger et al. [33] предложили проводить одновременное количественное определение содержания в крови  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  и цГМФ, при котором полученный результат может указывать как на нарушение синтеза NO, так и на его окислительную инактивацию. Поскольку у пренатально стрессированных самцов отсутствовали статистически значимые различия в содержании  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  на фоне сниженного содержания цГМФ в сыворотке крови (по сравнению с соответствующими показателями у самцов группы «контроль»), можно судить об окислительной инактивации NO у таких животных, что согласуется с нашими результатами, демонстрирующими интенсификацию ПОЛ у пренатально стрессированных крыс.

Результаты выполненного исследования также свидетельствуют о том, что воздействие стрессоров на организм беременных крыс по-разному влияет на систему продукции NO у их потомства – самцов и самок. У самок, матери которых подвергались воздействию стрессоров во время беременности, изменения в системе продукции оксида азота были менее выражены. Одной из причин таких различий может быть влияние эстрогенов, которые способны модулировать биодоступность NO разными путями: посредством «геномного» механизма за счет увеличения экспрессии eNOS и «негеномного» – путем активации eNOS через фосфорилирование, а также посредством эстроген-зависимого уменьшения концентрации АДМА [34–36]. По-видимому, у пренатально стрессированных самок окислительный стресс был менее выражен. Повышенное содержание МДА в сыворотке крови самок, перенесших стресс в пренатальном периоде, без статистически значимого изменения концентрации ДК может быть объяснено тем, что эстрогены, обладая антиоксидантным действием, могут нейтрализовать образование ДК как ранних продуктов ПОЛ. Однако в процессе такого «обезвреживания» (при условии значительного количества АФК) образуются производные соединения эстрогенов, которые затем сами могут выступать

в качестве оксидантов [37] и стимулировать образование МДА – «позднего» продукта ПОЛ.

В целом, у потомства крыс, которые подвергались воздействию стрессоров во время беременности, как у самок (в меньшей степени), так и у самцов (в большей степени), наблюдаются нарушения функционирования системы продукции оксида азота и воспаление низкой интенсивности, что указывает на повышенный риск развития сердечно-сосудистой патологии у таких организмов в виде повышения артериального давления, обнаруженного нами ранее [13], и ускоренного развития атеросклероза. Данные, полученные в нашем исследовании, не дают прямого ответа на вопрос о механизмах нарушений функционирования системы синтеза и действия оксида азота у пренатально стрессированных организмов. Тем не менее анализ научных данных по этой проблеме позволяет предположить наличие, по крайней мере, двух взаимосвязанных механизмов – эпигенетической регуляции активности генов, продукты которых участвуют в механизмах образования и действия NO, а также редокс-регуляции активности этих генов [18–20, 23–25, 29–30, 34–36].

#### Выводы

1. Воздействие стрессоров на беременных крыс способствует снижению концентрации eNOS, накоплению эндогенного ингибитора активности этого фермента АДМА и окислительной инактивации оксида азота в сыворотке крови их 3-месячного потомства – самцов, а также повышению концентрации iNOS в сыворотке крови пренатально стрессированных самцов и самок на фоне системного воспаления низкой интенсивности и интенсификации ПОЛ.

2. Выявленные изменения в функционировании системы оксида азота у пренатально стрессированных крыс-самцов могут свидетельствовать о высоком риске поражения у них сердечно-сосудистой системы.

#### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

#### Литература / References

1. Thomas DD, Ridnour LA, Isenberg JS, Flores-Santana W, Switzer CH, Donzellie S, Hussain P, Vecoli C, Paolucci N, Ambis S, Colton C, Harris C, Roberts DD, Wink DA. The chemical biology of nitric oxide. Implications in cellular signaling // *Free Radic Biol Med*. 2008;45(1):18–31. Doi: 10.1016.
2. Vidanapathirana AK, Psaltis PJ, Bursill CA, Abell AD, Nicholls SJ. Cardiovascular bioimaging of nitric oxide: achievements, challenges, and the future // *Medicinal Research Reviews*. 2020;1–29. Doi: 10.1002/med.21736.
3. Кузнецов А. С. и др. Эндотелий. Физиология и патология: монография. – Одесса: Феникс, 2018. – С. 284. [Kuznetsov AS. *Endoteliy. Physiologiya i patologiya: monograph*. 2018:284. (In Russ.)].
4. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. The biological significance of nitric oxide formation from L-arginine // *Biochem Soc Trans*. 1989;17(4):642–644. Doi: 10.1042/bst0170642.
5. Guilivi C. Mitochondria as generators and targets of nitric oxide // *Mitochondrial Biology: New Perspectives: Novartis Found Symp*. 2007;(287):92–100. Doi: 10.1002/9780470725207.ch7.

6. Kapil V, Khambata RS, Jones DA, Rathod K, Primus C, Massimo G, Fukuto JM, Ahluwalia A. The noncanonical pathway for in vivo nitric oxide generation: the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway // *Pharmacol. Rev*. 2020;(72):692–766. Doi: 10.1124/pr.120.019240.

7. Incalza MA, D’Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases // *Vascul Pharmacol*. 2018;(100):1–19. Doi: 10.1016/j.vph.2017.05.005.

8. Grandvuillemin I, Buffat C, Boubred F, Lamy E, Fromont J, Charpiot P, Simoncini S, Sabatier F, Dignat-George F, Peyter AC, Simeoni U, Zyzdorzcyk C. Arginase upregulation and eNOS uncoupling contribute to impaired endothelium-dependent vasodilation in a rat model of intrauterine growth restriction // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*. 2018;315(3):509. Doi: 10.1152/ajpregu.00354.2017.

9. Ayuso M, Cruchten SV, Ginneken CV. Birthweight determines intestinal microvasculature development and alters endothelial nitric oxide synthase density in young piglets // *Anat. Histol. Embryol*. 2020;49(5):627–634. Doi: 10.1111/ahc.12534.

10. Brain KL, Allison BJ, Niu Y, Cross CM, Itani N, Kane AD, Herrera EA, Skeffington KL, Botting KJ, Giussani DA. Intervention against hypertension in the next generation programmed by developmental hypoxia // *PLOS Biology* 2019. Doi: 10.1371/journal.pbio.2006552.

11. Hsu CN, Lin YJ, Tain YL. Maternal exposure to bisphenol A combined with high-fat diet-induced programmed hypertension in adult male rat offspring: effects of resveratrol // *Int J. Mol Sci*. 2019;20(18):4382. Doi: 10.3390/ijms20184382.

12. Weinstock M. Prenatal stressors in rodents: Effects on behavior // *Neurobiol. Stress*. 2017;(6):3–13. Doi: 10.1016/j.ynstr.2016.08.004.

13. Хронический непредсказуемый стресс у беременных крыс и здоровье их потомства / Л. Е. Беляева, А. Н. Федченко, С. С. Лазуко, И. В. Лигецкая // *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*. – 2016. – Т. 102, № 7. – С. 852–863 [Belyaeva LE, Fedchenko AN, Lazuko SS, Ligeckaya IV. *Hronicheskiy nepredskazuemyj stress u beremennyh krys i zdorov’e ih potomstva*. *Ross. fiziol. zhurn. im. IM. Sechenova*. 2016;102(7):852–863 (In Russ.)].

14. Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Р., Хмара Н. Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропилных экстрактов // *Лаб. дело*. – 1988. – Т. 2. – С. 60–64. [Gavrilov VB, Gavrilova AR, Khmara NF. *Measurement of diene conjugates in plasma by ultraviolet absorption of heptane and isopropyl extracts*. *Lab. business*. 1988;(2):60–64. (In Russ.)].

15. Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кушкун А. А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // *Лаб. дело*. – 1988. – Т. 11. – С. 41–43. [Andreeva LI, Kozhemyakin LA, Kishkun AA. *Modification of the method for determining lipid peroxides in the test with thiobarbituric acid*. *Lab. business*. 1988;(11):41–43. (In Russ.)].

16. Mir SA. An improved zinc reduction method for direct determination of nitrate in presence of nitrite // *As. J. Chem*. 2007;19(7):5703–5710.

17. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002. – С. 312. [Rebrova OYu. *Statisticheskij analiz medicinskih danyh. Primenenie paketa prikladnyh programm STATISTICA*. Moscow, MediaSfera. 2002;312. (In Russ.)].

18. Krause BJ, Costello PM, Munoz-Urrutia E, Lillycrop KA, Hanson MA, Casanello P. Role of DNA methyltrans-

ferase 1 on the altered eNOS expression in human umbilical endothelium from intrauterine growth restricted fetuses // *Epigenetics*. 2013;8(9):944–952. Doi: 10.4161/epi.25579.

19. Postberg J, Kanders M, Forcob S, Willems R, Orth V, Hensel KO, Weil PP, Wirth S, Jenke AC. CpG signalling, H2A.Z/H3 acetylation and microRNA-mediated deferred self-attenuation orchestrate foetal NOS3 expression // *Clin. Epigenetics*. 2015;(7):9. Doi: 10.1186/s13148-014-0042-4.

20. Herrera EA, Cifuentes-Zúñiga F, Figueroa E, Villanueva C, Hernández C, Alegria R, Arroyo-Jousse V, Peñaloza E, Fariás M, Uauy R, Casanello P, Krause BJ. N-acetylcysteine, a glutathione precursor, reverts vascular dysfunction and endothelial epigenetic programming in intrauterine growth restricted guinea pigs // *J. Physiol.* 2017;595(4):1077–1092. Doi: 10.1113/JP273396.

21. Chen X, Qi L, Fan X, Tao H, Zhang M, Gao Q, Liu Y, Xu T, Zhang P, Su H, Tang J, Xu Z. Prenatal hypoxia affected endothelium-dependent vasodilation in mesenteric arteries of aged offspring via increased oxidative stress // *Hypertens. Res.* 2019;42(6):863–875. Doi: 10.1038/s41440-018-0181-7.

22. Atochin DN, Huang PL. Endothelial nitric oxide synthase transgenic models of endothelial dysfunction // *Pflugers Arch.* 2010;460(6):965–974. Doi: 10.1007/s00424-010-0867-4.

23. Liu X, Xu X, Shang R, Chen Y. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as an important risk factor for the increased cardiovascular diseases and heart failure in chronic kidney disease // *Nitric Oxide*. 2018;(78):113–120. Doi: 10.1016/j.niox.2018.06.004.

24. Minhas R, Bansal Y, Bansal G. Inducible nitric oxide synthase inhibitors: A comprehensive update // *Med. Res. Rev.* 2020;40(3):823–855. Doi: 10.1002/med.21636.

25. Dreger H, Ludwig A, Weller A, Baumann G, Stangl V, Stangl K. Epigenetic suppression of iNOS expression in human endothelial cells: a potential role of Ezh2-mediated H3K27me3 // *Genomics*. 2016;107(4):145–149. Doi: 10.1016/j.ygeno.2016.02.002.

26. Wang D, Xu B, Wang J, Wang H, Guo J, Ji H, Li S, Wu R, Yang H, Lian S. Response of the maternal hypothalamus to cold stress during late pregnancy in rats // *Brain Res.* 2019;(1722):146354. Doi: 10.1016/j.brainres.2019.146354.

27. Figueroa H, Alvarado C, Cifuentes J, Lozano M, Rocco J, Cabezas C, Illanes SE, Eixarch E, Hernández-Andrade E, Gratacós E, Irrazabal CE. Oxidative damage and nitric oxide synthase induction by surgical uteroplacental circulation restriction in the rabbit fetal heart // *Prenat Diagn.* 2017;37(5):453–459. Doi: 10.1002/pd.5031.

28. Ridker PM. From C-Reactive Protein to Interleukin-6 to Interleukin-1: Moving Upstream To Identify Novel Targets for Atheroprotection // *Circ Res.* 2016;118(1):145–156. Doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306656.

29. Aubert P, Oleynikova E, Rizvi H, Ndjim M, Le Berre-Scoul C, Grohard PA, Chevalier J, Segain JP, Le Drean G, Neunlist M, Boudin M. Maternal protein restriction induces gastrointestinal dysfunction and enteric nervous system remodeling in rat offspring // *H. FASEB J.* 2019;33(1):770–781. Doi: 10.1096/fj.201800079R.

30. Hu J, Ly J, Zhang W, Huang Y, Glover V, Peter J, Hurd YL, Nomura Y. Microbiota of newborn meconium is as-

sociated with maternal anxiety experienced during pregnancy // *Dev. Psychobiol.* 2019;61(5):640–649. Doi: 10.1002/dev.21837.

31. Grandvuillemin I, Buffat C, Boubred F, Lamy E, Fromonot J, Charpiot P, Simoncini S, Sabatier F, Dignat-George F, Peyter AC, Simeoni U, Zydorczyk C. Arginase up-regulation and eNOS uncoupling contribute to impaired endothelium-dependent vasodilation in a rat model of intrauterine growth restriction // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2018;315(3):509. Doi: 10.1152/ajpregu.00354.2017.

32. Sprenger JU, Nikolaev VO. Biophysical techniques for detection of cAMP and cGMP in living cells // *Int. J. Mol. Sci.* 2013;(14):8025–8046. Doi: 10.3390/ijms14048025.

33. Boger RH, Bode-Boger SM, Frolich JC. The L-arginine-nitric oxide pathway: role in atherosclerosis and therapeutic implications // *Atherosclerosis*. 1996;(127):1–11. Doi: 10.1016/s0021-9150(96)05953-9.

34. Monsalve E, Oviedo P, Garcia-perez M, Tarin J, Cano A, Hermenegildo C. Estradiol counteracts oxidized LDL-induced asymmetric dimethylarginine production by cultured human endothelial cells. *Cardiovasc. Res.* 2007;73(1):66–72. Doi: 10.1016/j.cardiores.2006.09.020.

35. Novella S, Laguna-Fernández A, Lózaró-Franco M, Sobrino A, Bueno-Beth C, Tarín JJ, Monsalve E, Sanchez J, Hermenegildo C. Estradiol, acting through estrogen receptor alpha, restores dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity and nitric oxide production in oxLDL-treated human arterial endothelial cells // *Mol. and Cell. Endocrinol.* 2013;365(1):11–16. Doi: 10.1016/j.mce.2012.08.020.

36. Liao Q, Li X, Zhou S, Liu L, Zhao Sh, Lian Y, Dong HJ. Estrogen treatment inhibits vascular endothelial senescence and asymmetrical dimethylarginine in ovariectomized rabbits // *Cardiovasc. Pharmacol.* 2011;57(2):174–82. Doi: 10.1097/FJC.0b013e31820270bb.

37. Prokai L, Prokai-Tatrai K, Perjesi P, Simpkins JW. Mechanistic insights into the direct antioxidant effects of estrogens // *Drug Dev. Res.* 2006;(66):118–125. Doi: 10.1002/ddr.20050.

### Информация об авторах

**Беляева Людмила Евгеньевна** – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой патологической физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь, e-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by.

**Павлюкевич Анна Николаевна** – м. м. н., старший преподаватель кафедры патологической физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь, e-mail: anna.fedchenko.89@mail.ru.

### Authors information

**Belyaeva Lyudmila E.** – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Pathologic Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus, e-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by.

**Pauliukevich Hanna N.** – Master of Medical Sciences, senior lecturer of the Chair of Pathologic Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus, e-mail: anna.fedchenko.89@mail.ru.

УДК [612.223.12: 612.127.2]-092.4

DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-70-76

В. В. ЗИНЧУК, Е. С. БИЛЕЦКАЯ

## Особенности влияния озона на кислородзависимые процессы крови при гипоксических условиях

Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно, Республика Беларусь  
230009, Республика Беларусь, г. Гродно, ул. Горького, д. 80  
E-mail: zinchuk@grsmu.by

Статья поступила в редакцию 15.02.21 г.; принята к печати 16.07.21 г.

### Резюме

**Введение.** Озон является физиологическим фактором, который способен изменять сродство гемоглобина к кислороду и образование газотрансмиттеров (NO, H<sub>2</sub>S). **Цель** – изучение эффектов озона на кислородзависимые процессы крови в гипоксических условиях в опытах *in vitro* при введении доноров газотрансмиттеров. **Материалы и методы.** Образцы крови разделяли на 6 групп по 3 мл. Группы 2, 4, 5, 6 подвергались предварительной обработке дезоксигенирующей газовой смесью (5,5 % CO<sub>2</sub>; 94,5 % N<sub>2</sub>). В 3, 4, 5, 6 группы добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия (с концентрацией озона 6 мг/л), а в группы 5 и 6 дополнительно вводили доноры газотрансмиттеров – нитроглицерин и гидросульфид натрия соответственно. **Результаты.** Предварительная дезоксигенация ослабляет влияние озона на кислородтранспортную функцию крови. Нитроглицерин препятствует проявлению данного эффекта. Действие озона в гипоксических условиях приводит к росту содержания NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и H<sub>2</sub>S, а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия увеличивают эти показатели. Дезоксигенация под влиянием озона приводит к уменьшению показателей перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты), а также снижению ретинола и α-токоферола, в том числе в группе с нитроглицерином. **Заключение.** В гипоксических условиях наблюдается уменьшение эффекта озона на кислородзависимые процессы. Нитроглицерин снижает его проявление, а гидросульфид натрия подобного действия не оказывает.

**Ключевые слова:** озон, эритроциты, микроциркуляция, газотрансмиттер, монооксид азота, сероводород, гипоксия

**Для цитирования:** Зинчук В. В., Билецкая Е. С. Особенности влияния озона на кислородзависимые процессы крови при гипоксических условиях. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021;20(3):70–76. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-70-76.

UDC [612.223.12: 612.127.2]-092.4

DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-70-76

V. V. ZINCHUK, E. S. BILETSKAYA

## Features of ozone effect on oxygen-dependent processes in the blood under hypoxic conditions

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus  
80, street Gorky, Grodno, Republic of Belarus, 230009  
E-mail: zinchuk@grsmu.by

Received 15.02.21; accepted 16.07.21

### Summary

**Introduction.** Ozone is a physiological factor that can change hemoglobin oxygen affinity and the formation of gaseous transmitters (NO, H<sub>2</sub>S). **The aim** is to study the effect of ozone with gaseous transmitters donors on oxygen-dependent processes in the blood under hypoxic conditions *in vitro*. **Materials and methods.** Blood samples were divided into 6 groups of 3 ml each. Groups 2, 4, 5, 6 were pretreated with a deoxygenating gas mixture (5.5 % CO<sub>2</sub>; 94.5 % N<sub>2</sub>). In groups 3, 4, 5, 6, ozonized isotonic sodium chloride solution (with an ozone concentration of 6 mg/l) was added, and in groups 5 and 6, the donors of gas transmitters nitroglycerin and sodium hydrosulfide, respectively, were additionally introduced. **Results.** Pre-deoxygenation reduces the effect of ozone on oxygen transport in the blood. Nitroglycerin prevents this effect. The action of ozone under hypoxic conditions leads to an increase of content of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> and H<sub>2</sub>S, and combination with nitroglycerin and sodium hydrosulfide increase these parameters. Deoxygenation due to ozone reduces parameters of lipid peroxidation (malonic dialdehyde, diene conjugates), retinol and α-tocopherol, and the same result in the nitroglycerin group. **Conclusion.** Under hypoxic conditions, a decrease in the effect of ozone on oxygen-dependent processes is reported. Nitroglycerin reduces its manifestation, while sodium hydrosulfide does not have a similar effect.

**Keywords:** ozone, erythrocytes, microcirculation, gaseous transmitters, nitrogen monoxide, hydrogen sulfide, hypoxia

**For citation:** Zinchuk V. V., Biletskaya E. S. Features of ozone effect on oxygen-dependent processes in the blood under hypoxic conditions. Regional hemodynamics and microcirculation. 2021;20(3):70–76. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-70-76.

**Введение**

Важным аспектом исследования микрогемодиализации является понимание того, как характеристики крови и микроциркуляторное поведение ее клеточных элементов обеспечивают транскапиллярный обмен и поступление кислорода ( $O_2$ ) в ткани [1]. Изучение закономерностей изменений содержания  $O_2$  в комплексе с параметрами микрогемодинамики представляется перспективным и необходимым для разработки патогенетически обоснованных индивидуализированных протоколов коррекции пациентов с гипоксическим синдромом [2]. Эритроциты, являясь переносчиками  $O_2$  в организме, также участвуют в регуляции сосудистого тонуса в системе микроциркуляции, выступая в качестве сенсора для регуляции микрососудистого компонента [1], в то же время газотрансмиттеры эндотелиального происхождения оказывают влияние на кислородтранспортную функцию (КТФ) крови [3]. Одним из основных факторов на микроциркуляторном уровне, влияющим на насыщение тканей кислородом, является изменение сродства к нему гемоглобина [4].

В последние годы озон ( $O_3$ ) активно используется для улучшения процессов микроциркуляции ишемизированных тканей. Озонотерапия аутологичной крови широко применяется для лечения пациентов с нарушением периферического кровообращения [5]. Данный эффект  $O_3$  может быть связан, как ранее нами было показано, с тем, что происходит изменение КТФ крови, проявляющееся в увеличении  $pO_2$ ,  $SO_2$  и уменьшении сродства гемоглобина к кислороду (СГК), выраженность которых усиливается с повышением концентрации озона и сопровождается ростом нитрат/нитритов, сероводорода в плазме [1]. Кроме того, озон оказывает влияние на прооксидантно-антиоксидантный баланс, что проявляется в увеличении содержания диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) в эритроцитарной массе, ретинола,  $\alpha$ -токоферола, активности каталазы [7–9].

Озон также может индуцировать продукцию монооксида азота (NO) и улучшать реологические свойства крови [10]. NO-генерирующая система участвует в эффекте  $O_3$  на КТФ крови [11]. В связи с этим особый интерес вызывает изучение эффектов озона при различных кислородных режимах и участии системы газотрансмиттеров (NO,  $H_2S$ ).

**Цель** исследования – изучение эффектов озона на кислородзависимые процессы крови в гипоксических условиях в опытах *in vitro* при введении доноров газотрансмиттеров.

**Материалы и методы исследования**

На образцах крови, забранных от белых беспородных крыс-самцов массой 250–300 г, предварительно содержавшихся в стандартных условиях вивария, проводили эксперименты *in vitro*. Забор смешанной венозной крови осуществляли, используя адекватный наркоз (50 мг/кг тиопентала натрия интраперитонеально), из правого предсердия в предварительно подготовленный шприц с гепарином, из расчета 50 ЕД на 1 мл крови. Исследование проводилось в соответствии рекомендациями Комитета по биомедицинской этике и деонтологии учреждения образования «Гродненский

**Схема эксперимента в условиях дезоксигенации (5,5 %  $CO_2$ ; 94,5 %  $N_2$ )**

Рис. 1. Схема эксперимента

Fig. 1. Design of the experiment

государственный медицинский университет», протокол № 1 от 14 января 2019 г.

Образцы крови ( $n=10$ ) разделяли на 6 групп по 3 мл (рис. 1). Применялась концентрация озона 6 мг/л. Изотонический раствор барбатировали озон-кислородной смесью при помощи озонотерапевтической установки УОТА-60-01-Медозон (Россия), в которой предусмотрено измерение концентрации озона оптическим методом в ультрафиолетовом диапазоне.

В первую контрольную группу добавляли 1,1 мл изотонического раствора хлорида натрия.

Кровь 2-й группы обрабатывали дезоксигенирующей газовой смесью (5,5 %  $CO_2$ ; 94,5 %  $N_2$ ) в термостатируемом сатураторе на протяжении 30 мин и добавляли 1,1 мл изотонического раствора хлорида натрия.

В кровь 3-й группы добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл и 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия.

Кровь 4-й группы дезоксигенировали и добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл и 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия.

Производили обработку дезоксигенирующей газовой смесью крови 5-й группы и добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего нитроглицерин в конечной концентрации 0,05 ммоль/л (*SchwarzPharma AG*).

Кровь 6-й группы также подвергали дезоксигенации и добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего гидросульфид натрия в конечной концентрации 0,38 ммоль/л (*Sigma-Aldrich*).

Каждую пробу перемешивали и инкубировали на протяжении 60 мин.

На газоанализаторе Stat Profile pHox plus L (США) при 37 °С в крови определяли следующие показатели КТФ: парциальное давление кислорода ( $pO_2$ ), степень оксигенации ( $SO_2$ ) и кислотно-основного состояния – парциальное давление углекислого газа ( $pCO_2$ ), стандартный бикарбонат (SBC), реальный/стандартный недостаток (избыток) буферных оснований (ABE/SBE), гидрокарбонат ( $HCO_3^-$ ), концентрацию

## Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови при добавлении доноров газотрансмиттеров в гипоксических условиях (Me [25; 75])

Table 1

## Effect of ozone and its combination with gaseous transmitters donors on oxygen transport in the blood under hypoxic conditions (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Дезоксигенация	Озон	Дезоксигенация + озон	Дезоксигенация + нитроглицерин + озон	Дезоксигенация + NaHS + озон
n	10	10	10	10	10	10
SO <sub>2</sub> , %	31,4 [25,3; 31,7]	18,10 [15,20; 23,10]*	33,30 [33,10; 36,30]*#	28,00 [24,10; 32,40]*#Ψ	33,85 [32,80; 36,10]*#Ψ\$	23,50 [18,4; 28,00]*ΨΩ
pO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	20,5 [18,8; 20,7]	14,85 [14,30; 15,00]*	24,90 [23,70; 26,60]*#	21,00 [18,80; 23,20]*#Ψ	24,35 [20,90; 33,90]*#Ψ\$	20,75 [16,40; 22,10]*#ΨΩ
pH, ед.	7,417 [7,411; 7,418]	7,286 [7,261; 7,304]*	7,431 [7,417; 7,470]*#	7,285 [7,264; 7,302]*#Ψ	7,287 [7,268; 7,323]*#Ψ	7,277 [7,237; 7,287]*#Ψ
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	34,2 [31,7; 36,8]	57 [54,60; 59,10]*	28,45 [25,30; 34,20]*#	54,35 [51,00; 58,90]*#Ψ	51,80 [50,40; 53,70]*#Ψ\$	54,20 [49,60; 56,40]*#Ψ
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ммоль/л	21,6 [20; 22,3]	28,20 [26,50; 29,60]*	20,55 [20,30; 21,50]*#	26,35 [25,70; 26,70]*#Ψ	25,25 [23,30; 26,50]*#Ψ\$	27,05 [26,60; 28,60]*#ΨΩ
TCO <sub>2</sub> , ммоль/л	21,9 [21; 23,4]	30,05 [28,10; 31,40]*	20,8 [20,60; 22,40]*#	28,00 [27,40; 28,30]*#Ψ	26,85 [24,90; 28,40]*#Ψ\$	28,45 [27,90; 29,90]*#Ψ
ABE, ммоль/л	-3,2 [-3,8; -2,3]	0,10 [-0,20; 0,80]*	-4 [-4,70; -3,60]*#	-0,60 [-1,20; 0,30]*#Ψ	-1,55 [-3,80; -1,00]*#Ψ\$	0,20 [-0,10; 0,80]*#ΨΩ
SBE, ммоль/л	-1,8 [-2,4; -1,2]	0,65 [0,30; 1,00]*	-3,05 [-3,60; -2,30]*#	-0,20 [-0,70; 0,50]*#Ψ	-1,20 [-3,00; -0,90]*#Ψ\$	0,60 [0,20; 1,30]*#ΨΩ
SBC, ммоль/л	21,7 [21,2; 22,1]	24,55 [24,00; 26,00]*	21,60 [21,20; 22,20]*#	23,40 [22,90; 24,20]*#Ψ	22,10 [20,90; 22,40]*#Ψ\$	23,80 [23,30; 24,40]*#ΨΩ
p50 <sub>реал</sub> , мм рт. ст.	26,8 [25,5; 27,9]	22,16 [19,52; 24,29]*	30,95 [26,74; 38,60]*#	26,44 [25,27; 27,58]*#Ψ	31,45 [30,62; 38,97]*#Ψ\$	25,14 [24,53; 30,08]*#ΨΩ
p50 <sub>станд</sub> , мм рт. ст.	26,5 [25,4; 27,7]	21,60 [21,00; 23,80]*	31,45 [26,70; 36,60]*#	24,50 [24,00; 26,10]*#Ψ	27,10 [26,90; 35,30]*#Ψ\$	23,10 [22,10; 23,60]*#ΨΩ

Примечание: здесь и далее изменения в сравнении с группами: \* – контрольной; # – дезоксигенация; Ψ – озон; \$ – дезоксигенация + озон; Ω – дезоксигенация + нитроглицерин + озон.

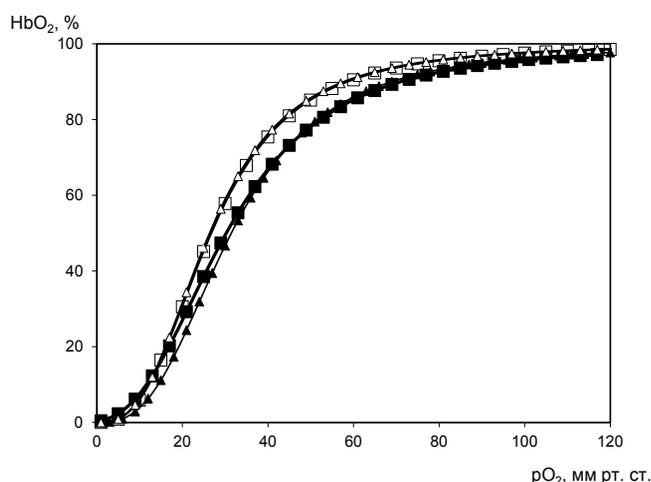


Рис. 2. Эффект озона на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH и pCO<sub>2</sub> в гипоксических условиях: □ – контроль; ■ – озон; Δ – дезоксигенация + озон; ▲ – дезоксигенация + нитроглицерин + озон

Fig. 2. Effect of ozone on the oxyhemoglobin dissociation curve at real pH and pCO<sub>2</sub> values under hypoxic conditions: □ – control; ■ – ozone; Δ – deoxygenation + ozone; ▲ – deoxygenation + nitroglycerin + ozone

водородных ионов (pH), общую углекислоту плазмы крови (TCO<sub>2</sub>). Сродство гемоглобина к кислороду оценивали спектрофотометрическим методом по показателю p50<sub>реал</sub> (pO<sub>2</sub> крови при 50 %-м насыщении

ее кислородом). По формулам Severinghaus [12] рассчитывали значение p50<sub>станд</sub> и положение кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО).

Активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию первичных (ДК) и промежуточных (МДА) продуктов перекисного окисления липидов. Уровень ДК в эритроцитарной массе определяли по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232–234 нм, характерного для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [16]. Оптическую плотность измеряли на спектрофлуориметре CM 2203 «Солар» (Беларусь) при длине волны 233 нм по отношению к контролю. Концентрацию ДК выражали в виде ЕД/мл. Содержание МДА (ТБК-реагирующих продуктов) оценивали по взаимодействию с ТБК, которая при высокой температуре в кислой среде приводит к образованию триметинового комплекса розового цвета [17]. Интенсивность окраски измеряли спектрофотометрически на спектрофотометре PV1251C «Солар» (Беларусь) при длине волны 540 нм, по отношению к контролю. Концентрацию МДА выражали в мкмоль/л.

Активность каталазы оценивали по способности пероксида водорода образовывать с солями молибдена стойко окрашенный комплекс при длине волны 410 нм на спектрофотометре PV1251C «Солар»

## Эффект озона на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови при добавлении доноров газотрансмиттеров в гипоксических условиях (Ме [25; 75])

Table 2

## Effect of ozone with gaseous transmitters donors on parameters of the prooxidant-antioxidant balance of the blood under hypoxic conditions (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Дезоксигена-ция	Озон	Дезоксигена-ция + озон	Дезоксигенация + нитроглицерин + озон	Дезоксигенация + NaHS + озон
n	10	10	10	10	10	10
МДАэр, мкмоль/л	4,86 [4,25; 5,77]	5,52 [5,39; 5,84]	16,63 [16,04; 17,10]*#	13,36 [11,00; 13,58]*#Ψ	12,75 [12,31; 13,05]*#Ψ	13,59 [10,78; 14,99]*#
ДКэр, ЕД/мл	18,15 [17,34; 18,56]	18,20 [16,99; 21,39]	22,85 [20,20; 26,82]*	18,82 [18,22; 19,63]Ψ	17,39 [15,48; 21,12]Ψ	18,86 [15,84; 22,24]
Каталаза, ммоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мин/г Нб	10,56 [10,25; 10,87]	11,18 [10,71; 16,35]	13,98 [13,24; 14,21]*	14,87 [13,85; 16,08]*	15,73 [14,13; 16,57]*Ψ	15,50 [14,48; 17,21]*Ψ
Ретинол, мкмоль/л	0,84 [0,81; 0,87]	0,89 [0,86; 0,91]	1,06 [0,95; 1,12]*#	0,83 [0,76; 0,93]Ψ	0,87 [0,77; 0,94]	0,85 [0,74; 0,97]
α-токоферол, мкмоль/л	8,34 [7,95; 8,65]	8,85 [8,17; 10,05]	14,83 [12,72; 17,34]*#	10,72 [10,27; 12,62]*#Ψ	10,76 [10,55; 13,75]*#Ψ	10,94 [10,27; 12,06]*#Ψ

(Беларусь) [17]. Концентрацию α-токоферола и ретинола определяли по методу S. L. Taylor [18], основанному на определении интенсивности флуоресценции гексанового экстракта при длине волны возбуждения 286 нм и испускания 350 нм (для α-токоферола) и при длине волны возбуждения 325 нм и испускания 470 нм (для ретинола) на спектрофлуориметре СМ 2203 «Солар» (Беларусь). В контрольную пробу вместо исследуемого материала вносили аликвоту бидистиллированной воды, а в стандартную – рабочего раствора, приготовленного из стандартов α-токоферола и ретинола (*Sigma*). Концентрацию α-токоферола и ретинола выражали в мкмоль/л.

Продукцию эндогенного NO оценивали по суммарному содержанию нитрат/нитритов (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) в плазме крови спектрофотометрическим методом с реактивом Грисса при длине волны 540 нм [19]. Уровень эндогенного сероводорода (H<sub>2</sub>S) в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом, основанном на реакции между сульфид-анионом и раствором N,N-диметил-парафенилендиамина солянокислого в присутствии хлорного железа при длине волны 670 нм [20]. Концентрацию газотрансмиттеров рассчитывали по калибровочным графикам и результаты выражали в мкмоль/л.

Все показатели проверяли на соответствие признака закону нормального распределения с использованием критерия Шапиро – Уилка. С учетом этого была использована непараметрическая статистика с применением программы «Statistica 10.0». Сравнение трех и более независимых групп проводили с помощью рангового дисперсионного анализа Крускала – Уоллиса. Достоверность полученных данных, с учетом размеров малой выборки, множественных сравнений, оценивали с использованием U-критерия Манна – Уитни. При проведении парных сравнений уровней показателей внутри групп при повторных измерениях использовали критерий Вилкоксона. Результаты представлены как медиана (Ме), 25-й и 75-й квартильный размах. Уровень статистической значимости принимали за p<0,05.

## Результаты исследования и их обсуждение

Характер изменения показателей КТФ крови в условиях влияния озона и обработки дезоксигенирующей газовой смесью приведены в табл. 1.

Действие озона приводит к росту основных показателей, отражающих транспорт кислорода кровью. Проведение предварительной дезоксигенации способствует снижению эффекта O<sub>3</sub> на следующие показатели: pO<sub>2</sub> – на 15,66 % (p<0,05), SO<sub>2</sub> – на 15,92 % (p<0,05) по сравнению с группой, в которой выполнялось только озонирование. Показатель СГК p50<sub>реал</sub> при этом уменьшается на 14,57 % (p<0,05), отражая сдвиг КДО влево (рис. 2) и приближая ее к значениям контрольной группы.

Также наблюдается снижение p50<sub>станд</sub> на 22,1 % (p<0,05). Добавление нитроглицерина препятствует проявлению данного эффекта и характеризуется ростом pO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, p50<sub>реал</sub> и p50<sub>станд</sub> и сдвигом КДО вправо (рис. 2), а гидросульфид натрия подобным эффектом не обладает. В группе дезоксигенации наблюдается снижение всех показателей КТФ крови по сравнению с контролем.

Параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса приведены в табл. 2. Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором хлорида натрия в условиях предварительной дезоксигенации характеризуется снижением содержания ДК, МДА, концентрации α-токоферола, ретинола в плазме по сравнению с группой, в которой выполнялось только озонирование, активность каталазы при этом не изменяется. Добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия не вызывает значимых изменений данных показателей, за исключением каталазы, по сравнению с аликвотой, в которую вводили озон, предварительно дезоксигенировав. При дезоксигенации не наблюдается изменений параметров прооксидантно-антиоксидантного баланса по сравнению с контролем.

Содержание NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и H<sub>2</sub>S в плазме крови под действием O<sub>3</sub> в условиях дезоксигенации возрастает на 28,57 % (p<0,05) и на 31,25 % (p<0,05) соответственно (рис. 3). Добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия в условиях дезоксигенации приводит к еще

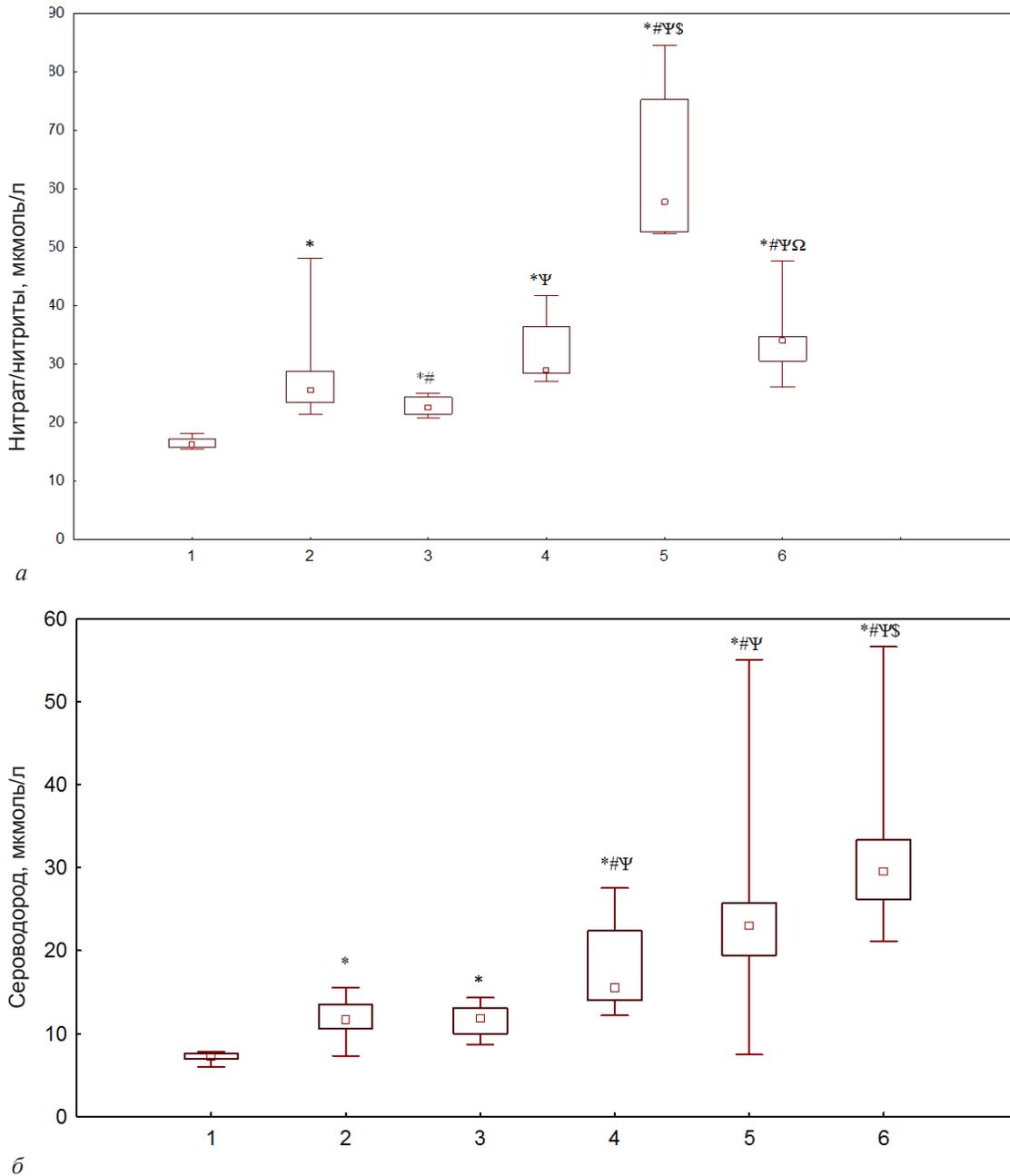


Рис. 3. Концентрация нитрат/нитритов (а) и сероводорода (б) в плазме крови в гипоксических условиях: 1–6 – экспериментальные группы; изменения по сравнению с группами \* – контрольной; # – дезоксигенация + изотонический раствор; Ψ – озон; \$ – дезоксигенация + озон; Ω – дезоксигенация + нитроглицерин + озон

Fig. 3. Total content of nitrate/nitrite (A) and concentration of hydrogen sulfide (B) in blood plasma under hypoxic conditions: 1–6 – experimental groups; \* – compared to control; # – deoxygenation + isotone. Solution; Ψ – ozone; \$ – deoxygenation + ozone; Ω – deoxygenation + nitroglycerin + ozone

более существенному росту  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  – на 98,45 % ( $p < 0,05$ ) и на 17,38 % ( $p < 0,05$ ) соответственно. Уровень  $\text{H}_2\text{S}$  растет в группах с нитроглицерином и гидросульфидом натрия на 48,13 % ( $p < 0,05$ ) и на 90,22 % ( $p < 0,05$ ), соответственно по сравнению с группой озонирования в условиях дезоксигенации.

При гипоксии наблюдается ухудшение процессов тканевого трансакапиллярного обмена кислорода, снижение возможностей микроциркуляторного русла для доставки кислорода в ткани [13]. Выявлены функциональные взаимосвязи различных компонентов регуляции микрогемодинамики и показателей КТФ крови при проведении гипоксического теста [14]. Озон значительно улучшает микроциркуляцию за счет повышения функциональной активности капил-

ляров, изменения физико-химических характеристик крови и, в частности, кислородсвязывающих свойств крови [15]. Как видим из проведенных опытов, отмечаются изменения КТФ крови под влиянием озона в гипоксических условиях и при добавлении доноров газотрансмиттеров. Ранее нами было показано, что инкубация крови с озоном и нитроглицерином (донором NO) приводит к усилению эффекта данного газа на КТФ крови (рост  $\text{pO}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ), что приводит к уменьшению СГК и сопровождается ростом газотрансмиттеров ( $\text{NO}$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ) [11]. Данный факт свидетельствует о важной роли NO в автономной внутриэритроцитарной системе регуляции СГК, действие которого определяется параметрами кислородного обеспечения [21]. Кроме того, следует обратить внимание, что противогипок-

сическое действие  $O_3$  реализуется, в том числе, за счет влияния на синтез монооксида азота [22], увеличения концентрации 2,3-дифосфоглицерата в эритроцитах, повышения пластичности мембран красных кровяных клеток и уменьшения вязкости крови [10].

NO обеспечивает адаптацию организма к изменениям  $pO_2$  через влияние на механизмы формирования функционального статуса эритроцитов [23]. Кроме того, данный газотрансмиттер является основным регулятором тонуса сосудов и ангиопротектором, что обуславливает его влияние на локальную микроциркуляцию [14]. Описаны сложные взаимоотношения между  $O_3$  и группой ферментов NO-синтаз, генерирующих образование NO [10].  $O_3$  может активировать индуцибельную синтазу оксида азота, что приводит к росту концентрации последнего [23], а также восстанавливает  $NO_2^-$  при низких значениях pH [24]. В этих механизмах участвует и другой газотрансмиттер сероводород. Эритроциты продуцируют эндогенный  $H_2S$ , используя в качестве субстрата 3-меркаптопируват [25]. Продукция  $H_2S$  в красных клетках крови зависит от уровня NO в сыворотке крови [26]. Взаимодействие доноров монооксида азота и сероводорода может иметь значение для модификации сродства гемоглобина к кислороду через образование различных дериватов гемоглобина.

В наших исследованиях показана роль  $H_2S$  в эффекте озона на кислородзависимые процессы.  $H_2S$  участвует в защите от окислительного стресса, вызванного гипоксией [27]. Наблюдается увеличение данного газотрансмиттера в условиях дезоксигенации, а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия способствует еще более значительному его росту. В результате действия S-нитрозосоединений происходит трансформация молекул гемоглобина: окисление в их составе железа, нитрозилирование гема и, вероятно, SH-групп, что изменяет свойства гемопroteина, его способность связывать и удерживать кислород [28].  $H_2S$  выполняет и антиоксидантные функции за счет модификаций активности ферментов, в том числе каталазы [29].

### Заключение

Таким образом, предварительная обработка крови дезоксигенирующей газовой смесью уменьшает влияние озона на КТФ крови, что проявляется в снижении  $pO_2$ ,  $SO_2$ ,  $p50$  по сравнению с группой, в которую вводили только озон. Введение нитроглицерина препятствует проявлению данного эффекта, а гидросульфид натрия подобного действия не оказывает. Действие озона в данных условиях приводит к росту содержания  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$ , а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия существенно увеличивает эти показатели, что отражает участие данных газотрансмиттеров в модификации КТФ крови. В крови, обработанной дезоксигенирующей газовой смесью при добавлении озона, а также в группе с нитроглицерином наблюдается уменьшение показателей перекисного окисления липидов (МДА, ДК) и антиоксидантной защиты (ретинола и  $\alpha$ -токоферола). Полученные результаты демонстрируют влияние озона на КТФ крови и синтез NO, что будет важно для понимания механизмов оксигенации тканей на микроциркуляторном уровне в гипоксических условиях.

### Финансирование / Acknowledgments

Исследование выполнено при финансовой поддержке БРФФИ и РФФИ в рамках научного проекта (№ M20P-428 и № 20-515-00019). / The reported study was funded by BRFFBR and RFBR, project number M20P-428 and 20-515-00019.

### Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflicts of interest.

### Соответствие нормам этики / Compliance with ethical principles

Исследование одобрено локальным этическим комитетом. / The study was approved by the local ethics committee.

### Литература / References

1. Муравьев А. В., Михайлов П. В., Тихомирова И. А. Микроциркуляция и гемореология: точки взаимодействия // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16, № 2. – С. 90–100. [Muravyov AV, Mikhailov PV, Tikhomirova IA. Microcirculation and Hemorheology: points of interaction // Regional blood circulation and microcirculation. – 2017;16(2):90–100. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-2-90-100.
2. Долганова Т. И., Шихалева Н. Г., Щудло Н. А. Динамика парциального давления газов и микроциркуляции в коже несоблюдения после их транспозиции // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2012. – Т. 11, № 4. – С. 18–22. [Dolganova TI, Shikhaleva NG, Chtchoudlo NA. The dynamics of gases partial pressure and microcirculation in the axial flaps skin after transposition // Regional blood circulation and microcirculation. 2012;11(4):18–22. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2012-11-4-18-22.
3. Зинчук В. В. Кислородтранспортная функция крови и газотрансмиттер сероводород // Успехи физиолог. наук. – 2021. – Т. 52, № 3. – С. 21–35. [Zinchuk VV. Oxygen transport functions of blood and hydrogen sulfide gazotransmitter // Usp Fiziol Nauk. 2021; 52(3):21–35. (In Russ.)].
4. Абулдинов А. С. Особенности кислородтранспортной функции крови у беременных в внебольничной пневмонии (обзор литературы) // Бюлл. физиологии и патологии дыхания. – 2020. – № 75. – С. 126–136. [Abuldinov AS. Bulletin Physiology and Pathology of Respiration. 2020;(75):126–136. (In Russ.)]. Doi: 10.36604/1998-5029-2020-75-126-136.
5. Wang WJ, Zhan Y, Zhang DY. Research progress in treatment and nursing of vascular crisis after replantation of severed finger // J of Traumatic Surgery. 2016;(18):572–574.
6. Зинчук В. В., Билецкая Е. С. Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови при различных режимах воздействия в опытах in vitro // Биофизика. – 2020. – Т. 65, № 5. – С. 915–919. [Zinchuk VV, Bileczkaya ES. Different ozone dosage effects on oxygen transport in blood, in vitro experiments. Biofizika. 2020;65(5):915–919. (In Russ.)]. Doi: 10.31857/S0006302920050099.
7. Зинчук В. В., Билецкая Е. С., Гуляй И. Э. Эффекты озона на кислотно-основное состояние крови в опытах in vitro // Новости медико-биологических наук. – 2018. – Т. 17, № 2, – С. 40–44. [Zinchuk VV, Bileczkaya ES, Gulyaj IE. Effect of ozone on the prooxidant-antioxidant balance in the blood in vitro studies. Novosti mediko-biologicheskix nauk. 2018; 17(2):40–44. (In Russ.)].

8. Mehraban F, Seyedarabi A, Ahmadian S, Mirzaaghaei V, Moosavi-Movahedi AA. Personalizing the safe, appropriate and effective concentration(s) of ozone for a non-diabetic individual and four // *J Transl Med*. 2019;17(1):227. Doi: 10.1186/s12967-019-1973-5.
9. Adali Y, Eroğlu HA, Makav M, Guvendi GF. Efficacy of Ozone and Selenium Therapy for Alcoholic Liver Injury: An Experimental Model // *In Vivo*. 2019;33(3):763–769. Doi: 10.21873/invivo.11537.
10. Clavo B, Santana-Rodríguez N, Llontop P, Gutiérrez D, Suárez G, López L, Rovira G, Martínez-Sánchez G, González E, Jorge IJ, Perera C, Blanco J, Rodríguez-Esparagón F. Ozone Therapy as Adjuvant for Cancer Treatment: Is Further Research Warranted // *Evid Based Complement Alternat Med*. 2018;7931849. Doi: 10.1155/2018/7931849.
11. Зинчук В. В., Билецкая Е. С. Эффект озона на кислородтранспортную функцию и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах in vitro // *Рос. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова*. – 2021. – Т. 107, № 1. – С. 16–27. [*Zinchuk VV, Bileczkaya ES, Gulyaj IE. Effect of ozone on blood oxygen transport function and pro-oxidant-antioxidant balance in under conditions of changing nitrogen monoxide formation in vitro experiments // Russian Journal of Physiology*. 2021;107(1):16–27. (In Russ.)]. Doi: 10.31857/S0869813921010106.
12. Severinghaus JW. Blood gas calculator // *J. Appl. Physiol*. 1966;21(5):1108–1116. Doi: 10.1152/jappl.1966.21.3.1108.
13. Сабиров И. С., Мамедова К. М., Султанова М. С. и др. Роль и значение гипоксического компонента в развитии осложнений новой коронавирусной инфекции (COVID-19) // *The Scientific Heritage*. – 2021. – № 62. – С. 21–28. [*Sabirov I, Mamedova K, Sultanova M, Kozhoeva M, Ibadullaev B. The role and significance of the hypoxic component in the development of complications of the new coronavirus infection (COVID-19)*. 2021;(62):21–28. (In Russ.)]. Doi: 10.24412/9215-0365-2021-62-2-21-28.
14. Глазачев О. С., Дудник О. С. Особенности реактивности сосудов микроциркуляторного русла практически здоровых людей при моделировании острой умеренной гипоксии и гипероксии // *Физиология человека*. – 2013. – Т. 39, № 4. – С. 400–406. [*Glazachev OS, Dudnik EN. Microcirculatory reactivity features in apparently healthy individuals during acute moderate hypoxia and hyperoxia modeling*. – 2013. 37(4):400–406. (In Russ.)]. Doi: 10.7868/S0131164613030089.
15. He S, Chen W, Xia J, Lai Z, Yu D, Yao J, Cai S. Effects of ozone autohemotherapy on blood VEGF, TGF- $\beta$  and PDGF levels after finger replantation // *Ann Palliat Med*. 2020;9(5):3332–3339. Doi: 10.21037/apm-20-1467.
16. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидропероксидов липидов в плазме крови // *Лаб. дело*. – 1983. – № 3. – С. 33–36. [*Gavrilov VB, Mishkorudnaya MI. Spectrophotometric determination of the content of lipid hydroperoxides in blood plasma*. *Lab. Delo*. – 1983;(3):33–36. (In Russ.)].
17. Камышников В. С. *Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике*. – 2-е изд. – Минск, 2002. – С. 465. [*Kamyshnikov VS. Handbook of clinical and biochemical laboratory diagnostics*. Minsk. 2002:465].
18. Taylor SL, Lamden MP, Tappel AL. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis // *Lipids*. 1976;11(7):530–538. Doi: 10.1007/BF02532898.
19. Bryan NS, Grisham MB. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples // *Free Radic. Biol. Med*. 2007;43(5):645–657. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.04.026.
20. Norris EJ, Culberson CR, Narasimhan S, Clemens MG. The liver as central regulator of hydrogen sulfide. *Shock*. 2011;36(3):242–250. Doi: 10.1097/SHK.0b013e3182252ee7.
21. Зинчук В. В., Степура Т. Л. Модификация оксидом азота сродства гемоглобина к кислороду в различных условиях кислородного режима // *Рос. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова*. – 2013. – Т. 99, № 1. – С. 111–119. [*Zinchuk VV, Stepuro TL. Nitric oxide modification of hemoglobin oxygen affinity in different conditions of oxygen regime // Russian Journal of Physiology*. 2013;99(1):111–119 (In Russ.)].
22. Роль оксида азота в патофизиологии и лечении хронической обструктивной болезни легких / О. Ю. Кытикова, Т. А. Гвозденко, М. В. Антонюк, Т. П. Новгородцева // *Бюлл. физиологии и патологии дыхания*. – 2019. – № 71. – С. 105–111. [*Kytikova OYu, Gvozdenko TA, Antonyuk MV, Novgorodtseva TP. The role of nitric oxide in pathophysiology and treatment of chronic obstructive pulmonary disease*. *Bulletin of physiology and pathology of respiration*. 2019;(71):105–111. (In Russ.)]. Doi: 10.12737/article\_5c89ab4f8523c5.66345570.
23. Zhao Y, Wang X, Noviana M, Hou M. Nitric oxide in red blood cell adaptation to hypoxia // *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2018;50(7):621–634. Doi: 10.1093/abbs/gmy055.
24. Jaitovich A, Jourdeuil D. A Brief Overview of Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species Signaling in Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension // *Adv Exp Med Biol*. 2017;(967):71–81. Doi: 10.1007/978-3-319-63245-2\_6.
25. Jin Z, Zhang Q, Wondimu E, Verma R, Fu M, Shuang T, Arif HM, Wu L, Wang R. H2S-stimulated bioenergetics in chicken erythrocytes and the underlying mechanism // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2020;319(1):69–78. Doi: 10.1152/ajpregu.00348.2019.
26. Zheng M, Zeng Q, Shi XQ, Zhao J, Tang CS, Sun NL, Geng B. Erythrocytic or serum hydrogen sulfide association with hypertension development in untreated essential hypertension // *Chin Med J (Engl)*. 2011;124(22):3693–3701. PMID: 22340226.
27. Wu J, Pan W, Wang C, Dong H, Xing L, Hou J, Fang S, Li H, Yang F, Yu B. H2S attenuates endoplasmic reticulum stress in hypoxia-induced pulmonary artery hypertension // *Biosci Rep*. 2019;39(7):BSR20190304. Doi: 10.1042/BSR20190304.
28. Rifkind JM, Salgado MT, Cao Z. Regulation of oxygen delivery by the reaction of nitrite with RBCs under hypoxic conditions // *Adv Exp Med Biol*. 2012;(737):183–189. Doi: 10.1007/978-1-4614-1566-4\_27.
29. Tabassum R, Jeong NY. Potential for therapeutic use of hydrogen sulfide in oxidative stress-induced neurodegenerative diseases // *Int J Med Sci*. 2019;16(10):1386–1396. Doi: 10.7150/ijms.36516.

### Информация об авторах

**Зинчук Виктор Владимирович** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии, Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь, e-mail: zinchuk@grsmu.by.

**Билецкая Елена Степановна** – аспирант, ассистент кафедры нормальной физиологии, Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь, e-mail: biletskaya.e@inbox.ru.

### Authors information

**Zinchuk Victor V.** – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus, e-mail: zinchuk@grsmu.by.

**Biletskaya Elena S.** – post-graduate student, assistant of the Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus, e-mail: biletskaya.e@inbox.ru.

УДК 612.1/2

DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-77-83

Н. В. ПАНЬКОВА<sup>1</sup>, М. М. АРТЕМЬЕВА<sup>2</sup>, Н. А. МЕДВЕДЕВА<sup>2</sup>

## Пол-зависимое изменение реактивности изолированных легочных артерий гонадоэктомированных крыс при действии прерывистой гипоксии разной степени тяжести

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр Российской Федерации "Институт медико-биологических проблем" Российской академии наук», Москва, Россия  
123007, Россия, Москва, Хорошевское шоссе, д. 76 А

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», Москва, Россия  
119991, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1  
E-mail: namedved@gmail.com

Статья поступила в редакцию 19.02.21 г.; принята к печати 28.05.21 г.

### Резюме

**Введение.** Сужение легочных сосудов является одним из факторов патогенеза гипоксической формы легочной гипертонии (ГЛГ). Степень развития заболевания зависит от степени гипоксического воздействия и пола. **Цель** – изучение влияния степени гипоксии и пола животного на реакции изолированных легочных артерий на вазоактивные факторы. **Материалы и методы.** Эксперименты проводили на гонадоэктомированных самцах (СЦ) и самках (СК) крыс стока Wistar. В эксперимент вступало по 4 группы животных. Одна группа СЦ и СК содержалась в условиях вивария (21 %O<sub>2</sub>). Для моделирования ГЛГ остальных крыс в течение по 10 ч в сутки подвергали действию гипобарической гипоксии (ХПГГ) при содержании кислорода во вдыхаемом воздухе 13 % (пД. O<sub>2</sub> 103,7 мм рт. ст.), или 10 % (пД. O<sub>2</sub> 78,2 мм рт. ст.), или 8 % (пД. O<sub>2</sub> 63,5 мм рт. ст.) в сравнении с его содержанием при 21 % (пД. O<sub>2</sub> 159 мм рт. ст.). Затем выделяли легочный сосуд 3-го порядка, который перфузировали с постоянным расходом сосудосуживающими и сосудорасширяющими агентами. О реакции судили по изменению перфузионного давления. **Результаты.** Изучение реакций изолированных сосудов показало, что у СК с ГЛГ 10 % O<sub>2</sub> суживающая реакция на серотонин была больше, чем у СЦ. У нормотензивных СЦ расширительный ответ на эндотелий-независимый расширительный фактор нитропруссид натрия (НП) была меньше, чем у СК. Воздействие гипоксии у СЦ приводило к увеличению реактивности к НП. **Заключение.** Увеличенная реактивность легочных сосудов СК к серотонину может быть фактором патогенеза ГЛГ, в отличие от СЦ. Увеличение реакции к NO-донору у СЦ при действии гипоксии может быть использовано для фармакологической коррекции ГЛГ.

**Ключевые слова:** хроническая прерывистая гипоксия, легочная гипертония, легочные сосуды, серотонин, NO-донор, самки, самцы

**Для цитирования:** Панькова Н. В., Артемьева М. М., Медведева Н. А. Пол-зависимое изменение реактивности изолированных легочных артерий гонадоэктомированных крыс при действии прерывистой гипоксии разной степени тяжести. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021;20(3):77–83. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-77-83.

UDC 612.1/2

DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-77-83

N. V. PANKOVA<sup>1</sup>, M. M. ARTEMIEVA<sup>2</sup>, N. A. MEDVEDEVA<sup>2</sup>

## Sex-dependent change in the reactivity of isolated pulmonary arteries of gonadectomized rats under the intermittent hypoxia of different degree

<sup>1</sup> Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia  
76A, Khoroshevskoye schosse, Moscow, Russia, 123007

<sup>2</sup> M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia  
1, Leninskie Gory, Moscow, Russia, 119991  
E-mail: namedved@gmail.com

Received 19.02.21; accepted 28.05.21

### Summary

**Introduction.** Pulmonary vasoconstriction is one of factors of hypoxic pulmonary hypertension (HPH). The progression of this disease depends on the degree of hypoxia and sex. **The aim of this study** was to investigate the reactivity of isolated pulmonary vessels of male and female rats with HPH to vasoactive factors. **Materials and methods.** The experiments were on male and female of Wistar rats 190–200 g, which were gonadectomized. All animals were divided into 4 groups. One group of males and female rats was kept in a vivarium (21 % O<sub>2</sub>). To simulate HPH, other rats were exposed to hypobaric hypoxia for 10 hours a day at an oxygen content in the inhaled air equal to 13 % (pP O<sub>2</sub> 103.7 mmHg) or 10 % (pP O<sub>2</sub> 78.2 mmHg), or

8 % (pP O<sub>2</sub> 63,5 mmHg) as compared to its content at 21 % (pP O<sub>2</sub> 159 mmHg). After that, a third-order pulmonary vessel was perfused at a constant flow rate with vasoconstrictors and vasodilators. The reaction was recorded by the change in perfusion pressure. *Results.* In females with HPH 10 %O<sub>2</sub>, constricting response to serotonin were greater than in males. In normotensive males, the dilatatory response to sodium nitroprusside (NP) was less than in female. Exposure to hypoxia induced an increase in NP responses. *Conclusion.* Increased reactivity of pulmonary vessels to serotonin is a factor of pathogenesis of HPH in females, in contrast to males. Increased reactivity to NO donor in males exposed to hypoxia can be used for a pharmacological target for HPH.

**Keywords:** *chronic intermittent hypoxia, pulmonary hypertension, pulmonary vessels, serotonin, NO donor, females, males*

**For citation:** Pankova N. V., Artemieva M. M., Medvedeva N. A. Sex-dependent change in the reactivity of isolated pulmonary arteries of gonadectomized rats under the intermittent hypoxia of different degree. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2021;20(3):77–83. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-77-83.

## Введение

Реакция легочных сосудов на острое гипоксическое воздействие отличается от реакции сосудов большого круга кровообращения. В первом случае возникает адаптивное сужение сосудов, направленное на сохранение оптимального соотношения вентиляции и перфузии. В сосудах большого круга кровообращения наблюдается их расширение, обеспечивающее доставку достаточного количества кислорода к тканям, что необходимо для поддержания их метаболизма. При хроническом действии гипоксии, при низком уровне содержания кислорода во вдыхаемом воздухе, возникают сужение легочных сосудов, структурная перестройка стенки сосудов и правого желудочка сердца. Все это приводит к увеличению давления в сосудистой системе легких и возникновению гипоксической формы легочной гипертонии (ГЛГ), которая часто является осложнением ряда заболеваний легочной системы [1, 2]. Одной из причин развития ГЛГ является изменение реактивности сосудистой стенки, как гладкой мышцы, так и эндотелия, к вазоактивным факторам [3]. Вклад изменения сосудистой реактивности в развитии ГЛГ при разных уровнях содержания кислорода во вдыхаемом воздухе и разной степени развития легочной гипертонии остается малоисследованным. Понимание этих процессов осложняется еще и тем, что легочная гипертония является пол-зависимым заболеванием. Показано, что женщины в репродуктивном возрасте страдают легочной гипертонией чаще, чем мужчины, в среднем в соотношении 4:1 [4]. И это несмотря на то, что женский половой гормон эстрадиол обладает протективным действием в отношении функции эндотелия сосудистой стенки. Он способен вызывать увеличение синтеза одного из главных сосудорасширяющих факторов – оксида азота (NO), активируя специфические рецепторы, расположенные на мембране эндотелиальных клеток. В литературе это явление получило название «эстрадиолового парадокса» [5]. Однако после наступления постменопаузы у женщин, когда содержание половых гормонов в организме уменьшается, половых различий в проявлении ЛГ не наблюдается [6]. Изучая это явление на гонадоэктомированных самцах (СЦ) и самках (СК) крыс с ГЛГ, мы показали, что максимальное развитие ГЛГ у СК происходит при более высоком содержании кислорода во вдыхаемом воздухе (при 10 % O<sub>2</sub>) по сравнению с СЦ (при 8 % O<sub>2</sub>) [7]. Для анализа пол-зависимой чувствительности к степени гипоксии и связанного с этим развития ГЛГ в насто-

ящей работе изучали возможный вклад изменения реактивности изолированных сосудов легких гонадоэктомированных СЦ и СК крыс с ГЛГ, вызываемой разными уровнями гипоксии, в ответ на перфузию сосудосуживающим (серотонин) и сосудорасширяющими (нитропруссид натрия и эстрадиол) факторами.

## Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на СЦ и СК крыс стока Wistar весом 190–200 г (виварий ФГБНУ НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва). Животных содержали в условиях 12-часового светового дня (включение света в 09:00) со свободным доступом к воде и пище. В гипоксической части эксперимента свободный доступ к еде и воде у животных был только в ночное время суток (12 ч), что связано с ограниченными возможностями используемой гипоксической камеры. Работу с животными проводили согласно требованиям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в других научных целях (1986) (Биоэтический комитет МГУ № 11 ФЧЖ 2019 от 14.05.2019 г.). Исследование начинали через 3 недели после транспортировки, в течение которых проводили приучение животных к рукам.

*Группы животных.* Крыс обоих полов гонадоэктомировали в 2-месячном возрасте для уменьшения содержания половых гормонов. Спустя 4 недели всех животных, вне зависимости от пола, делили на 4 равные группы по 10 крыс в каждой, кроме групп СК8 и СЦ8, где было по 13 животных, учитывая высокую смертность при низком содержании кислорода. Одну группу самцов и самок на протяжении 14 последующих дней содержали в условиях вивария (21 % содержание кислорода при давлении 1 атм. – нормотензивный контроль). Остальных крыс в течение 2 недель ежедневно по 10 ч в сутки подвергали действию гипобарической гипоксии (ХПГ) при содержании кислорода во вдыхаемом воздухе, равном 13 % (парциальное давление O<sub>2</sub> 103,7 мм рт. ст.), или 10 % (парциальное давление O<sub>2</sub> 78,2 мм рт. ст.), или 8 % (парциальное давление O<sub>2</sub> 63,5 мм рт. ст.) по сравнению с его содержанием при 21 % (пД O<sub>2</sub> 159 мм рт. ст. при атмосферном давлении 760 мм рт. ст., уровень моря). Содержание кислорода в гипобарической камере измерялось датчиком кислорода Клевер-В (НПП «Дельта», Россия). Таким образом, в эксперимент вступало 8 экспериментальных групп животных: самки – СК21, СК13, СК10, СК8 – и соответствующие группы самцов (СЦ). После

## Систолическое давление в правом желудочке сердца у гонадэктомированных животных с ГЛГ разной степени тяжести, мм рт. ст. [7]

## Systolic pressure in the right ventricle in gonadectomized rats under the intermittent hypoxia of different degree, mm Hg [7]

СЦ21 (n=8)	СЦ13 (n=9)	СЦ10 (n=6)	СЦ8 (n=5)	СК21 (n=9)	СК13 (n=9)	СК10 (n=6)	СК8 (n=4)
44,0±1,1	56,9±4,0*	56,1±1,5* <sup>®</sup>	72,3±5,9* <sup>*,#,&amp;</sup>	43,9±2,8	56,4±3,0*	69,2±4,7* <sup>,#</sup>	68,8±6,6*

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группами крыс, не подвергавшихся гипоксии (СК21 или СЦ21); # –  $p < 0,05$  по сравнению с такой же группой 13 %; ® –  $p < 0,05$  по сравнению с группой СК10 %; & –  $p < 0,05$  по сравнению с группой СЦ10 %. Тест Крускал – Уоллиса.

2-недельного прерывистого гипоксического воздействия животных брали в физиологический эксперимент, который проводили под уретановым наркозом (1,2 г/кг, 0,6 г/мл). В ходе гипоксического воздействия была зарегистрирована смертность животных, которая возрастала с уменьшением содержания кислорода во вдыхаемом воздухе. Гибель животных обычно происходит на 1-е или 2-е сутки после начала гипоксической экспозиции. В нашем случае гипоксия привела к незначительной гибели животных в группах СК13, СК10, СЦ13, СЦ10 (по 1 животному в каждой группе) и к существенной гибели в группах СК8 (9 животных) и СЦ8 (8 животных). Данные по числу животных, у которых было измерено систолическое давление в правом желудочке сердца (СПЖД), указаны в таблице, а по числу сосудов – на рис. 1; 2. Легочные сосуды – достаточно хрупкий объект для исследования, образцы легочных артерий брали у всех животных, доживших до конца эксперимента. Итоговые кривые на графиках отображают значения для тех сосудов, для которых сократительный ответ на серотонин и расширительный ответ на НП изменялись дозозависимо.

*Регистрация основных гемодинамических показателей* подробно описана ранее [7]. В ходе физиологического эксперимента у наркотизированных животных проводили измерение СПЖД, системное артериальное давление (АД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) с использованием тензорных датчиков СТАТНАМ (США) и модифицированной компьютерной программы «DAQ\_2013». По величине СПЖД судили о степени развития ЛГ. После этого животных декапитировали и из левого легкого выделяли сегмент легочной артерии 3-го порядка.

*Изучение реактивности изолированных сегментов легочных сосудов.* Изолированный сегмент длиной 2–3 мм помещали в термостатируемую камеру и перфузировали с постоянным расходом 2 мл/мин при температуре 37–37,5 °С модифицированным раствором Кребса – Хенселяйта (состав в мМ: NaCl – 118, KCl – 4,7, CaCl<sub>2</sub> – 3,3, MgSO<sub>4</sub> – 2,4, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,18, NaHCO<sub>3</sub> – 24,9, глюкоза – 5,05, pH = 7,4) в течение 30–40 мин для стабилизации. В перфузионной камере осуществлялся также проток раствора, омывающего сосуд снаружи. Наружный проток составлял 4 мл/мин. Изменение перфузионного давления при перфузии сосудов с постоянным расходом позволяет говорить о направленности изменения сосудистого сопротивления на вазоактивное вещество, т. е. о сужении или расширении сосудов. Таким образом,

о реакции сосуда на сосудосуживающий (серотонин) и сосудорасширяющие (нитропруссид натрия и эстрадиол) факторы судили по изменению перфузионного давления, которое регистрировали с помощью датчиков Statham (США) и программы «PowerGraph 3.0» для записи и анализа данных. В эксперименте использовали растворы серотонина ( $3 \cdot 10^{-8} \text{M} - 10^{-5} \text{M}$ ), нитропруссида натрия (НП) ( $10^{-9} \text{M} - 10^{-5} \text{M}$ ) и эстрадиола (Е2) ( $10^{-7} \text{M} - 10^{-5} \text{M}$ ) в возрастающих концентрациях. Нитропруссид натрия является донором NO и использовался в качестве фактора, вызывающего эндотелий-независимое расслабление сосуда, а эстрадиол – как агент, вызывающий эндотелийзависимое расширения артерий [5]. Результаты по расслаблению изолированных сосудов на НП и Е2 представлены как уменьшение сосудосуживающей реакции на серотонин в концентрации  $3 \cdot 10^{-6} \text{M}$  в % (реакция на серотонин принималась за 100 %).

*Материалы.* В работе использовали следующие реактивы: серотонина гидрохлорид, 17β-эстрадиол (Sigma, США), уретан (MP Biomedicals, Франция), полиэтиленовые трубочки для изготовления катетеров PE10 и PE50 (ЗАО «Медсил», г. Мытищи), NaCl, KCl, MgSO<sub>4</sub> \* 7H<sub>2</sub>O, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, D-глюкоза безводная, нитропруссид натрия 2-водный («Диа-М», Россия), CaCl<sub>2</sub> (раствор 10 %, ООО «Славянская аптека», Россия).

*Статистический анализ* данных проводили с использованием двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA и критерия Крускала – Уоллиса для независимых переменных из пакет программы «Statistica 8.0» (Statistica Inc., США) и «Prism6.0». Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты исследования и их обсуждение

Ранее мы показали, что у гонадэктомированных самцов и самок крыс происходит развитие легочной гипертонии при всех степенях используемой гипоксии (13 % O<sub>2</sub>, 10 % O<sub>2</sub>, 8 % O<sub>2</sub>). Увеличивается как СПЖД, так и гипертрофия ПЖ. Оказалось интересным, что у СК оба показателя, свидетельствующие о развитии ГЛГ, достигают максимальных величин при 10 % O<sub>2</sub> во вдыхаемом воздухе, а у СЦ – при 8 % O<sub>2</sub>, т. е. имеется пол-зависимая чувствительность к степени гипоксического воздействия при развитии ГЛГ (таблица) [7].

Учитывая тот факт, что одним из факторов патогенеза ГЛГ является изменение реактивности легочных сосудов к вазоактивным агентам, в настоящем исследовании мы изучали реакции изолированных сегментов легочных сосудов гонадэктомированных самок и

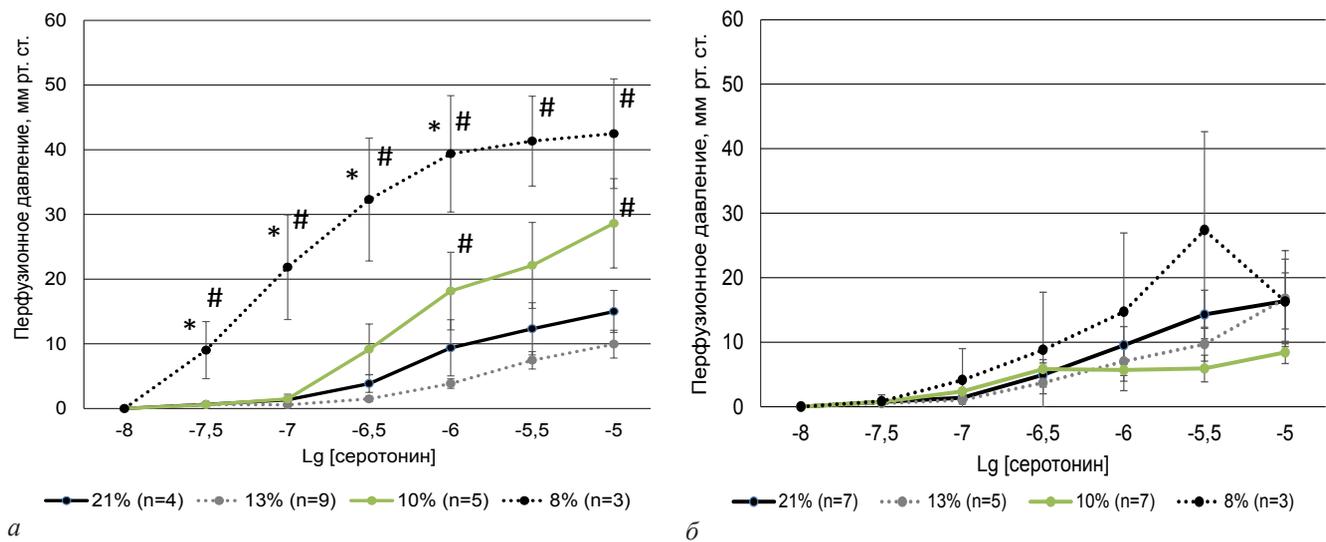


Рис. 1. Дозозависимое увеличение перфузионного давления в изолированных легочных артериях 3-го порядка гонадоэктомированных крыс (мм рт. ст.) в ответ на перфузию растворами серотонина ( $10^{-8}$ – $10^{-5}$ М): а – самки крыс; б – самцы крыс; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой с 21 %; # –  $p < 0,05$  по сравнению с группой с 13 %; & –  $p < 0,05$  по сравнению с группой с 10 %; @ –  $p < 0,05$  по сравнению с такой же группой самок крыс, тест Крускал – Уоллиса

Fig. 1. Dose-dependent increasing of perfusion pressure in isolated pulmonary arteries of the 3<sup>rd</sup> order of gonadectomized rats (mmHg) in response to perfusion with serotonin solutions ( $10^{-8}$ – $10^{-5}$ М): а – female; б – male; \* –  $p < 0.05$  compared to the group with 21 %; # –  $p < 0.05$  compared to the group with 13 %; & –  $p < 0.05$  compared to the group with 10 %; @ –  $p < 0.05$  compared to the same group of female rats, Kruskal – Wallis test

самцов крыс с ГЛГ, возникающей при содержании кислорода 13 %  $O_2$ , или 10 %  $O_2$ , или 8 %  $O_2$  во вдыхаемом воздухе, на сосудосуживающий и сосудорасширяющие вещества. В качестве сосудосуживающего фактора был выбран серотонин. Показано, что концентрация серотонина в плазме крови возрастает в ходе развития ГЛГ. Источником избыточного количества серотонина могут быть нейроэндокринные и нейроэпителиальные тельца, а также тромбоциты [9]. Согласно литературным данным [8, 9], серотонин является одним из главных суживающих факторов при развитии ЛГ, кроме того, он участвует в ремоделинге сосудистой стенки легочных сосудов. Известно, что суживающий эффект серотонина реализуется через активацию в основном 5HT<sub>1B</sub>- и 5HT<sub>2B</sub>-рецепторов [10] и цитохром 450-эпоксизависимую активацию TRP4-каналов [11].

На рис. 1 представлены дозозависимые кривые, показывающие возрастание перфузионного давления в изолированных сегментах легочных сосудов СК (рис. 1, а) и СЦ (рис. 1, б) крыс с ГЛГ в ответ на перфузию серотонином в диапазоне концентраций от  $3 \cdot 10^{-8}$  до  $10^{-5}$ М. На рисунке видно, что в сосудах животных, находившихся под действием гипоксии с содержанием кислорода 13 % во вдыхаемом воздухе, суживающий дозоэффект легочных сосудов на серотонин не отличается от групп нормотензивного контроля (21 %  $O_2$ ) ни у СЦ, ни у СК крыс (рис. 1). При этом у этих животных уже наблюдается статистически значимое увеличение систолического давления в правом желудочке сердца, что свидетельствует о развитии ГЛГ.

Таким образом, при содержании кислорода 13 % во вдыхаемом воздухе развитие ГЛГ у крыс не связано с изменением реактивности легочных сосудов как СК, так и СЦ, к серотонину.

При содержании кислорода во вдыхаемом воздухе 10 % были выявлены статистически значимые

различия в ответах сосудов на серотонин в диапазоне концентраций  $10^6$ – $10^{-5}$ М между самками и самцами. При концентрации серотонина  $10^{-5}$ М увеличение перфузионного давления в сосудах самок составило  $28,6 \pm 6,9$  мм рт. ст., а у самцов –  $8,4 \pm 1,7$  мм рт. ст. ( $p < 0,05$ ). Результаты по измерению СПЖД у этих животных показали, что у самок давление в правом желудочке сердца на 23 % выше (группа СК10), чем у самцов (СЦ10) (таблица), т. е. при действии хронической гипоксии 10 %  $O_2$  у самок ГЛГ развивается в большей степени, чем у самцов. Этот эффект сопровождается возрастанием суживающих ответов легочных артерий самок на серотонин. Полученные данные позволяют предположить, что увеличенная реактивность артерий легких СК к серотонину является одним из факторов, который приводит к более тяжелому проявлению ГЛГ у самок по сравнению с самцами, учитывая, что концентрация циркулирующего серотонина в крови при ГЛГ увеличена [9].

Уменьшение содержания кислорода во вдыхаемом воздухе с 10 до 8 %  $O_2$  привело к дальнейшему возрастанию перфузионного давления на серотонин как у самок, так и у самцов крыс. Максимальный ответ у самок составил  $41,3 \pm 6,9$  мм рт. ст. ( $3 \cdot 10^{-6}$ М), а у самцов –  $27,4 \pm 15,2$  мм рт. ст. При этом величина СПЖД у самок не изменилась, а у самцов выросла на 18 %. Несмотря на достаточно большую величину изменений изучаемых параметров, разница между реакциями сосудов самок и самцов была недостоверна, так как при гипоксии 8 %  $O_2$  во вдыхаемом воздухе наблюдалась высокая гибель животных и не у всех животных, вступивших в эксперимент, удалось взять сосуды. В ходе эксперимента среди самок погибло 69 % животных, а самцов – 61 %. Обсуждая полученные данные, можно сказать, что максимальное развитие ГЛГ у самок достигается уже при гипоксии 10 %  $O_2$  и оно сопровождается увеличением реак-

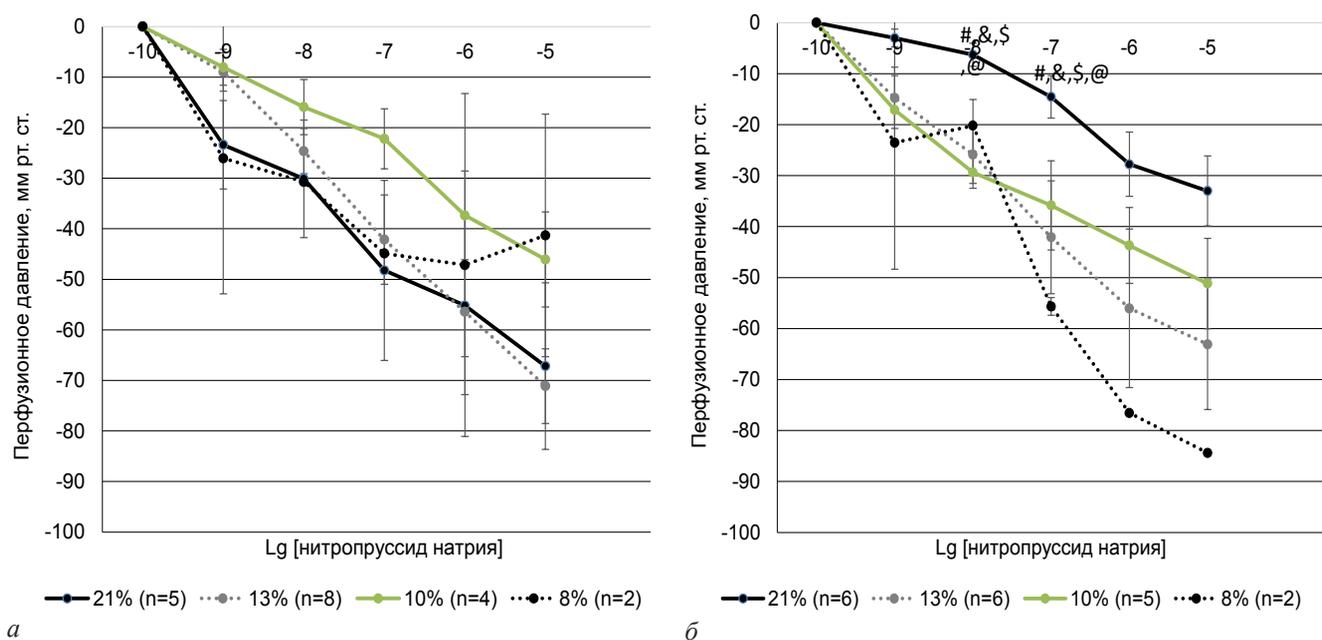


Рис. 2. Дозозависимое уменьшение перфузионного давления изолированной легочной артерии 3-го порядка гонадоэктомированных крыс в ответ на перфузию растворами нитропруссид натрия в % от прироста давления на серотонин  $3 \cdot 10^{-6}$  М: а – самки крысы; б – самцы крысы; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой с 21 %; # –  $p < 0,05$  по сравнению с группой с 13 %; & –  $p < 0,05$  по сравнению с группой с 10 %; @ –  $p < 0,05$  по сравнению с такой же группой самок крысы, тест Крускал – Уоллиса

Fig. 2. Dose-dependent decreasing of the perfusion pressure in the isolated pulmonary artery of the 3<sup>rd</sup> order of gonadectomized rats in response to perfusion with sodium nitroprusside solutions as a % of the increasing by serotonin pressure of  $3 \cdot 10^{-6}$  M: а – female rats; б – male rats; \* –  $p < 0.05$  compared to the group with 21 %; # –  $p < 0.05$  compared to the group with 13 %; & –  $p < 0.05$  compared to the group with 10 %; @ –  $p < 0.05$  compared to the same group of female rats, Kruskal – Wallis test

тивности легочных сосудов к серотонину, но дальнейшее увеличение реактивности к сосудосуживающему фактору не сказывается на величине СПЖД, но приводит к большой гибели животных. У самцов максимальная величина СПЖД наблюдается при 8 %  $O_2$ . Однако статистически значимое увеличение перфузионного давления на серотонин было показано только при одной концентрации серотонина –  $3 \cdot 10^{-6}$  М. Таким образом, развитие ГЛГ у СК, в отличие от СЦ, сопровождается большим возрастанием суживающих реакций на серотонин. Эффект увеличивается с возрастанием степени гипоксии. Реакция может быть опосредована увеличенной экспрессией рецепторов 5-НТ1В в гладкой мышце легочных сосудов представителей женского пола [12]. Настоящие данные можно рассматривать как аргумент в пользу большего участия серотонина в развитии ГЛГ у СК по сравнению с СЦ.

Хорошо известно, что хроническая гипоксия влияет на механизмы не только сокращения гладких мышц, но и их расслабления. Основные расширительные механизмы обусловлены увеличением содержания циклических нуклеотидов цАМФ и цГМФ и запускаемыми ими изменениями метаболизма гладких мышц сосудов и проницаемости ионных каналов. Особый интерес представляет собой растворимая гуанилатциклаза-цГМФ-зависимый путь (рГЦ-цГМФ), так как с его помощью реализуется влияние оксида азота (NO), одного из основных сосудорасширительных факторов, синтезируемых эндотелием в норме. По поводу влияния хронической гипоксии на этот механизм расслабления в литературе имеются противоречивые данные, что связано, по-видимому, с использованием разных эксперимен-

тальных моделей. Но большинство исследователей приходят к заключению, что как активность рГЦ, так и экспрессия ее гена находятся под регулирующим влиянием NO, синтезируемым в эндотелии сосудов [13]. Имеются данные о том, что пол может влиять на данное взаимодействие. Так, было показано, что у самок хроническая гипоксия уменьшает NO-зависимое расширение, увеличивая активность фосфодиэстеразы 5-го типа [14].

Мы изучали дозозависимы расширительные ответы легочных сосудов гонадоэктомированных СЦ и СК на донор NO нитропруссид натрия (НП) в концентрации от  $10^{-9}$  до  $10^{-5}$  М (рис. 2).

Хорошо видно, что у гонадоэктомированных крыс, не подвергавшихся воздействию гипоксии, наблюдается статистически значимое различие в расширительной реакции на нитропруссид натрия в зависимости от пола. В диапазоне концентраций НП от  $10^{-8}$  до  $10^{-7}$  М у самцов расширительный ответ на донор NO существенно ниже. Так, при концентрации  $10^{-7}$  М уменьшение перфузионного давления в сосудах самцов в 3,5 раза меньше, чем у самок. Однако это различие не сказывается на величине СПЖД у нормотензивных животных (группы СЦ21 и СК21, таблица). Влияние прерывистой хронической гипоксии любой интенсивности приводит к возрастанию ответа на НП в сосудах гонадоэктомированных самцов крыс. Причем реакция уменьшения перфузионного давления в сосудах самцов и самок при гипоксии в 13 %  $O_2$  и 10 %  $O_2$  не отличается. Таким образом, наши результаты свидетельствуют о том, что хроническая гипоксия в экспериментах на крысах стимулирует активность рГЦ-цГМФ-пути расширения легочных сосудов у самцов. Эффект не зависит от

тяжести гипоксического воздействия. Полученные данные подтверждают ранее описанный стимулирующий эффект хронической гипоксии на активность рГЦ-цГМФ-пути расслабления гладкой мышцы сосуда [15]. Однако, как уже было сказано выше, активность рГЦ находится под регулирующим влиянием NO, который синтезируется в эндотелии при активации eNOS. Согласно литературным данным [13] при хронической гипоксии активность eNOS и синтез NO могут изменяться, что может приводить к уменьшению активности рГЦ и синтеза цГМФ и процессов расслабления. Учитывая, что при многих заболеваниях сердечно-сосудистой системы изменяется синтетическая функция эндотелия в сторону уменьшения синтеза NO, в настоящее время предлагается использовать активаторы рГЦ как способ увеличения расширительного резерва сосудистой системы через активацию рГЦ-цГМФ-пути расширения, в частности, при легочной гипертензии [16, 17].

Помимо изучения реактивности сосудов на эндотелий-независимый донор NO, мы проводили исследование реакции изолированных легочных артерий гонадоэктомированных самок и самцов как под действием гипоксии разной степени тяжести, так и без нее, на эндотелийзависимый расширительный фактор – 17 $\beta$ -эстрадиол. Этот агент был выбран в связи с тем, что женский половой гормон способен активировать мембранные рецепторы эндотелия сосудов, вызывая синтез NO и расширение сосудов, что приводит к уменьшению сосудистого сопротивления и артериального давления [5]. Мы выяснили, что максимальное уменьшение перфузионного давления на эстрадиол в нормотензивных СК статистически значимо не отличалось от реакции сосудов СЦ (группы СК21 vs СЦ21, 64,9 $\pm$ 11,0 мм рт. ст. vs 48,2 $\pm$ 19,3 мм рт. ст.). Не было обнаружено статистически значимых различий между ответами сосудов разных экспериментальных групп, подвергавшихся воздействию разной степени гипоксии, и между группами СЦ и СК. Эти данные не противоречат результатам, имеющимся в литературе, где указывается, что активность eNOS в условиях гипоксии может как уменьшаться, так и увеличиваться, и, кроме NO, в условиях гипоксии активация eNOS может приводить к синтезу пероксинитрита и других свободных радикалов, влияющих на состояние сократительного тонуса гладких мышц сосудов [13, 18].

### Заключение

В настоящем исследовании было показано, что изменение реактивности легочных сосудов к суживающим и расширяющим факторам имеет ползависимое проявление и зависит от степени гипоксии. У СК суживающая реакция легочных сосудов на серотонин увеличивалась при возрастании степени гипоксии в значительно большей степени, чем у СЦ, и, в отличие от них, соответствовала степени развития ГЛГ. Эти данные позволяют говорить о том, что серотонин в большей степени принимает участие в увеличении сосудистого сопротивления и степени ГЛГ у СК по сравнению с СЦ. Интересной оказалась реакция легочных сосудов СЦ на донор NO ни-

тропруссид натрия. У нормотензивных СЦ величина эндотелий-независимой расширительной реакции в ответ на перфузию растворами нитропруссидом натрия была существенно ниже, чем у СК. Развитие ГЛГ при гипоксии любой степени тяжести сопровождалось увеличением расширительных ответов на донор NO у СЦ крыс, но не у СК. При этом различий в эндотелийзависимой расширительной реакции в ответ на эстрадиол выявлено не было. Сохранение высокой реактивности рГЦ-цГМФ-пути расширения к экзогенному NO при развитии ГЛГ у самцов представляет интерес с точки зрения медикаментозного применения активаторов этого механизма расслабления гладких мышц сосудов.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

### Литература / References

1. Weitzenblum E, Chaouat A, Canuet M, Kessler R. Pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease and interstitial lung diseases // *Semin Respir Crit Care Med.* 2009;30(4):458–470. Doi: 10.1055/s-0029-1233315.
2. Voelkel NF, Mizuno S, Bogaard HJ. The role of hypoxia in pulmonary vascular diseases: a perspective // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2013;304(7):L457–465. Doi: 10.1152/ajplung.00335.2012.
3. Esteve JM, Launay JM, Kellermann O, Maroteaux L. Functions of serotonin in hypoxic pulmonary vascular remodeling // *Cell Biochem Biophys.* 2007;47(1):33–44. Doi: 10.1385/cbb:47:1:33.
4. Mair KM, Johansen AK, Wright AF, Wallace E, MacLean MR. Pulmonary arterial hypertension: basis of sex differences in incidence and treatment response // *Br J Pharmacol.* 2014;171(3):567–79. Doi: 10.1111/bph.12281.
5. Foderaro A, Ventetuolo CE. Pulmonary Arterial Hypertension and the Sex Hormone Paradox // *Curr Hypertens Rep.* 2016;18(11):84. Doi: 10.1007/s11906-016-0689-7.
6. Campean IA, Lang IM. Treating pulmonary hypertension in the elderly // *Expert Opin Pharmacother.* 2020;21(10):1193–1200. Doi: 10.1080/14656566.2020.1739270.
7. Панькова Н. В., Артемьева М. М., Попова А. С. Влияние степени гипоксии, пола животного и 17 $\beta$ -эстрадиола на проявление гипоксической формы легочной гипертензии // *Рос. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова.* – 2019. – Т. 105. – № 2. – С. 258–266. [Pankova NV, Artemieva MM, Popova AS, Andreev-Andreevskiy AA, Medvedeva NA. Effect of hypoxia, sex and 17 $\beta$ -estradiol on the manifestation of the hypoxic pulmonary hypertension. *Russian Journal of Physiology.* 2019;105(2):258–266. (In Russ.)]. Doi: 10.1134/S0869813919020122.
8. Shimoda LA, Laurie SS. Vascular remodeling in pulmonary hypertension // *J Mol Med (Berl).* 2013;91(3):297–309. Doi: 10.1007/s00109-013-0998-0.
9. Hervé P, Launay JM, Scrobohaci ML, Brenot F, Simonneau G, Petitpretz P, Poubau P, Cerrina J, Duroux P, Drouet L. Increased plasma serotonin in primary pulmonary hypertension // *Am J Med.* 1995;99(3):249–254. Doi: 10.1016/s0002-9343(99)80156-9.
10. MacLean MR, Morecroft I. Increased contractile response to 5-hydroxytryptamine1-receptor stimulation in pulmonary arteries from chronic hypoxic rats: role of pharmacological synergy // *British Journal of Pharmacology.* 2001;134(3):614–620. Doi: 10.1038/sj.bjp.0704273.

11. Xia Y, Xia L, Jin Z, Jin R, Paudel O, Sham JSK. Cytochrome P450 Epoxygenase-Dependent Activation of TRPV4 Channel Participates in Enhanced Serotonin-Induced Pulmonary Vasoconstriction in Chronic Hypoxic Pulmonary Hypertension // *Anal Cell Pathol (Amst)*. 2020;8927381. Doi: 10.1155/2020/8927381.

12. Wallace E, Morrell NW, Yang XD, Long L, Stevens H, Nilsen M, Loughlin L, Mair KM, Baker AH, Maclean MR. A sex-specific microRNA-96/5-hydroxytryptamine 1B axis influences development of pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;(191):1432–1442. Doi: 10.1164/rccm.201412-2148oc.

13. Li D, Laubach VE, Johns RA. Upregulation of lung soluble guanylate cyclase during chronic hypoxia is prevented by deletion of eNOS. // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001;281(2):L369–L376. Doi: 10.1152/ajplung.2001.281.2.L369.

14. Jernigan NL, Resta TC. Chronic hypoxia attenuates cGMP-dependent pulmonary vasodilation // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2002;282(6):L1366–L1375. Doi: 10.1152/ajplung.00273.2001.

15. Li D, Zhou N, Johns RA. Soluble guanylate cyclase gene expression and localization in the rat lung after exposure to chronic hypoxia // *Am J Physiol*. 1999;277(4):L841–L847. Doi: 10.1152/ajplung.1999.277.4.L841.

16. Грацианская С. Е., Валиева З. С., Мартынюк Т. В. Достижения современной специфической терапии легочной артериальной и хронической тромбоэмболической легочной гипертензии: фокус на стимулятор растворимой гуанилатциклаз риоцигуат // *Терапевт. архив*. – 2020. – Т. 92, № 9. – С. 77–84. [Gratsianskaya SE, Valieva ZS, Martynuk TV. The achievements of the modern specific therapy of pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension: focus on the stimulator of soluble guanylate cyclase riociguat. *Ter Arkh*. 2020;92(9):77–84. (In Russ.)]. Doi: 10.26442/00403660.2020.09.000717.

17. Mandras SA, Mehta HS, Vaidya A. Pulmonary Hypertension: A Brief Guide for Clinicians // *Mayo Clin Proc*. 2020;95(9):1978–1988. Doi: 10.1016/j.mayocp.2020.04.039.

18. Yvette N. Martin YN, Pabelick ChM. Sex differences in the pulmonary circulation: implications for pulmonary hypertension // *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014;(306):H1253–H1264. Doi: 10.1152/ajpheart.00857.2013.

### Информация об авторах

**Панькова Надежда Владимировна** – канд. биол. наук, научный сотрудник, Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия, e-mail: nadezhda.pankova.nnov@gmail.com.

**Артемяева Марина Михайловна** – канд. биол. наук, научный сотрудник, кафедра физиологии человека и животных, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия, e-mail: marinka.artemieva@gmail.com.

**Медведева Наталия Александровна** – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, кафедра физиологии человека и животных, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия, e-mail: namedved@gmail.com.

### Authors information

**Pankova Nadezhda V.** – PHD, researcher, Institute of Biomedical Academy of Sciences, Moscow, Russia, e-mail: nadezhda.pankova.nnov@gmail.com.

**Artemieva Marina M.** – PHD, researcher, Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Department of Human and Animal Physiology, Moscow, Russia, e-mail: marinka.artemieva@gmail.com.

**Medvedev Natalia A.** – PHD, professor, leading researcher, Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Department of Human and Animal Physiology, Moscow, Russia, e-mail: namedved@gmail.com.

Журнал «Регионарное кровообращение и микроциркуляция» входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук по научным специальностям и соответствующим им отраслям науки:

с 28.12.2018 г.

- 14.01.04 – Внутренние болезни (медицинские науки);
- 14.01.05 – Кардиология (медицинские науки);
- 14.01.11 – Нервные болезни (медицинские науки);
- 14.01.13 – Лучевая диагностика, лучевая терапия (медицинские науки);
- 14.01.17 – Хирургия (медицинские науки);
- 14.01.26 – Сердечно-сосудистая хирургия (медицинские науки).

Дополнительно к вышеприведенному списку с 15.10.2019 г.

- 03.03.01 – Физиология (биологические науки);
- 03.03.01 – Физиология (медицинские науки);
- 14.01.05 – Кардиология (биологические науки);
- 14.03.01 – Анатомия человека (медицинские науки);
- 14.03.03 – Патологическая физиология (медицинские науки);
- 14.03.03 – Патологическая физиология (биологические науки).

При направлении статьи в редакцию рекомендуется руководствоваться следующими правилами, составленными с учетом «Единых требований к рукописям, предоставляемым в биомедицинские журналы» (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals), разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов (International Committee of Medical Journal Editors).

**1. Рукопись.** Направляется в редакцию в электронном варианте через online-форму. Загружаемый в систему файл со статьей должен быть представлен в формате Microsoft Word (иметь расширение \*.rtf, так как в нем исключается конфликт между различными версиями программы MS Word).

**2. Объем** полного текста рукописи должен составлять примерно 0,5 авторского листа (20 000 знаков).

**3. Формат текста рукописи.** Текст должен быть напечатан шрифтом Times New Roman, иметь размер 12 pt и межстрочный интервал 1,0 pt. Отступы с каждой стороны страницы – 2 см. Выделения в тексте можно проводить ТОЛЬКО курсивом или полужирным начертанием букв, но НЕ подчеркиванием. Из текста необходимо удалить все повторяющиеся пробелы и лишние разрывы строк (в автоматическом режиме через сервис MS Word «Найти и заменить»).

**4. Файл с текстом статьи,** загружаемый в форму для подачи рукописей, должен содержать всю информацию для публикации (в том числе рисунки и таблицы). При регистрации на сайте журнала всем авторам необходимо указать ORCID!

Структура рукописи должна соответствовать следующему шаблону:

#### Русскоязычная аннотация

• *Авторы статьи.* При написании авторов статьи фамилию следует указывать после инициалов имени и отчества (П.С. Иванов, С.И. Петров, И.П. Сидоров).

• *Название статьи.*

• *Название учреждения.* Необходимо привести официальное ПОЛНОЕ название учреждения (без сокращений). Если в написании рукописи принимали участие авторы из разных учреждений, необходимо соотнести названия учреждений и ФИО авторов путем добавления цифровых индексов в верхнем регистре перед названиями учреждений и фамилиями соответствующих авторов.

• *Резюме статьи* должно быть (если работа оригинальная) структурированным: введение, цель, материалы и методы, результаты, заключение. Резюме должно полностью соответствовать содержанию работы. Объем текста резюме должен быть в пределах 150–200 слов.

Аббревиатуры и сокращения в аннотации необходимо раскрыть.

В аннотации не должно быть общих слов. Рекомендуем обратиться к руководствам по написанию аннотаций, например: <http://authorservices.taylorandfrancis.com/abstracts-and-titles/> (анг.) или: <http://www.scieditor.ru/jour/article/view/19> (рус.)

• *Ключевые слова.* Необходимо указать ключевые слова – от 4 до 10, способствующие индексированию статьи в поисковых системах. Ключевые слова должны попарно соответствовать на русском и английском языках.

#### Англоязычная аннотация

• *Author names.* ФИО необходимо писать в соответствие с заграничным паспортом или так же, как в ранее опубликованных в зарубежных журналах статьях, корректный формат: Evgeniy A. Ivanov, Yuriy V. Petrov, Anatoliy Yu. Sidorov. Авторам, публикующимся впервые и не имеющим заграничного паспорта, следует воспользоваться стандартом транслитерации BGN/PCGN.

• *Article title.* Англоязычное название должно быть грамотно с точки зрения английского языка, при этом по смыслу полностью соответствовать русскоязычному названию.

• *Affiliation.* Необходимо указывать ОФИЦИАЛЬНОЕ АНГЛОЯЗЫЧНОЕ НАЗВАНИЕ УЧРЕЖДЕНИЯ. В англоязычной аффилиации не рекомендуется писать приставки, определяющие статус организации, например: «Федеральное государственное бюджетное научное учреждение» («Federal State Budgetary Institution of Science»), «Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования», или аббревиатуру этой части названия («FGBNU», «FGBOU VPO»).

Наиболее полный список названий российских учреждений и их официальной англоязычной версии можно найти на сайте РУНЭБ: eLibrary.ru.

• *Abstract*. Англоязычная версия резюме статьи должна по смыслу и структуре полностью соответствовать русскоязычной и быть грамотной с точки зрения английского языка.

• *Keywords*. Необходимо указать ключевые слова – от 4 до 10 (должны соответствовать русскоязычной версии). Для выбора ключевых слов на английском языке следует использовать тезаурус Национальной медицинской библиотеки США – Medical Subject Headings (MeSH).

**Основной текст статьи** (на русском и/или английском языках) должен быть структурированным по разделам. Структура полного текста рукописи, посвященной описанию результатов оригинальных исследований, должна соответствовать формату IMRAD (Introduction, Methods, Results and Discussion). Рекомендуется соблюдать следующую структуру: введение, цель, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение.

• *Таблицы* (должны быть выполнены в программе MS Word) следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок и четко обозначенные графы, удобные и понятные для чтения. Данные таблицы должны соответствовать цифрам в тексте, однако не должны дублировать представленную в нем информацию. Ссылки на таблицы в тексте обязательны. Названия таблиц необходимо перевести на английский язык.

• *Рисунки* (графики, диаграммы, схемы, чертежи и другие иллюстрации, рисованные средствами MS Office) должны быть помещены в текст и сопровождаться нумерованной подрисунковой подписью, которую необходимо перевести на английский язык. Кроме того, каждый рисунок следует дополнительно загрузить на сайт (в специальной форме для подачи статьи) отдельным файлом того программного обеспечения, в котором рисунок был выполнен (\*.rtf, \*.xls, и т.п.). Ссылки на рисунки в тексте обязательны.

• *Фотографии* и другие нерисованные иллюстрации должны быть помещены в текст и сопровождаться нумерованной подрисунковой подписью, которую необходимо перевести на английский язык. Кроме того, каждую фотографию следует дополнительно загрузить на сайт (в специальную форму для подачи статьи) отдельным файлом в формате \*.tif (\*.doc и \*.docx – только в том случае, если на изображении нанесены дополнительные пометки). Разрешение изображения должно быть  $\geq 300$  dpi.

Файлам изображений необходимо присвоить название, соответствующее номеру рисунка в тексте. В описании файла следует отдельно привести подрисунковую подпись, которая должна соответствовать названию изображения, помещаемого в текст (пример: Рис. 1. Сеченов Иван Михайлович).

#### **Дополнительная информация (на русском и английском языках)**

• Благодарности на русском языке (в этом разделе должны быть указаны люди, которые помогли в работе над статьей, но не являются авторами, а также информация о финансировании как научной работы, так и процесса публикации статьи – фонд, коммерческая или государственная организация, частное лицо и др.). Указывать размер финансирования не требуется.

• Благодарности на английском языке (Acknowledgements).

• Информация о конфликте интересов (перевод этой информации также должен быть сделан). Авторы должны раскрыть потенциальные и явные конфликты интересов, связанные с рукописью. Конфликтом интересов может считаться любая ситуация (финансовые отношения, служба или работа в учреждениях, имеющих финансовый или политический интерес к публикуемым материалам, должностные обязанности и др.), способная повлиять на автора рукописи и привести к сокрытию, искажению данных или изменить их трактовку. Наличие конфликта интересов у одного или нескольких авторов не является поводом для отказа в публикации статьи. Выявленное редакцией сокрытие потенциальных и явных конфликтов интересов со стороны авторов может стать причиной отказа в рассмотрении и публикации рукописи.

#### **Список литературы**

Оформление списка литературы осуществляется в соответствии с требованиями «Ванкуверского стиля» с указанием в конце источника индекса DOI (digital object identifier, уникальный цифровой идентификатор статьи в системе CrossRef). Поиск DOI на сайте <http://search.crossref.org>. Для получения DOI нужно ввести в поисковую строку название статьи на английском языке.

#### *Правила оформления списка литературы*

Нумерация в списке литературы осуществляется по мере цитирования, а не в алфавитном порядке. В тексте статьи библиографические ссылки даются цифрами в квадратных скобках: [1, 2, 3, 4, 5].

**ВНИМАНИЕ!**

Не цитируются:

- тезисы, если они не обнаруживаются поисковыми системами;
- учебники, учебные пособия;
- статистические сборники (указываются в постраничных сносках);
- диссертации;
- авторефераты диссертаций.

Источниками в списке литературы могут быть печатные (опубликованные, изданные полиграфическим способом) и электронные издания (книги, имеющие ISBN, или статьи из периодических журналов, имеющие ISSN).

Все имена авторов русскоязычных источников дополнительно необходимо указать на транслите в системе «BSI». Название русскоязычных журналов на английском языке должно быть взято у издателя (как правило, на сайте журнала есть английская версия). Названия иностранных журналов и книги следует ставить в оригинале.

При транслитерации следует использовать стандарт BGN/PCGN (United States Board on Geographic Names/ Permanent Committee on Geographical Names for British Official Use), рекомендованный международным издательством Oxford University Press как «British Standard». Для транслитерации текста в соответствии со стандартом BGN можно воспользоваться ссылкой <http://www.translit.ru>. Автор несет полную ответственность за точность и достоверность данных, приведенных в рукописи статьи, присылаемой в редакцию журнала.

*Примеры оформления ссылок:*

Статья в журнале на английском языке:

Kim J.Y., Lim B.J., Sohn H.J., Shin D., Oh S.H. Increased expression of cathelicidin by direct activation of protease activated receptor 2: possible implications on the pathogenesis of rosacea. *Yonsei Med J.* 2014;55(6):1648–1655. Doi:10.3349/ymj.2014.55.6.1648.

Статья в журнале на русском языке:

Короткевич А.А., Коков А.Н. Гибридные технологии лучевой диагностики ишемической болезни сердца: современные возможности и перспективы // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2015. – № 1. – С. 5–9. [Korotkevich A.A., Kokov A.N. Hybrid technology of beam diagnostics in the diagnosis of coronary heart disease: current opportunities and prospects. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2015;(1):5–9. (In Russ.)]. Doi: 10.17802/2306-1278-2015-1-5-9.

**ВНИМАНИЕ!** В списке литературы следует приводить всех авторов публикации!

#### **Сведения об авторах**

Необходимо указать полные сведения о каждом авторе на русском и английском языке (ФИО, ученая степень, ученое звание, должность, место работы, e-mail).

**5. Соответствие нормам этики.** Для публикации результатов оригинальной работы необходимо указать, что все пациенты и добровольцы, участвовавшие в научном и клиническом исследовании, дали на это письменное добровольное информированное согласие, которое должны хранить автор(-ы) статьи, а исследование выполнено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (в ред. 2013 г.). В случае проведения исследований с участием животных – соответствовал ли протокол исследования этическим принципам и нормам проведения биомедицинских исследований с участием животных. В обоих случаях необходимо указать, был ли протокол исследования одобрен этическим комитетом (с приведением названия соответствующей организации, ее расположения, номера протокола и даты заседания комитета).

**6. Сопроводительные документы.** При подаче рукописи в редакцию журнала необходимо дополнительно загрузить файлы, содержащие сканированные изображения заполненных и заверенных сопроводительных документов (в формате \*.pdf).

К сопроводительным документам относятся:

**1) письмо-направление от учреждения** (на официальном бланке). Письмо предоставляется с места работы автора, заверяется печатью и подписью руководителя организации. Для каждой указанной в рукописи организации необходимо предоставить отдельное сопроводительное письмо. Документ должен содержать сведения, что данный материал не был опубликован в других изданиях и не принят к печати другим издательством/издающей организацией, конфликт интересов отсутствует. В статье отсутствуют сведения, не подлежащие опубликованию.

**2) письмо-согласие**, подписанное каждым автором: «Настоящим подтверждаю(ем) передачу прав на публикацию статьи ФИО авторов «Название статьи» в неограниченном количестве экземпляров в журнале «Регионарное кровообращение и микроциркуляция», включая электронную версию журнала».

**7. Авторские права.** Авторы, публикующие статьи в данном журнале, соглашаются со следующим:

1) авторы сохраняют за собой авторские права на работу и предоставляют журналу право первой публикации работы на условиях лицензии Creative Commons Attribution License, которая позволяет другим распространять данную работу с обязательным сохранением ссылок на авторов оригинальной работы и оригинальную публикацию в этом журнале.

2) авторы сохраняют право заключать отдельные контрактные договоренности, касающиеся не-эксклюзивного распространения версии работы в опубликованном здесь виде, со ссылкой на ее оригинальную публикацию в этом журнале.

3) авторы имеют право размещать их работу в сети Интернет до и во время процесса рассмотрения ее данным журналом, так как это может привести к продуктивному обсуждению и большему количеству ссылок на данную работу (См. The Effect of Open Access).

### **МАТЕРИАЛЫ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ СЛЕДУЕТ ЗАГРУЖАТЬ НА САЙТ ЖУРНАЛА**

Информация по заполнению электронной формы для отправки статьи в журнал подробно описана на сайте <http://www.microcirc.ru>.

---

Тел/факс (812) 338-70-69 • e-mail: [microcirculation@yandex.ru](mailto:microcirculation@yandex.ru)

15371 – индекс в каталоге «Роспечать»  
42410 – индекс в каталоге «Пресса России»

Главный редактор – д-р мед. наук, профессор *Н. Н. Петрищев*  
Зам. главного редактора – д-р мед. наук, профессор *Т. Д. Власов*  
Научный редактор – д-р мед. наук, профессор *С. Н. Тульцева*  
Ответственный секретарь – канд. биол. наук *В. А. Пугач*

Верстка – А. А. Чиркова  
Корректор – В. А. Черникова  
Адрес редакции: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

«Regional blood circulation and microcirculation» is on the list of peer-reviewed scientific journals that publish the main results of dissertations for a Candidate of Sciences degree, for a Doctor of Sciences degree in scientific specialties and related fields of science:

**from December 28<sup>th</sup> 2018:**

- 14.01.04 – Internal medicine (Medical Sciences);
- 14.01.05 – Cardiology (Medical Sciences);
- 14.01.11 – Nervous diseases (Medical Sciences);
- 14.01.13 – Radiology (Medical Sciences);
- 14.01.17 – Surgery (Medical Sciences);
- 14.01.26 – Cardiovascular surgery (Medical Sciences)

**Additional list from November 15<sup>th</sup> 2019:**

- 03.03.01 – Physiology (Biological Sciences),
- 03.03.01 – Physiology (Medical Sciences),
- 14.01.05 – Cardiology (Biological Sciences),
- 14.03.01 – Human anatomy (Medical Sciences),
- 14.03.03 – Pathological physiology (Medical Sciences),
- 14.03.03 – Pathological physiology (Biological Sciences).

Submitting the manuscript, the authors are kindly requested to adhere to the following regulations based on the «Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals», developed by the International Committee of Medical Journal Editors.

**1. Manuscript requirements.** We accept submissions strictly online, via the form available at our website. Please upload your manuscript as a Microsoft Office Word document. The best format is \*.rtf as it excludes conflict between different versions of MS Word program.

**2. Length of the manuscript** should be about 20,000 typographical units.

**3. Text formatting.** Lettering should be in Times New Roman (font size 12 pt with 1.0 line spacing and 2 cm margins from both sides. Kindly refrain from using underlining in your document (italic and bold formatting is acceptable). Repeating blanks and excessive line breaks should be removed from the text in automatic regime through Microsoft word service «find and replace text».

**4. The file with the text of the article,** uploaded to the form for submission of manuscripts, should contain all the information for publication (including figures and tables). When registering on the journal's website, all authors must indicate ORCID!

Please organize your text according to the following template:

- *Authors of the article.* The authors' names should be indicated as follows: first name, patronym initial, family name (Evgeniy A. Ivanov, Yuriy V. Petrov, Anatoliy Yu. Sidorov).

- *Article title.*

- *The name of the institution.* It should be official and complete, without abbreviations. If the authors are from different institutions, it is necessary to link the names of institutions and family names, given names and patronymics by adding superscript numbers before the names of institutions and family names of the corresponding authors.

- *Annotation of an original article* should be structured: introduction, aims of the study, followed by materials and methods and finishing with the results and conclusions. The resume should completely correspond to the article content. Please note that your abstract should be within 150–200 words. Abbreviations in annotation must be explained. Non-specific terms should be avoided. Instructions on writing annotations can be found at <http://authorservices.taylorandfrancis.com/abstracts and titles/>.

- *Keywords.* Provide 4–10 keywords necessary for indexing purposes.

**Full text** must be properly structured. Full text structure should conform to IMRAD (Introduction, Methods, Results and Discussion) format; subdivisions should be indicated. The following structure is recommended: introduction, the objective of the study, materials and methods, results, discussion, conclusions.

- *Tables* must be drawn in MS Word. They should be put in the text, they should have numbered title and user-friendly clearly denoted graphic charts. Please make sure that table data is in line with the numbers in the body of the text but does not duplicate them. Table references must be given in the text.

- *Figures* (graphs, diagrams, schemes and other illustrations prepared by means of MS Office) must be put in the text and have a numbered legend. In addition, each figure should be additionally uploaded to the website (in a special form for submitting the article) as a separate file of the software in which the figure was prepared (\*.rtf, \*.xls, etc.). References to figures in the text are required.

- *Photographs* and other illustrations must be placed in the text and accompanied by a numbered caption. In addition, each photo must be additionally uploaded to the website (in a special form for submitting an article) as a separate file in \*.tif format (\*.doc and \*.docx – only if additional marks are made on the image). Image resolution should be  $\geq 300$  dpi.

An image file must be given a name corresponding to the number of the figure in the text. A separate figure legend corresponding to the title of photograph in the text should be included in file description (example: Fig 1. Hans Selye).

**Additional information**

- *Acknowledgements.* This section indicates individuals who provided help during the research but are not authors as well as information about funding of research and preparation of the paper (fund, commercial or governmental organization, private individual, etc). It is not required to indicate the amount of funding.

- *Conflict of interest.* The authors are required to disclose potential and evident conflicts of interest related to the manuscript. A conflict of interest is any situation (financial relationships, work at institutions interested in published material financially or

politically, job duties, etc) that can influence the author(s) and lead to concealing, falsification of the data or their misinterpretation. Disclosure of the conflict of interest by one or a few authors does not cause rejection to publish the paper. Evidence for concealment of potential and evident conflicts of interest may imply rejection of consideration and publication of the manuscript;

#### Reference list.

Reference list should comply with the requirements of the Vancouver style, with indication of DOI (digital object identifier) at the end of each reference. DOI can be found at <http://search.crossref.org>. To obtain DOI, it is necessary to type article title in English in search box.

#### References

Number the references in square brackets ([1, 2, 3, 4, 5]) in the list in the order in which they appear in the text, not in alphabetical order.

#### ATTENTION!

Not cited:

- abstracts if they are not found by search engines;
- textbooks, teaching aids;
- statistical collectors (indicated in page footnotes);
- dissertations;
- abstracts of dissertations.

Sources in the list of references can be printed (published, published by printing) and electronic publications (books with ISBN, or articles from periodicals having ISSN).

*Example of a reference:* Kim J.Y., Lim B.J., Sohn H.J., Shin D., Oh S.H. Increased expression of cathelicidin by direct activation of protease activated receptor 2: possible implications on the pathogenesis of rosacea. *Yonsei Med J.* 2014;55(6):1648–1655. Doi:10.3349/ymj.2014.55.6.1648.

ATTENTION! All authors of publications should be indicated in the list of references!

Information about authors.

Complete information about each author must be provided (full name, academic degree, academic title, position, place of work, e-mail).

**5. Ethics statement.** In order to publish the results of the original work, it is necessary to indicate that all patients and volunteers who participated in the scientific and clinical study gave written voluntary informed consent to this, which should be kept by the author (s) of the article, and the study was carried out in accordance with the requirements of the World Medical Association Declaration of Helsinki (updated in 2013). In the case of studies involving animals, it is necessary to indicate whether the protocol of the research corresponds to the ethical principles and standards of biomedical research involving animals. In both cases, it is necessary to indicate whether the protocol of the research has been approved by the ethics committee (with the name of the organization, its location, protocol number and date of the meeting of the committee).

**6. Supporting documents.** Manuscript submission requires uploading scanned images of certified supporting documents (in \*.pdf format).

Supporting documents include:

**1) Referral letter** from the author's place of work authenticated by seal and signed by the head of institution and by all coauthors (for each institution indicated in manuscript a separate cover letter is required). The letter must state that the submitted material has not been previously published or accepted by another publisher, that there is no conflict of interest, and article contains no information that is not subject to publishing.

**2) Letter of consent** signed by each author: «Herewith we confirm transfer of publication right, authors' names, article title in unlimited number of copies in journal «Regional blood circulation and microcirculation», including on-line version».

**7. Copyright.** Authors who publish with this journal agree to the following terms:

1) the authors retain their copyrights of the work and grant the journal the right to publish the work in the first place under the terms of the Creative Commons Attribution License, which allows others to distribute this work with the mandatory preservation of references to authors of the original work and the original publication in this journal;

2) the authors retain their rights to conclude separate contractual arrangements for the non-exclusive distribution of the published version of the work with reference to its original publication in this journal;

3) the authors have the right to post their article on the Internet before and during the process of reviewing it by this journal, as this can lead to productive discussion and more references citing the article (see the Effect of open access).

### THE CONTENTS SHOULD BE UPLOADED TO THE JOURNAL WEBSITE

Detailed information on completing an online form for article submission can be found at <http://www.microcirc.ru>.

---

Telephone/Fax (812) 338-70-69 • e-mail: [microcirculation@yandex.ru](mailto:microcirculation@yandex.ru)

15371 – index in the «Rospechat» agency catalog  
42410 – index in the «Russian pressa» agency catalog

Editor-in-chief – *N. N. Petrishchev*

Vice editor – *T. D. Vlasov*

Scientific Editor – *S. N. Tultseva*

Executive Secretary – *V. A. Pugach*

E-mail address for correspondence: [tultseva@yandex.ru](mailto:tultseva@yandex.ru)

Layout designer – *A. A. Chirkova*

Corrector – *V. A. Chernikova*

Editorial board address: 6-8, Lev Tolstoy Str., St. Petersburg, Russian Federation, 197022