



МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Том 20
Выпуск 1
2020

ISSN 1608-4101 (Print)

Научно-практический рецензируемый журнал

<https://journals.eco-vector.com/MAJ>

Учредители:

ФГБНУ «Институт
экспериментальной медицины»;
ООО «Эко-Вектор»

Журнал зарегистрирован
в Министерстве Российской
Федерации по делам печати,
телерадиовещания и средств
массовых коммуникаций.
Свидетельство о регистрации
ПИ № 77-74760 от 29.12.2018

Рекомендован ВАК:

включен в «Перечень ведущих
рецензируемых научных журналов
и изданий, в которых должны быть
опубликованы основные научные
результаты диссертаций на соис-
сание ученой степени доктора
и кандидата наук»

Индексируется:

Science Index (РИНЦ)
Google Scholar
Ulrich's Periodicals Directory

Адрес редакции:

197376, Санкт-Петербург,
ул. Академика Павлова, 12.
Тел. +7(812)234-68-68.
E-mail: medicalacademicjournal@gmail.com.
WEB: <https://journals.eco-vector.com/MAJ>

Архив журнала «Медицинский
академический журнал» размещен
в сети Интернет (www.elibrary.ru),
<https://journals.eco-vector.com/MAJ>)

Индекс издания по каталогу «Роспечать» — 88756

Формат 60 × 90¹/₈. Усл.-печ. л. 13,75.
Тираж 500 экз. Цена свободная.
Оригинал-макет изготовлен
ООО «Эко-Вектор»

Изготовлено ООО «АЛЬГИЗ».
199106, Санкт-Петербург,
Московское шоссе, 25.
Подписано в печать 31.03.2020.
Заказ № 38

Полное или частичное воспроиз-
ведение материалов, содержащихся
в настоящем издании, допускается
только с письменного разреше-
ния редакции, ссылка на журнал
обязательна

© ФГБНУ «Институт
экспериментальной медицины»
© ООО «Эко-Вектор»

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Генрих Александрович Софронов, академик РАН (Санкт-Петербург,
Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Николай Алексеевич Беляков, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
Александр Валентинович Дмитриев, профессор РАН (Санкт-Петербург,
Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Алексей Викторович Соколов, д-р биол. наук (Санкт-Петербург, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Э.К. Айламазян, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
С.Ф. Багненко, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
В.Б. Васильев, профессор (Санкт-Петербург, Россия)
В.Р. Вебер, академик РАН (Великий Новгород, Россия)
Ю.В. Лобзин, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
В.И. Мазуров, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
Н.А. Майстренко, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
А.О. Марьяндышев, член-корреспондент РАН (Архангельск, Россия)
А.С. Симбирцев, член-корреспондент РАН (Санкт-Петербург, Россия)
В.В. Рассохин, д-р мед. наук (Санкт-Петербург, Россия)
А.Г. Софронов, член-корреспондент РАН (Санкт-Петербург, Россия)
А.Н. Суворов, член-корреспондент РАН (Санкт-Петербург, Россия)
А.А. Тотолян, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
Т.Н. Трофимова, профессор (Санкт-Петербург, Россия)
Ю.А. Щербук, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
Ю.К. Янов, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
Янг Йонгхонг, иностранный член РАН (Китай)
М.-П. Кини, PhD по микробиологии (Франция)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

А.Г. Баиндурашвили, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
В.С. Баранов, член-корреспондент РАН (Санкт-Петербург, Россия)
И.П. Дуданов, член-корреспондент РАН (Петрозаводск, Россия)
Е.А. Корнева, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
С.В. Лобзин, профессор (Санкт-Петербург, Россия)
М.М. Одинак, член-корреспондент РАН (Санкт-Петербург, Россия)
А.А. Скоромец, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
П.И. Сидоров, академик РАН (Архангельск, Россия)
Р.М. Тихилов, профессор (Санкт-Петербург, Россия)
П.Д. Шабанов, профессор (Санкт-Петербург, Россия)
А.В. Шабров, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
Е.В. Шляхто, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)
В.Х. Хавинсон, член-корреспондент РАН (Санкт-Петербург, Россия)
Н.А. Яицкий, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)



MEDICAL ACADEMIC JOURNAL

Volume 20
Issue 1
2020

ISSN 1608-4101 (Print)

Scientific and Practical Peer-Reviewed Journal

<https://journals.eco-vector.com/MAJ>

Founder:

FSBSI "Institute of Experimental
Medicine";
LLC "Eco-Vector"

Federal Supervisory Service on
Mass Media, Information
Technologies and Mass
Communication (Roskomnadzor)
PI No. 77-74760 dated 29.12.2018

The Journal is recommended
by the High Attestation Commission
as one of the leading scientific
journals for publications

Indexing:

Russian Science Citation Index
Google Scholar
Ulrich's Periodicals Directory
WorldCat

Editorial Office:

12, Academic Pavlov's street,
Saint Petersburg, 197376, Russia.
Tel. +7(812)234-68-68.
E-mail: [medicalacademicjournal@
gmail.com](mailto:medicalacademicjournal@gmail.com)
WEB: [https://journals.eco-vector.
com/MAJ](https://journals.eco-vector.com/MAJ)

Archive "Medical Academic
Journal" on web-site
www.elibrary.ru, [https://journals.
eco-vector.com/MAJ](https://journals.eco-vector.com/MAJ)

Subscription:

Open Access for all users
on website.
Print version is available via
"Russian Post" service
with index 88756

No part of this publication may be
reproduced or transmitted in any form
or by any mean without permission
from the publisher

© FSBSI "Institute of Experimental
Medicine"
© LLC "Eco-Vector"

EDITOR IN CHIEF

Genrikh A. Sofronov, Full Member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)

DEPUTY EDITOR IN CHIEF

Nikolay A. Belyakov, Full Member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
Aleksandr V. Dmitriev, Professor of the RAS (Saint Petersburg, Russia)

EXECUTIVE SECRETARY

Aleksey V. Sokolov, Doctor of Biological Sciences (Saint Petersburg, Russia)

EDITORIAL BOARD

E.K. Ailamazian, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
S.F. Bagnenko, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
V.B. Vasiliev, professor (Saint Petersburg, Russia)
V.R. Veber, full member of the RAS (Velikiy Novgorod, Russia)
Yu.V. Lobzin, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
V.I. Mazurov, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
N.A. Maistrenko, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
A.O. Maryandyshev, corresponding member of the RAS (Arkhangelsk, Russia)
A.S. Simbirtsev, corresponding member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
Vadim V. Rassokhin, Doctor of Medical Sciences (Saint Petersburg, Russia)
A.G. Sofronov, corresponding member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
A.N. Suvorov, corresponding member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
A.A. Totolyan, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
T.N. Trofimova, professor (Saint Petersburg, Russia)
Yu.A. Scherbuk, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
Yu.K. Yanov, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
Yang Yonghong, foreign member of the RAS (China)
M.-P. Kieny, PhD (France)

EDITORIAL COUNCIL

A.G. Baindurashvili, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
V.S. Baranov, corresponding member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
I.P. Dudanov, corresponding member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
Ye.A. Korneva, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
S.V. Lobzin, professor (Saint Petersburg, Russia)
M.M. Odinak, corresponding member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
A.A. Skoromets, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
P.I. Sidorov, full member of the RAS (Arkhangelsk, Russia)
R.M. Tikhilov, professor (Saint Petersburg, Russia)
P.D. Shabanov, professor (Saint Petersburg, Russia)
A.V. Shabrov, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
Ye.V. Shlyakhto, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
V.H. Khavinson, corresponding member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)
N.A. Yaitsky, full member of the RAS (Saint Petersburg, Russia)

СОДЕРЖАНИЕ

○ ХРОНИКА. ЮБИЛЕИ

Академик Вадим Иванович Мазуров 5

○ АНАЛИТИЧЕСКИЕ ОБЗОРЫ

*С.А. Апрятин, М.Н. Карпенко, З.М. Муружеева, М.В. Большакова,
Д.Н. Магазенкова, В.М. Клименко*

Нейродегенеративные и метаболические нарушения, опосредованные следовыми аминами
и их рецепторами 9

Н.С. Парфенова

Роль эндотелия в атерогенезе: зависимость развития атеросклероза от свойств
эндотелия сосудов 23

А.В. Соколов, И.В. Милюхина, Ю.П. Бельский, Н.В. Бельская, В.Б. Васильев

Потенциальная роль лактоферрина для ранней диагностики и лечения болезни Паркинсона 37

А.В. Кудреватых, И.В. Милюхина

Диагностические возможности постурологических методов при экстрапиримидных заболеваниях ... 45

○ ЛЕКЦИЯ

Н.С. Буненков, Г.Ф. Буненкова, В.В. Колок, О.А. Гриненко, А.С. Немков

SAS Enterprise Guide 6.1 для врачей: корреляционный анализ 51

○ ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Т.В. Авалиани, О.Р. Федотова, С.Г. Цикунов

Влияние мезенхимной стволовой терапии на поведение потомства самок-крыс
с травмой головного мозга 57

Е.В. Некрасова, Е.В. Данько, В.С. Шавва, Э.Б. Дижее, Г.Н. Олейникова, С.В. Орлов

Действие инсулина на экспрессию гена аполиipoproteина А-I в макрофагах человека 65

С.Ф. Вершинина, В.И. Евтушенко

Эффект внутриопухолевого имплантирования гексаферрита бария, магнетита, гематита,
оксида алюминия и кремнезема на динамику роста опухоли Эрлиха и выживаемость
мышей-опухоленосителей 75

○ НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

А.А. Доценко, М.К. Серебрякова, И.В. Кудрявцев, А.Н. Сухачев, А.В. Полевщиков

Сравнение цитометрических методов оценки жизнеспособности нативных
и криоконсервированных сперматозоидов человека 83

○ КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ПРАКТИКА

С.В. Лобзин, Г.И. Шварцман, Е.М. Первова, И.В. Чистова, Е.А. Юркина

Влияние уровня витамина D₃ (холекальциферола) на развитие когнитивных
и психоэмоциональных расстройств у пациентов с цереброваскулярной болезнью 93

○ ХРОНИКА

К.А. Шемеровский

Фундаментальные и прикладные аспекты кардиологии и гастроэнтерологии 101

○ ИНФОРМАЦИЯ

Правила для авторов 104

CONTENTS

○ CHRONICLE. ANNIVERSARIES

Academician Vadim Ivanovich Mazurov 5

○ ANALYTICAL REVIEWS

*S.A. Apryatin, M.N. Karpenko, Z.M. Muruzheva, M.V. Bolshakova,
D.N. Magazenkova, V.M. Klimenko*

Neurodegenerative and metabolic disorders, mediated by the trace amines and their receptors 9

N.S. Parfenova

The role of endothelium in atherogenesis: dependence of atherosclerosis development
on the properties of vessel endothelium 23

A.V. Sokolov, I.V. Miliukhina, Y.P. Belsky, N.V. Belska, V.B. Vasilyev

Potential role of lactoferrin in early diagnostics and treatment of Parkinson disease 37

A.V. Kudrevatykh, I.V. Miliukhina

Diagnostic capabilities of posturological methods in extrapyramidal disorders 45

○ LECTURE

N.S. Bunenkov, G.F. Bunenkova, V.V. Komok, A.A. Grinenko, A.S. Nemkov

SAS Enterprise Guide 6.1 for physicians: correlation analysis 51

○ ORIGINAL RESEARCHES

T.V. Avaliani, O.R. Fedotova, S.G. Tsikunov

Influence of mesenchymal stem therapy on the behavior of the process of sam-rats with brain injury 57

E.V. Nekrasova, E.V. Danko, V.S. Shavva, E.B. Dizhe, G.N. Oleinikova, S.V. Orlov

Effect of the insulin on the apolipoprotein A-I gene expression
in human macrophages 65

S.F. Vershinina, V.I. Evtushenko

Effect of intratumoral implantation of barium hexaferrite, magnetite, hematite, aluminium oxide
and silica on the dynamics of Erlich tumor growth and survival value of tumor-carrying mice 75

○ NEW TECHNOLOGIES

A.A. Dotsenko, M.K. Serebriakova, I.V. Kudryavtsev, A.N. Sukhachev, A.V. Polevshchikov

Comparison of flow cytometry-based apoptosis detection methods for measuring of human native
and cryopreserved spermatozooids viability 83

○ CLINICAL RESEARCH AND PRACTICE

S.V. Lobzin, G.I. Shvartsman, E.M. Pervova, I.V. Chistova, E.A. Yurkina

Effect of vitamin D₃ (cholecalciferol) levels on the development of cognitive and psychoemotional disorders
in patients with cerebrovascular disease 93

○ CHRONICLE

K.A. Shemerovskii

Fundamental and applied aspects of cardiology and gastroenterology 101

○ INFORMATION

Rules for authors 104



АКАДЕМИК ВАДИМ ИВАНОВИЧ МАЗУРОВ

Впервые я увидел В.И. Мазурова в 1970 или в 1971 г., когда по какому-то делу зашел в клинику факультетской терапии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. В коридоре клиники мне повстречался красивый молодой человек, и я не мог не обратиться на него внимания. Есть такие люди, уже с пеленок отмеченные печатью избранности. «Кто это?» — спросил я сотрудника клиники. «Вадим Мазуров, наш новый адъюнкт, толковый парень!» Вот, собственно, и все.

Затем в течение ряда лет я встречал его лишь мельком, но слышал, что вслед за своим учителем профессором Дорощеем Яковлевичем Шурыгиным он перешел на кафедру терапии № 1 для усовершенствования, успешно защитил докторскую диссертацию. В 1986 г. и он и я получили кафедры в академии: он — кафедру и клинику факультетской терапии, я — токсикологии и медицинской защиты. В зале заседаний ученого совета академии наши места оказались «визави» за одним столом, и вот с тех пор — а прошло уже почти 35 лет — мы друзья.

Мне не хотелось бы посвятить столь краткий очерк творческому портрету Вадима Ивановича. И как ученый, и как клиницист он занят очень сложными проблемами, поэтому анализ его творчества невозможен без соответствующей подготовки. Я расскажу о некоторых коллизиях, случавшихся в жизни Вадима Ивановича, порой важных и забавных одновременно.

Начну с того, как в течение нескольких лет мы были большими поклонниками манной

каши. Здесь нужно сделать небольшое отступление, чтобы понять, о чем, собственно, идет речь.

В 1991 г. группа специалистов Военно-медицинской академии была командирована на Дальний Восток для консультирования и разработки плана чрезвычайных мероприятий на случай стихийных бедствий. В группу входили токсикологи, радиологи, гигиенисты, военноморские хирурги и терапевты, организаторы медицинской службы.

Рейс из Ленинграда был каким-то неудобным: самолет делал посадки в Свердловске, Омске, Чите, Хабаровске, прежде чем наконец долетел до Владивостока. Во время остановок пассажиров просили покинуть на время заправки салон. Так что когда в начале пятого часа утра мы в очередной раз покинули самолет и перебрались в аэровокзал аэропорта Читы, большого энтузиазма от поездки никто не испытывал. Небольшой зал ожидания, где нас разместили, оказался на удивление чистым, светлым и теплым. Вверху на антресолях располагалось кафе, и мы всей командой пошли туда. В кафе функционировала система шведского стола, а на прилавок были выставлены тарелки с манной кашей. И была она такой аппетитной, дымящейся легким парком, с блестящими растаявшего на поверхности сливочного масла, что абсолютно все ученые, профессора, полковники и генералы медицинской службы не смогли устоять перед этой кашей. Долетели до Владивостока, выполнили командировочное задание, вернулись в Ленинград.

Потом нужно было подготовить дополнительный отчет по командировке. Решили собраться у меня на кафедре после очередного заседания ученого совета академии. И я решил угостить уважаемых профессоров манной кашей в память нашей дальневосточной эпопеи. И совершенно неожиданно такие встречи на кафедре токсикологии более чем в течение 5 лет стали нужными, ожидаемыми и полезными. Так родилось общество любителей манной каши, «кашеедов». Непременными его участниками были выдающийся отечественный хирург член-корреспондент РАМН, профессор Игорь Александрович Ерюхин, профессор Вадим Иванович Мазуров, Анатолий Николаевич Родионов, Марк Михайлович Дьяконов, Юрий Владимирович Цвелёв, Геннадий Константинович Максимов, Петр Николаевич Зубарев.

Приглашали и других коллег, когда предполагали обсудить какую-либо соответствующую проблему. Иногда забегал «на огонёк» начальник академии Юрий Леонидович Шевченко.

Почему я счел нужным об этом написать? Дело в том, что наши встречи имели огромное значение для каждого из нас. В самом деле — начало 90-х годов прошлого столетия, развал Советского Союза, абсолютно неясно, куда идет новая Россия, экономический кризис, невыплата зарплат, унижение армии... А мы ведь были старшими и высшими офицерами, учителями для обучающихся в академии, врачами для больных... И мы нуждались в общении, как, может быть, никогда прежде. Вот в этом и заключался феномен «манной каши». Вместе нам было хорошо. Мы обсуждали текущие академические дела, строили планы на будущее. Каждый из нас был важен для другого, каждый был душой компании. В том числе, а порой прежде всего, профессор Вадим Иванович Мазуров.

Другой эпизод, о котором я расскажу, касается прочтения актовой речи профессором В.И. Мазуровым в честь 196-й годовщины со дня основания Военно-медицинской академии в декабре 1994 г. Он посвятил ее лимфопролиферативным заболеваниям. И по содержанию, и по форме она была просто блистательной. После окончания выступления Вадима Ивановича случился небольшой казус: председательствующий на заседании начальник академии профессор генерал-лейтенант (в ту пору) Ю.Л. Шевченко не сказал, вопреки обыкновению, благодарственных слов в адрес автора актовой речи и не вручил букета цветов. То ли уже слишком хороша была актовая речь, то ли, что называется, не с той ноги встал утром Юрий Леонидович, но это случилось. В резуль-

тате обиделись мы оба — и Вадим Иванович, и я. Кстати, я больше. Словом, мы решили не оставаться на праздничный банкет, который должен был быть там же в клубе академии, а пойти на кафедру факультетской терапии поближе к родному для Вадима Ивановича коллективу. И правильно сделали. Как оказалось, сотрудники кафедры накрыли столы в ожидании своего кумира. И я увидел, как почитали и любили Вадима Ивановича на кафедре.

Однако самое удивительное случилось спустя примерно час. Прибежал дежурный врач в разгар праздника с известием, что в клинику пришел начальник академии. Вот ведь тонкий человек — академик, профессор, генерал-полковник, в будущем министр здравоохранения России Юрий Леонидович Шевченко! Заметил, что Вадим обиделся и пришел поздравить его в присутствии кафедрального коллектива. Здорово! Молодец! Вадим Иванович был счастлив, а вместе с ним и мы.

О том, как профессор Вадим Иванович Мазуров увольнялся из Вооруженных сил и уходил из Военно-медицинской академии.

В феврале 1995 г. полковнику медицинской службы В.И. Мазурову предстояло отметить 50-летний юбилей со дня рождения. В январе он получил предписание отдела кадров о том, что если он намерен продолжить службу в Вооруженных силах, то нужно обратиться с рапортом и т.д. К тому времени у Вадима Ивановича уже было предложение ректора Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования профессора Николая Алексеевича Белякова возглавить кафедру терапии имени профессора Э.Э. Эйхвальда.

После серьезных размышлений Вадим Иванович принял это приглашение, и с 1995 г. трудится в Санкт-Петербургской МАПО, позже, после слияния МАПО и Санкт-Петербургской государственной медицинской академии имени И.И. Мечникова, — в Северо-Западном государственном медицинском университете имени И.И. Мечникова. Справедливости ради скажем, что академик Н.А. Беляков распахнул Вадиму Ивановичу двери в огромную и прекрасную творческую жизнь.

Не могу не сказать о том, как Вадим Иванович избирался в Российскую академию медицинских наук.

В начале 1998 г. на заседании президиума Северо-Западного отделения РАМН обсуждался вопрос о том, по каким специальностям следует возбуждать ходатайство перед президиумом РАМН о выделении вакансий на предстоящих в 1999 г. выборах в РАМН. Среди других прозвучала специальность «терапия»,

а возможным кандидатом назвали профессора В.И. Мазурова.

Постановили поручить Вадиму Ивановичу подготовить научный доклад, выступить с ним на заседании президиума Северо-Западного отделения РАМН и решить вопрос с вакансией. Так и поступили. Как всегда, доклад Вадиму Ивановичу удался. Задавали много вопросов, обсуждали, а потом председатель отделения академик РАМН Борис Иванович Ткаченко сообщил о намерении президиума просить вакансию члена-корреспондента РАМН по специальности «терапия», имея в виду кандидатом для выборов Вадима Ивановича Мазурова. Что ответил Вадим Иванович? Он сказал, что очень благодарен президиуму отделения за возможную вакансию по терапии и что это правильно. Тем более в Санкт-Петербурге есть достойнейший кандидат — профессор Глеб Борисович Федосеев. Если предоставят вакансию, то он не будет выдвигать свою кандидатуру, поскольку у Глеба Борисовича все приоритеты. В противном случае он не сможет смотреть в глаза Глебу Борисовичу. В итоге вакансию по терапии мы получили и в 1999 г. избрали Г.Б. Федосеева членом-корреспондентом РАМН.

Про поступок Вадима Ивановича. Благородно? Да! Красиво? Да! Поучительно? Еще как! Добавлю, что на следующих выборах в 2000 г. мы избрали профессора В.И. Мазурова членом-корреспондентом РАМН по специальности «ревматология».

И все же невозможно не сказать об академике В.И. Мазурове как об ученом и клиницисте. К счастью, так случается, когда в равной превосходной степени человек является выдающимся ученым и врачом. Одним из критериев такой высокой оценки может служить то, что с годами работы профессора Мазурова становятся все более глубокими. Мне встречались такие люди. Например, академик Жорес Иванович Алферов, медики Леонид Андреевич Тиунов, Донат Семенович Саркисов. И слушая научные доклады Вадима Ивановича, я восхищаюсь его знаниями, постоянному стремлению к совершенству.

Один из величайших физиков XX в., наш соотечественник Нобелевский лауреат, академик Виталий Владимирович Гинзбург, любил повторять, что ученый должен жить долго для того, чтобы насладиться результатами своих трудов, увидеть, как развивается то направление в науке, которому посвятил свою жизнь. Словом, получить некий интеллектуальный кайф. Мысль прекрасная! И я желаю Вадиму Ивановичу претворить ее в своей жизни. И пусть в жизни этого замечательного человека будет еще много радостных событий, пусть в своем творчестве он еще достигнет того успеха, который даст ему право, подобно Пушкину, перечитавшему своего Бориса Годунова и воскликнувшему: «Ай да Пушкин, сукин сын!» — тоже завопить радостно: «Ай да Вадик!» — и далее по классику.

*Г.А. Софронов
Январь 2020 г.*

Уважаемые коллеги!
Приглашаем вас к участию в работе
второй научной конференции с международным участием
«МИКРОБИОТА ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ»
17–18 сентября 2020 года

Организаторы конференции

Комитет по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Институт экспериментальной медицины»
Санкт-Петербургский государственный университет
Санкт-Петербургский государственный медицинский педиатрический университет
Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова
Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова
Шандунская сельскохозяйственная академия, Цинань, КНР
Российско-Китайский международный научно-исследовательский центр микробиологии

Место проведения:

Санкт-Петербург, ФГБНУ «ИЭМ», Каменноостровский проспект, 71 (ст. м. «Петроградская»)

Открытие конференции 17 сентября 2020 года в 10:00

Конференция посвящена актуальным вопросам состояния микробиоты в норме и патологии, антибиотикорезистентности микроорганизмов, иммунологическим механизмам воздействия микробиоты на организм в условиях нормы и патологии, вопросам использования пробиотиков и аутопробиотиков для коррекции нарушений микробиоты в медицине и сельском хозяйстве. В качестве докладчиков к работе конференции привлечены ведущие российские и зарубежные ученые.

Основные темы конференции:

- микробиота человека в норме;
- микробиота сельскохозяйственных животных в норме;
- вопросы диагностики дисбиотических состояний;
- нарушения в составе микробиоты и заболевания пищеварительной системы;
- дисбиоз и метаболический синдром;
- дисбиоз и ожирение;
- нарушения микробиоты при аллергических заболеваниях;
- нарушения микробиоты и рак;
- нарушения микробиоты и неврологические заболевания;
- нарушения микробиоты и аутизм;
- нарушения микробиоты и продолжительность жизни;
- вопросы коррекции нарушения микробиоты;
- фекальная трансплантация;
- пробиотики, пребиотики и метабиотики;
- аутопробиотики;
- бактериоцины и их терапевтические возможности;
- вопросы формирования антибиотикорезистентных штаммов и контроль за их распространением.

Контакты:

<https://iemspb.ru/>
E-mail: iem@iemspb.ru
Телефоны: 8(812)234-05-42, 8(812)234-93-19

Контактное лицо:

Н.В. Барышникова, канд. мед. наук, доцент
E-mail: baryshnikova_nv@mail.ru

Организационный комитет

УДК 612.8.04+577.112.343+57.024
<https://doi.org/10.17816/MAJ25746>

НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ, ОПОСРЕДОВАННЫЕ СЛЕДОВЫМИ АМИНАМИ И ИХ РЕЦЕПТОРАМИ

С.А. Апрытин, М.Н. Карпенко, З.М. Муружева, М.В. Большакова, Д.Н. Магазенкова, В.М. Клименко

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Для цитирования: Апрытин С.А., Карпенко М.Н., Муружева З.М., и др. Нейродегенеративные и метаболические нарушения, опосредованные следовыми аминами и их рецепторами // Медицинский академический журнал. – 2020. – Т. 20. – № 1. – С. 9–22. <https://doi.org/10.17816/MAJ25746>

Поступила: 20.09.2019

Одобрена: 24.02.2020

Принята: 02.03.2020

Цель исследования — анализ современной научной литературы в области исследования нейродегенеративных и метаболических расстройств, опосредованных дофаминовой системой, следовыми аминами и их рецепторами. Рассмотрены современные представления об «обратной связи» нейродегенеративных и метаболических заболеваний, в которых задействованы следовые амины и их рецепторы. Показана важная роль следовых аминов и их рецепторов в регуляции работы дофаминовой системы, связи с метаболическими и нейродегенеративными заболеваниями, включая болезнь Паркинсона, синдром дефицита внимания и гиперактивности, шизофрению, ожирение, метаболический синдром и другие патологические состояния. Следовые амины и их рецепторы непосредственно влияют на дофаминовые системы, являясь регуляторами развития различных метаболических и нейродегенеративных процессов, участвуя в энергетическом обмене, нейрогенезе и других жизненно важных процессах.

Ключевые слова: следовые амины; нейродегенеративные и метаболические заболевания; рецепторы следовых аминов.

NEURODEGENERATIVE AND METABOLIC DISORDERS, MEDIATED BY THE TRACE AMINES AND THEIR RECEPTORS

S.A. Apryatin, M.N. Karpenko, Z.M. Muruzheva, M.V. Bolshakova, D.N. Magazenkova, V.M. Klimenko

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: Apryatin SA, Karpenko MN, Muruzheva ZM, et al. Neurodegenerative and metabolic disorders, mediated by the trace amines and their receptors. *Medical Academic Journal*. 2020;20(1):9-22. <https://doi.org/10.17816/MAJ25746>

Received: September 20, 2019

Revised: February 24, 2020

Accepted: March 3, 2020

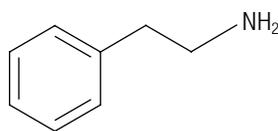
The aim of the study is the modern scientific literature estimation in the field of the investigation of neurodegenerative and metabolic disorders mediated by the trace amines and their receptors. The analysis of modern ideas about the “feedback” of neurodegenerative and metabolic diseases in which the trace amines and their receptors are involved was carried out. The important role of trace amines and their receptors in the regulation of the dopamine system, in connection with metabolic and neurodegenerative diseases, including Parkinson’s disease, ADHD, schizophrenia, obesity, metabolic syndrome and other pathological conditions, has been shown. Trace amines and their receptors have a direct effect on dopamine systems, being regulators of various metabolic and neurodegenerative processes, participating in energy metabolism, neurogenesis, and other vital processes.

Keywords: trace amines; neurodegenerative and metabolic diseases; trace amines receptors.

Список сокращений

БП — болезнь Паркинсона; мРНК — матричная рибонуклеиновая кислота; НРН — негативная реакция несоответствия; ОВР — ограничение внутриутробного развития; ОП — ограничение питания; СА — следовые амины; ФЭА — β-фенилэтиламин; цАМФ — циклический аденозинмонофосфат; АКТ/GSK3 — протеинкиназа В/киназа 3 гликогенсинтазы; β-arrestin 2 — β-аррестин 2-го типа; DAT (Sc1ба3) — транспортер дофамина; DAT-KO — нокаут гена *DAT*; GLP-1 — глюкагоноподобный пептид-1; GPCR — рецептор, связанный с G-белком; Gs, Golf, Gi, Gq/11, G12/13 — типы G-белков; MAO — моноамин-оксидаза; mPFC — медиальная префронтальная кора; NMDA — ионотропный рецептор глутамата; NAc — прилежащее ядро; α-NETA — селективный ингибитор холинацетилтрансферазы; OFC — орбитофронтальная кора; PYY — пептид YY; TAAR — рецептор, ассоциированный со следовыми аминами; TAAR1-KO — нокаут гена *TAAR1*; VTA-нейроны — нейроны вентральной области покрышки среднего мозга; VTA-NAc — вентральная область покрышки — прилежащее ядро.

Следовые амины

 β -фенилэтиламин

п-тирамин



октопамин

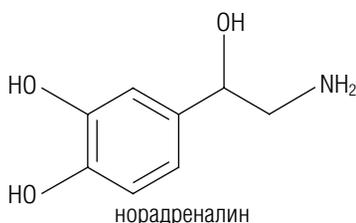


триптамин

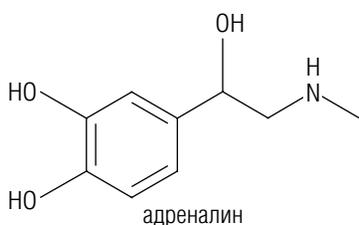
Моноаминовые нейромедиаторы



дофамин



норадреналин



адреналин



серотонин

Строение следовых аминов и моноаминовых нейромедиаторов

The structure of trace amines and monoamine neurotransmitters

Введение

Следовые амины (от англ. trace amines), включая п-тирамин, β -фенилэтиламин, триптамин и п-октопамин (см. рисунок), представляют собой группу метаболитов эндогенных аминов, которые образуются в различных органах и тканях в результате декарбоксилирования всех известных аминокислот как при термической или ферментативной обработке продуктов питания (в том числе с участием микрофлоры желудочно-кишечного тракта), так и без такой обработки (мясо, рыба, какао, шоколад, сыр и др.), а также являются метаболитами нейромедиаторов (дофамина, серотонина, норадреналина и др.) [1–4, 10].

Термин «следовые амины» (СА) был введен в начале 1970-х годов Аланом Бултоном [5] и использовался для того, чтобы подчеркнуть их очень низкую (менее 100 нг/г ткани) концентрацию в сравнении с концентрацией классических нейромедиаторов [6].

Следовые амины содержатся во многих свежих, термически или ферментативно обработанных продуктах в концентрациях в диапазоне миллиграмм на килограмм [2, 7]. Некоторые биогенные амины, например тирамин, присутствуют в наномолярных концентрациях в плазме крови и в центральной нервной системе (в основном в нейронах) здоровых людей [8].

Следовые амины распадаются под воздействием ферментов моноаминоксидаз А и В (MAO-A и MAO-B). При этом вследствие использования ингибиторов MAO часто развивается так называемый сырный синдром, наиболее часто выражающийся в гипертензии, которая приводит к головным болям, возникающим и после избыточного потребления продуктов питания, содержащих СА (сыр, красное вино, шоколад и др.) [9, 10].

В 2001 г. был открыт первый рецептор СА — TAAR1 [11, 12], после чего этот тип соединений стали рассматривать как отдельную группу эндогенных моноаминов, обладающих отличным от классических биогенных моноаминов-нейромедиаторов независимым путем рецепции и принимающих непосредственное участие в патогенезе различных заболеваний [13–15].

Известно более 100 рецепторов (продуктов различных генов) СА. Их количество у разных видов животных варьирует от 0 (у некоторых видов дельфинов) до 112 (у рыбы *Danio rerio*). При этом намного больше выявлено изоформ и сплайсинговых вариантов. У человека, крысы и мыши найдено шесть общих функционально активных рецепторов — TAAR1,

Основные биологические характеристики рецепторов семейства TAAR
The main biological characteristics of the TAAR family

Субтип TAAR	Лиганды	Экспрессия гена в органах, тканях и типах клеток	Передача сигнала	Предполагаемая функция
TAAR1	2-Фенилэтиламин, триптамин, п-тирамин, дофамин, 5HT, 3-метокси-тирамин, п-октопамин	Головой мозг, спинной мозг, желудок, кишечник, β-клетки поджелудочной железы, лейкоциты	Gs, β-аррестин 2	Модуляция серотонинергической, дофаминергической и глутаматергической передачи сигнала. Формирование настроения и эмоционального фона. Регуляция уровня глюкозы и веса тела
TAAR2	Неизвестны	Обонятельный эпителий, кишечник, сердце, яички, лейкоциты	Gi	Обоняние
TAAR5	Триметиламин	Обонятельный эпителий, головной мозг, спинной мозг, кишечник, семенники, лейкоциты	Golf, Gs, Gq/11, G12/13	Обоняние
TAAR6	Неизвестны	Обонятельный эпителий, головной мозг, кишечник, яички, лейкоциты, почки	Golf	Обоняние
TAAR8	Неизвестны	Обонятельный эпителий, миндалина, астроглия, лейкоциты, желудок, кишечник, сердце, яички, легкие, селезенка, почки, мышцы	Golf, Gi	Обоняние
TAAR9	Неизвестны	Обонятельный эпителий, спинной мозг, кишечник, селезенка, скелетные мышцы, гипофиз, лейкоциты	Golf	Обоняние

-2, -5, -6, -8, -9 и три псевдогена — TAAR3, -4 и -7 [10] (табл. 1).

Существует мнение, что, кроме TAAR1, все остальные представители этого семейства функционируют преимущественно в качестве хемосенсорных рецепторов в системе обоняния [16]. Тем не менее для широкого ряда рецепторов TAAR показан различный спектр биологических функций, в том числе регуляция метаболических путей, принимающих участие в патогенезе кардиоваскулярных, онкологических и других заболеваний [10].

Типичные представители следовых аминов и их биологические функции

β-Фенилэтиламин

Одной из ключевых функций β-фенилэтиламина (ФЭА) в организме является формирование настроения и эмоционального фона, что связано с повышением концентрации дофамина и норадреналина [8]. Человек может получать ФЭА экзогенно (с пищей, поскольку синтезируется многими видами растений и животных) и эндогенно (синтезируется в орга-

низме человека) [17] в результате декарбокслирования аминокислоты фенилаланина под действием фермента декарбоксилазы ароматических аминокислот [18].

β -Фенилэтиламин распадается под воздействием MAO-B [19], которая также метаболизирует дофамин, но не серотонин и норадреналин [20]. A.V. Juoglio et al. показали, что ФЭА и другие СА, наряду с дофамином, опосредуют нигростриарный путь передачи сигнала [21]. В связи с этим ингибиторы MAO-B используют в лечении болезни Паркинсона (БП) [20].

Таким образом, была продемонстрирована связь ФЭА с БП, приводящая к снижению концентрации дофамина в дорсальном стриатуме за счет уменьшения количества дофаминергических нейронов в черной субстанции мозга.

Важно отметить, что ФЭА влияет на хемотаксис Т- и В-лимфоцитов, что отражает его иммуномодулирующую функцию [22].

Триптамин

Несмотря на то что триптамин потенцирует ингибирующее действие серотониновой системы, возникающие серотониновые ответы либо не меняются, либо преобразуются в ингибирующие реакции, опосредованные даже низкими концентрациями этого следового амина [23, 24]. Подобные эффекты триптамина видны в ответах нейронов коры на некоторые варианты электрической стимуляции. Здесь возбуждающий компонент двухфазных ответов был заметно снижен вследствие присутствия триптамина, тогда как ингибирующий компонент остался незатронутым [24]. Показано отсутствие влияния триптамина на нейрофизиологические ответы, вызванные ацетилхолином [23].

Точно так же вызванное серотонином сокращение гладкой мускулатуры уменьшается в присутствии триптамина при концентрациях ниже тех, которые имитируют эффект серотонина. Предполагают, что это связано с увеличением доли рецепторов 5-гидрокситриптамина 2а (5-HT_{2a}), но этот механизм изучен пока недостаточно хорошо [25].

P. Kozielwicz et al. изучали связывание лиганда форсколина с орфанным рецептором GPR61 (принадлежит семейству рецепторов биогенных аминов, связанных с G-белком (G α s)). Было показано, что экспрессия GPR61 в клеточной линии НЕК293 усиливает реакцию синтеза циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в ответ на форсколин, тогда как базальный синтез цАМФ не менялся. Триптамин ингибировал стимулированную форсколином продукцию цАМФ в клетках НЕК293, экспрес-

сирующих GPR61, что может быть обусловлено его регуляторной функцией, то есть влиянием на передачу сигнала через GPCR-рецепторы [26].

п-Тирамин

Для п-тирамина были выявлены сходные эффекты с ФЭА. Кроме того, было установлено, что п-тирамин может вызвать головную боль [27]. Тирамин секретируется из активированных тромбоцитов [22]. Влияние тирамина на лейкоциты и хемотаксис эритроцитов и их агрегацию было описано еще в начале 1920-х годов [28, 29]. Интересно, что производство энтерококками тирамина, например, в сырах усиливается в условиях, которые похожи на условия, характерные для желудочно-кишечного тракта [30]. Таким образом, тирамин может способствовать взаимодействию микрофлоры кишечника и модулировать последующие иммунные реакции [30].

В недавнем исследовании [31] было показано, что шампунь для волос на основе гидрохлорида тирамина — селективного агониста рецепторов TAAR — достоверно уменьшал выпадение волос у женщин на 31 % (с максимальным эффектом 77 %). Авторы продемонстрировали, что гидрохлорид тирамина сокращает мышцы кожи головы и уменьшает выпадение волос после мытья.

Октопамин

Октопамин впервые был синтезирован в 1910 г. [32]. Тем не менее, как компонент слюнных желез осьминога, он был идентифицирован намного позже — в 1952 г. [33]. Более 40 лет назад предполагали, что октопамин является котрансмиттером норадреналина [34]. Однако октопамин проявлял норадренергическую активность через взаимодействие с сайтами, отличными от рецепторов норадреналина и дофамина [35]. Октопамин в количествах, недостаточных для воздействия на базальную активность нейронов, потенцирует как тормозящие, так и возбуждающие реакции на норадреналин. Тем не менее, в отличие от тирамина и ФЭА, в ответ на действие дофамина или серотонина никакого эффекта не наблюдалось. При этом, как было показано с вышеуказанными СА, при применении норадреналина в низких дозах не было выявлено аналогичных эффектов [24].

Рецепторы следовых аминов

TAAR1 (рецептор 1, ассоциированный со следовыми аминами)

Несколькими научными группами [36–38] было показано, что TAAR1 является важным звеном дофаминергической, серотонинерги-

ческой и глутаматергической активности (как пресинаптическая, так и постсинаптическая колокализация с рецепторами других нейромедиаторов). TAAR1 наиболее изучен в семействе рецепторов TAAR. Он экспрессируется в нервной ткани (глиальных клетках [39] и нейронах [40]), а также в периферических органах и тканях, например желудке, поджелудочной железе и почках [41].

Активация TAAR1-рецептора приводит к внутриклеточной передаче сигналов через цАМФ, фосфорилированию протеинкиназы А и протеинкиназы С с последующей передачей сигналов в ядро [41]. В стриатуме мышей нокаутной линии TAAR1-KO была обнаружена гиперэкспрессия как матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК), так и белка D₂-дофаминового рецептора, но не D₁. При этом сигнальный путь АКТ/GSK3, не зависящий от дофаминовых рецепторов D₂, был избирательно активирован, на что указывает снижение фосфорилирования АКТ и GSK3β [42].

В настоящее время этот рецептор все чаще признают в качестве потенциальной терапевтической мишени при лечении психических расстройств [10].

Экспрессия TAAR1 в мозге экспериментальных животных локализована в основных моноаминергических, в частности дофаминергических, нейронах. Изучена экспрессия TAAR1 в дофаминергических нейронах человека [11, 36]. С помощью функциональной магнитно-резонансной томографии эта локализация была подтверждена в различных областях мозга человека, в том числе в тех, которые связаны с дофамин-опосредованной системой вознаграждения [43].

TAAR2

Рецептор TAAR2 наиболее гомологичен TAAR5 (42 %) и 5-HT₄ рецепторам серотонина (34 %) [36]. Лиганды для TAAR2 до сих пор не идентифицированы. Как и большинство рецепторов семейства CA, за исключением TAAR1, TAAR2 обнаруживают в обонятельном эпителии. Экспрессия гена TAAR2 выявлена в различных популяциях лейкоцитов у людей и мышей, в том числе в В- и Т-лимфоцитах, гранулоцитах, моноцитах, натуральных киллерах [44]. Транскрипты мРНК TAAR2 были также описаны в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта мышей [45] и в сердце крыс [46].

TAAR5

Рецептор TAAR5 экспрессируется в В-лимфоцитах человека. При этом в других популяциях лейкоцитов наблюдался низкий уровень экспрессии TAAR5 [47]. У грызунов мРНК

TAAR5 экспрессируется в мозге с распределением, частично перекрывающим распределение TAAR1 [48].

Агонист TAAR5 α-NETA опосредует передачу дофамина в стриатум, что вызывает значительные изменения гамма-ритма мозговой активности, которые могут быть важными прогностическими факторами при лечении пациентов с шизофренией и другими нейродегенеративными заболеваниями, связанными с дофаминовой системой. Эти наблюдения указывают на возможную роль TAAR5 в модуляции когнитивных функций при патологии головного мозга [49].

Негативная реакция несоответствия (НРН) отражает процесс предварительного внимания, распознавания стимулов и связана с произвольным переключением внимания. α-NETA в дозе 3 мг/кг увеличивал НРН-подобный ответ у крыс, возможно, посредством TAAR5-зависимых процессов [50]. Показана потенциальная роль TAAR5 CA в дозировании сенсорной информации [51].

TAAR6

В человеческом мозге уровни транскриптов TAAR6 могут превосходить уровни экспрессии TAAR1, а также могут быть обнаружены в известных путях моноаминергической проекции, включая миндалину, базальные ганглии, лобную кору, гиппокамп и черную субстанцию [47]. Транскрипты TAAR6 также выявлены в почках [11] и лейкоцитах [47, 52]. TAAR6 присутствует в спинном мозге крыс [53], но транскриптов в спинном мозге человека найдено не было [51].

Важно отметить, что по данным FDA (от англ. Food and Drug Administration), аripипразол (Aripiprazole) является одним из наиболее эффективных препаратов против шизофрении благодаря воздействию на рецептор TAAR6 [54].

TAAR8

В результате анализа экспрессии гена, кодирующего рецептор TAAR8, были установлены почти максимальная экспрессия и отсутствие половых различий для многих тканей и органов, за исключением сердца, у мышей [55]. мРНК TAAR8 присутствует в миндалине мозга человека [11]. Транскрипция TAAR8 в астроглии увеличивается после активации или полисахаридной обработки *in vitro* [52]. D'Andrea et al. [22] также выявили повышение относительного уровня транскрипции гена TAAR8 в лейкоцитах, но это не было подтверждено другими исследователями [44]. Ранее экспрессия гена TAAR8 была обнаружена в почках [11].

TAAR9

Как и в случае с TAAR8, в ряде исследований установлено, что различные популяции лейкоцитов экспрессировали TAAR9 [22, 47]. TAAR9 экспрессируется также в селезенке [56], гипофизе и скелетных мышцах человека [57].

Метаболические нарушения и пищевое поведение, опосредованные дофаминовой системой, следовыми аминами и их рецепторами

Недавно была установлена роль импульсивности в изменениях пищевого поведения и повышенном риске ожирения, связанного с ограничением внутриутробного развития (ОВР). Изменения в передаче дофамина в префронтальных областях способствуют этим неблагоприятным событиям. M.V. Alves et al. изучали импульсивное поведение в отношении отсроченного вознаграждения и определяли уровни дофамина и его рецепторов в медиальной префронтальной (mPFC) и орбитофронтальной (OFC) коре самок взрослых крыс, подвергшихся воздействию ОВР [58]. С 10-го дня беременности и до рождения потомства животные получали либо питание *ad libitum*, либо диету с ограничением питания на 50 % (ОП). Импульсивное поведение взрослых крыс оценивали с помощью теста с задержкой вознаграждения. Изменения уровня дофамина в мозге в ответ на потребление сладкой пищи измеряли с использованием вольтамперометрии, а с помощью вестерн-блоттинга выявляли рецепторы дофамина D₁ и D₂, а также транспортера дофамина (DAT). Животные из группы ОП проявляли выраженное отвращение к задержанным вознаграждениям. Было обнаружено, что реакция дофамина на сладкую пищу притупляется в mPFC животных из группы ОП, тогда как в OFC уровни дофамина, по-видимому, не зависят от потребления сладкого. Более того, у животных из экспериментальной группы наблюдалось снижение экспрессии рецепторов D₁ в OFC и, позднее, повышение уровней D₂ в mPFC. Эти данные свидетельствуют о том, что самки крыс ОВР более импульсивны и связанный с этим механизм включает изменения в передаче сигналов дофамина как в mPFC, так и в OFC. Крысята с ОВР были более восприимчивы к сладкому вознаграждению, что выражалось в изменении пищевого поведения, вызванного снижением чувства насыщения, и в дальнейшем было связано с перекармливанием, избыточным весом и ожирением.

Данные нейрофармакологических исследований указывают на передачу дофамина в пре-

фронтальную и лимбическую области мозга с различными изменениями уровней импульсивности. В медиальной префронтальной коре (mPFC) более высокие уровни экспрессии D₂-рецепторов связаны с более низкими уровнями импульсивности.

Таким образом, рабочая гипотеза заключалась в том, что грызуны с ОВР проявляют большую импульсивность в тесте с задержкой вознаграждения посредством модулирования уровней экспрессии рецепторов D₁ и D₂ и изменения динамики высвобождения дофамина в ответ на потребление сладкой пищи в mPFC и OFC [58].

Влияние избыточного количества дофамина в мозге на метаболические нарушения было показано в исследовании на нокаутной линии крыс DAT-KO (*in vivo* модель синдрома дефицита внимания и гиперактивности) [59], у гомозиготных по нокауту гена *DAT* (*Scl6a3*) особей которой зарегистрировано повышение уровня этого нейромедиатора в стриатуме мозга в 5–6 раз, а у гетерозиготных — в 2 раза [60]. Повышение значения коэффициента де Ритиса (соотношение активности аспартаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в крови) у крыс *DAT*^{-/-} по сравнению с таковым у *DAT*^{+/+} («дикий тип»), по всей видимости, свидетельствует об активации катаболических процессов у нокаутных крыс. Это подтверждается более высоким уровнем удельного энергопотребления, более низкой массой тела, снижением относительной массы печени и белого брюшинного жира, а также гистологическим исследованием печени и сердца у гомо- и гетерозигот DAT-KO в сравнении с «диким типом» [59]. При этом в поведенческом тесте «открытое поле» локомоторная активность гетерозигот *DAT*^{+/-} и контрольных животных с генотипом *DAT*^{+/+} была одинакова, в то время как у гомозигот *DAT*^{-/-} общая пройденная дистанция была в 4 раза и более больше в сравнении с «диким типом».

Таким образом, снижение массы тела, в том числе за счет относительной массы белой жировой ткани, у гомо- и гетерозигот крыс DAT-KO коррелировало с повышением локомоторной активности только у гомозигот, что может служить прямым доказательством ключевой роли дофамина в регуляции катаболических процессов, включая липидный и углеводный обмен [59].

Как и в случае с дофаминовой системой, активация TAAR1 может регулировать высвобождение дофамина преимущественно в прилежащем ядре. Показано, что у мышей нокаутной линии TAAR1-KO дофамин высвобождается более активно по сравнению

с контрольными мышами. При этом скорости обратного захвата дофамина были одинаковы для экспериментальной и контрольной групп мышей, что исключает участие DAT в модулирующем действии TAAR1 [38].

Другая группа ученых [61] продемонстрировала, что увеличение количества TAAR1 на поверхностной мембране клетки обуславливало взаимодействие TAAR1 с рецептором D₂R, в результате сигнал из D₂R посредством β-аррестина поступал в TAAR1. Вероятно, D₂R-ауторецептор-зависимая секреция дофамина может происходить посредством модуляции калиевых и, возможно, кальциевых каналов по аденилатциклазанезависимому пути [62]. TAAR1 гиперполяризует мембрану нейрона, уменьшая тем самым вероятность высвобождения дофамина [63].

В настоящее время известно два механизма, с помощью которых агонисты TAAR1 могут влиять на уменьшение переедания: уменьшение количества VTA-нейронов и увеличение глутаматергической активности в префронтальной коре (mPFC) [42]. Известно, что вкусная пища многократно активирует путь дофаминергического вознаграждения VTA-NAc [64]. Агонизм TAAR1 уменьшает активацию нейронов VTA посредством активации K⁺-каналов [65]. Таким образом, его влияние на уменьшение переедания может быть опосредовано путем предотвращения гипердопаминергической активности [66]. Было показано, что снижение экспрессии TAAR1 вызывает гипоглутаматергический ответ в mPFC [67], а низкая активность PFC коррелирует с потерей контроля чувства насыщения.

Предполагают, что агонизм TAAR1 приводит к уменьшению переедания за счет снижения актов компульсивного питания, что происходит отчасти путем восстановления нарушенной активности mPFC. Агонизм TAAR1 приводит к задержке опорожнения желудка и увеличению секреции инсулина во время глюкозотолерантного теста, что снижает потребление пищи и массу тела у мышей [68].

TAAR1 ограниченно экспрессируется в периферических тканях. В частности, его обнаруживают в β-клетках поджелудочной железы, где он способствует глюкозозависимой секреции инсулина. Этот рецептор экспрессируется совместно с GLP-1 и PYY в тонкой кишке [69]. Помимо этого, TAAR1 усиливает стимулированную глюкозой секрецию инсулина посредством cAMP-РКА и Ерас-зависимой передачи сигналов в β-клетках поджелудочной железы и активирует пролиферацию β-клеток. Для передачи сигналов TAAR1 – MAPK в инсулин-секретирующих клетках необходимы как

приток кальция, так и его внутриклеточное высвобождение. Активация TAAR1 запускает эти оба пути посредством передачи сигналов через cAMP [70].

Клинические и фармакологические аспекты использования следовых аминов и их рецепторов

Несмотря на то что существование СА в головном мозге и периферической нервной системе позвоночных признано давно, а их фармакологические эффекты и вовлечение в патогенез нервных и психических болезней [71, 72] изучали десятилетиями, механизм действия данных соединений долго оставался неидентифицированным. Лишь когда в начале XXI в. были открыты рецепторы СА, получившие название «рецепторы следовых аминов» (trace amines associated receptors — TAARs) [11, 12], стало возможным объяснить эти эффекты. Открытие TAAR-рецепторов подтвердило, что СА являются независимой группой биогенных аминов, и привело к возобновлению интереса к выявлению их еще не изученных функций [71].

Как было сказано выше, TAAR1 был обнаружен в нескольких областях мозга млекопитающих, в том числе в миндалинах мозжечка, гипоталамусе, гиппокампе, спинномозговых ганглиях, причем самая высокая продукция TAAR1 наблюдается в лимбической системе, включая вентральную область покрышки и черной субстанции (области мозга, в которых дофаминергические нейроны широко представлены), а также в дорзальном ядре шва, где высока плотность серотонинергических нейронов [11, 65]. На основании этих данных был сделан вывод, что СА, эндогенные агонисты TAAR1, вовлечены в регуляцию моноаминергических нейромедиаторных систем [8]. Позже было показано их участие в модуляции глутаматергической передачи [38, 65, 74]. Следовательно, они должны вовлекаться в регуляцию психоэмоционального состояния, движения и, вероятно, консолидации памяти. Действительно, исследования, проведенные на мышах с нокаутом гена *TAAR1* (мышь TAAR1-KO), подтверждают, что рецепторы TAAR1 участвуют в модуляции высвобождения дофамина из нигростриатных нейронов и задействованы в контроле движения [75–77]. TAAR1 были обнаружены в префронтальной коре — области мозга, вовлеченной в создание сложных когнитивных схем и планов действий, принятие решений, контроль и регуляцию социального поведения. В связи с этим стало понятно, почему агонисты TAAR1 способны подавлять гиперактивность,

развивающуюся при фармакологически или генетически вызванном дефиците рецептора глутамата NMDA, а также улучшать когнитивные функции у крыс, получавших фенциклидин — антагонист рецептора глутамата NMDA [67, 78].

Таким образом, в течение первого десятилетия XXI в. были собраны экспериментальные доказательства, указывающие на патофизиологическую значимость следовых моноаминов и их рецепторов при различных расстройствах центральной нервной системы, в том числе при нейродегенеративных заболеваниях [79].

Нейродегенерация характеризуется хронической прогрессирующей утратой нервных клеток, приводящей к потере той или иной функции (в зависимости от пораженной области мозга). Как итог возникают функциональные и психические нарушения [80]. В последние десятилетия наблюдается неуклонный рост числа пациентов с нейродегенеративными расстройствами. Распространение нейродегенеративных заболеваний приобретает масштабы эпидемии [81]. К группе нейродегенеративных заболеваний относят БП, болезнь Альцгеймера, прогрессирующий надъядерный паралич, мультисистемную атрофию, рассеянный склероз и многие другие. Как правило, для них характерны двигательные нарушения, аффективные расстройства и когнитивная дисфункция [82]. Значительные ресурсы направлены на поиск клинических или нейровизуализационных биомаркеров нейродегенеративных заболеваний, а также возможных маркеров в биологических образцах. Исследования нацелены не только на выявление ранних биомаркеров нейродегенерации, но и на определение маркеров прогрессирования заболевания для прогнозирования осложнений и своевременного применения терапии. Одними из таких биомаркеров могут выступать СА и их рецепторы. Проведены исследования, доказывающие, что уже на ранних стадиях БП меняется концентрация СА в крови. Так, например, в работе [83] выявлено снижение уровня октопамина в плазме крови пациентов с БП. Интересно, что в целом у пациентов с БП наблюдалось снижение октопамина в плазме в 2,4 раза по сравнению с контролем, а у пациентов, не получавших фармакологического лечения со сроком заболевания менее года, уровень октопамина в плазме крови был снижен в 6,6 раза. Следовательно, противопаркинсонические препараты способны частично восстанавливать содержание октопамина в крови. Авторы также отмечают, что снижение концентрации октопамина в плазме крови пациентов с БП сопровождалось значимым снижением содержания норадреналина

(в 2 раза в целом по группе и в 1,5 раза для наивных пациентов), что позволяет предположить участие СА в регуляции активности норадреналинергических нейронов голубого пятна и, следовательно, в формировании пространственной памяти.

Этой же группой исследователей при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией был проведен количественный анализ циркулирующих СА в плазме крови у пациентов с БП на различных стадиях в сравнении с контрольной группой. Оказалось, что уровень тирамина у пациентов с БП в 1,7 раза выше, чем у здоровых, уже на ранних стадиях и продолжает расти с развитием заболевания. Так, у пациентов со сроком около трех лет содержание тирамина уже в 2,4 раза превышает показатель контрольной группы. У пациентов на поздних стадиях зарегистрированы более низкий уровень ФЭА (снижение в 6,7 раза) и более высокий уровень синефрина (в 3,8 раза) при сравнении с пациентами на ранних стадиях развития болезни. Эти данные подтверждают потенциальную клиническую ценность циркулирующих СА в качестве биомаркеров ранней диагностики и прогрессирования БП, что было доказано авторами при проведении ROC-анализа. Площадь под ROC-кривой при дифференцировании пациентов с БП по уровню тирамина от контроля составила 0,902 (чувствительность теста — 0,86, специфичность — 0,90), а при выявлении наивных пациентов из общей группы больных — 0,825 (чувствительность теста — 0,78, специфичность — 0,76) [84].

Поскольку нарушение нейромедиаторной передачи характерно не только для БП, но и в целом для большинства нейродегенеративных заболеваний, интересен вопрос распределения СА и TAAR в зависимости от тяжести клинических проявлений и при других расстройствах центральной нервной системы. Однако клинические данные о содержании СА при болезни Альцгеймера, рассеянном склерозе практически отсутствуют. Существует лишь ряд работ, посвященных изучению СА и их рецепторов у пациентов с психическими заболеваниями. Так, у женщин, страдающих биполярным аффективным расстройством, наблюдался высокий уровень экскреции ФЭА с мочой, при этом применение ингибиторов моноаминоксидазы, которые дополнительно увеличивают экскрецию данного амина, усугубляли симптомы заболевания [85]. Повышение уровня ФЭА в моче и плазме крови было выявлено и у пациентов с шизофренией (чаще при ее параноидной форме) [86, 87]. Было также показано, что уровень триптамина в моче у пациентов

с шизофренией коррелирует с тяжестью заболевания [13]. При депрессивных расстройствах, наоборот, отмечалось уменьшение экскреции ФЭА с мочой и снижение его концентрации в плазме крови, кроме этого, в плазме крови снижались концентрации тирамина и октопамина [1, 88, 89]. Связь между дефицитом СА и выраженностью депрессии позволила предположить, что активация TAAR1 может оказывать антидепрессивный и анксиолитический эффекты. В поддержку этой гипотезы было показано, что агонисты TAAR1 повышают бдительность у крыс и предотвращают вызванную стрессом гипертермию у мышей, тем самым проявляя прокогнитивные и антидепрессантоподобные свойства [65, 78].

Помимо центральной нервной системы TAAR1, а также другие TAARs экспрессируются и на периферии. В частности, обнаружена продукция мРНК TAAR1 и TAAR2 в различных популяциях лейкоцитов у людей и мышей, в том числе в В-клетках, гранулоцитах, моноцитах и Т-киллерах [44, 90]. Присутствие TAAR1 и TAAR2 в различных популяциях лейкоцитов указывает на их возможную роль в регуляции секреции цитокинов и иммуноглобулинов [10]. Поскольку при нейродегенеративных заболеваниях уровень про- и противовоспалительных цитокинов в крови пациентов с нервными и психическими заболеваниями изменяется, велика вероятность вовлечения СА и в процесс распространения воспаления с периферии в центральную нервную систему и/или наоборот [91, 92]. Однако клинических исследований в данной области не проводили.

Заключение

С определением роли рецепторов СА в качестве нового класса рецепторов обоняния появились новые возможности в изучении не только общебиологических фундаментальных вопросов, например полового и пищевого поведения, но и различных нейродегенеративных, метаболических и других типов заболеваний. Действительно, за последние два десятилетия наблюдается резкий рост научных публикаций, показывающий хорошие перспективы использования СА и их рецепторов в биологии и медицине, включая разработку, доклинические/клинические исследования лекарственных, косметических средств, биологически активных добавок и специализированных продуктов питания.

Следовые амины входят в состав многих продуктов питания (в том числе компонентов средиземноморской диеты), которые являются

природными антидепрессантами, — морепродукты, шоколад, сыр, вино и другие продукты брожения.

Помимо этого, связь СА и их рецепторов с дофаминовой системой стала предполагаемым этиологическим фактором при злоупотреблении наркотиками, а также различных психических расстройствах.

Доказана роль СА в контроле энергетического обмена, а также клеточных иммунных ответов, включая взаимодействие с микробиотой, в биохимических превращениях экзонутриентов в организме и, как следствие, в патогенезе алиментарно-зависимых заболеваний.

Поскольку декарбоксилирование аминокислот (основной эндогенный механизм образования СА) происходит в мозге с большой интенсивностью, это отражается на влиянии СА в регуляции нейродегенеративных процессов. Однако истинную степень влияния экзонутриентов белковой природы и эндогенных продуктов декарбоксилирования аминокислот на уровень СА в мозге предстоит оценить в исследованиях на нокаутных (по генам, кодирующим рецепторы СА) лабораторных животных. В клинической практике диагностически значимыми могут стать определение уровней СА в крови.

Литература

1. Premont RT, Gainetdinov RR, Caron MG. Following the trace of elusive amines. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98(17):9474-9475. <https://doi.org/10.1073/pnas.181356198>.
2. Granvogl M, Bugan S, Schieberle P. Formation of amines and aldehydes from parent amino acids during thermal processing of cocoa and model systems: new insights into pathways of the strecker reaction. *J Agric Food Chem*. 2006;54(5):1730-1739. <https://doi.org/10.1021/jf0525939>.
3. Khan MZ, Nawaz W. The emerging roles of human trace amines and human trace amine-associated receptors (hTAARs) in central nervous system. *Biomed Pharmacother*. 2016;83:439-449. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.07.002>.
4. Ahmad W, Mohammed GI, Al-Eryani DA, et al. Biogenic amines formation mechanism and determination strategies: future challenges and limitations. *Crit Rev Anal Chem*. 2019;1-16. <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1657793>.
5. Boulton A. Amines and theories in psychiatry. *Lancet*. 1974;304(7871):52-53. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(74\)91390-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(74)91390-7).
6. Burchett SA, Hicks TP. The mysterious trace amines: protean neuromodulators of synaptic transmission in mammalian brain. *Prog Neurobiol*. 2006;79(5-6):223-246. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2006.07.003>.

7. Karovicova J, Kohajdova Z. Biogenic amines in food. *ChemInform*. 2005;36(34). <https://doi.org/10.1002/chin.200534338>.
8. Berry MD. Mammalian central nervous system trace amines. Pharmacologic amphetamines, physiologic neuromodulators. *J Neurochem*. 2004;90(2):257-271. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02501.x>.
9. Wimbiscus M, Kostenko O, Malone D. MAO inhibitors: risks, benefits, and lore. *Cleve Clin J Med*. 2010;77(12):859-882. <https://doi.org/10.3949/ccjm.77a.09103>.
10. Gainetdinov RR, Hoener MC, Berry MD. Trace amines and their receptors. *Pharmacol Rev*. 2018;70(3):549-620. <https://doi.org/10.1124/pr.117.015305>.
11. Borowsky B, Adham N, Jones KA, et al. Trace amines: identification of a family of mammalian G protein-coupled receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(16):8966-8971. <https://doi.org/10.1073/pnas.151105198>.
12. Bunzow JR, Sonders MS, Arttamangkul S, et al. Amphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine, lysergic acid diethylamide, and metabolites of the catecholamine neurotransmitters are agonists of a rat trace amine receptor. *Mol Pharmacol*. 2001;60(6):1181-1188. <https://doi.org/10.1124/mol.60.6.1181>.
13. Berry MD. The potential of trace amines and their receptors for treating neurological and psychiatric diseases. *Rev Recent Clin Trials*. 2007;2(1):3-19. <https://doi.org/10.2174/157488707779318107>.
14. Narang D, Tomlinson S, Holt A, et al. Trace amines and their relevance to psychiatry and neurology: a brief overview. *Klinik Psichofarmakoloji Bülteni*. 2011;73-79. <https://doi.org/10.5350/kpb-bcp201121113>.
15. Apryatin SA, Karpenko MN, Trofimov AN, et al. Physiological and biochemical features of rodent knockout lines with genetic dopamine reuptake (DAT-KO) and trace amines reception (TAAR1-KO) disorders. In: Proceedings of the 26th International "Stress and Behavior" Neuroscience and Biopsychiatry Conference; Saint Petersburg, 2019 May 16-19. Saint Petersburg: Titan-Print; 2019. P. 41.
16. Liberles SD, Buck LB. A second class of chemosensory receptors in the olfactory epithelium. *Nature*. 2006;442(7103):645-650. <https://doi.org/10.1038/nature05066>.
17. Hossain M, Wickramasekara RN, Carvelli L. beta-Phenylethylamine requires the dopamine transporter to increase extracellular dopamine in *Caenorhabditis elegans* dopaminergic neurons. *Neurochem Int*. 2014;73:27-31. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.10.010>.
18. Paterson IA, Juorio AV, Boulton AA. 2-Phenylethylamine: a modulator of catecholamine transmission in the mammalian central nervous system? *J Neurochem*. 1990;55(6):1827-1837. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1990.tb05764.x>.
19. Osamu S, Masakazu O, Yoshinao K. Characterization of N-methylphenylethylamine and N-methylphenylethanolamine as substrates for type A and type B monoamine oxidase. *Biochem Pharmacol*. 1980;29(19):2663-2667. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(80\)90083-0](https://doi.org/10.1016/0006-2952(80)90083-0).
20. Youdim MBH, Riederer PF. Monoamine oxidase A and B inhibitors in Parkinson's disease. In: Handbook of Clinical Neurology. Vol. 84. Parkinson's Disease and Related Disorders. Part II. Ed. by W.C. Koller, E. Melamed. Elsevier; 2007. P. 93-120. [https://doi.org/10.1016/s0072-9752\(07\)84034-6](https://doi.org/10.1016/s0072-9752(07)84034-6).
21. Juorio AV, Paterson IA, Zhu MY, Matte G. Electrical stimulation of the substantia nigra and changes of 2-phenylethylamine synthesis in the rat striatum. *J Neurochem*. 1991;56(1):213-220. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1991.tb02583.x>.
22. D'Andrea G, Terrazzino S, Fortin D, et al. HPLC electrochemical detection of trace amines in human plasma and platelets and expression of mRNA transcripts of trace amine receptors in circulating leukocytes. *Neurosci Lett*. 2003;346(1-2):89-92. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(03\)00573-1](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(03)00573-1).
23. Jones RSG, Boulton AA. Tryptamine and 5-hydroxytryptamine: Actions and interactions on cortical neurones in the rat. *Life Sci*. 1980;27(20):1849-1856. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(80\)90429-4](https://doi.org/10.1016/0024-3205(80)90429-4).
24. Jones RSG. Tryptamine modifies cortical neurone responses evoked by stimulation of nucleus raphe medianus. *Brain Res Bull*. 1982;8(4):435-437. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(82\)90079-x](https://doi.org/10.1016/0361-9230(82)90079-x).
25. Frenken M, Kaumann AJ. Effects of tryptamine mediated through 2 states of the 5-HT₂ receptor in calf coronary artery. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1988;337(5):484-492. <https://doi.org/10.1007/bf00182720>.
26. Kozielowicz P, Grafton G, Sajkowska-Kozielowicz JJ, Barnes NM. Overexpression of orphan receptor GPR61 increases cAMP levels upon Forskolin stimulation in HEK293 cells: *in vitro* and *in silico* validation of 5-(Nonyloxy)Tryptamine as a low-affinity inverse agonist. *Pharmacology*. 2019;104(5-6):377-382. <https://doi.org/10.1159/000501926>.
27. Gingerich TM, Lorca T, Flick GJ, et al. Biogenic amine survey and organoleptic changes in fresh, stored, and temperature-abused bluefish (*Pomatomus saltatrix*). *J Food Prot*. 1999;62(9):1033-1037. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-62.9.1033>.
28. Wolf EP. Experimental studies on inflammation: I. The influence of chemicals upon the chemotaxis of leucocytes *in vitro*. *J Exp Med*. 1921;34(4):375-396. <https://doi.org/10.1084/jem.34.4.375>.
29. Wolf EP. Experimental studies on inflammation: II. Experimental chemical inflammation *in vivo*. *J Exp Med*. 1923;37(4):511-524. <https://doi.org/10.1084/jem.37.4.511>.
30. Fernandez de Palencia P, Fernandez M, Mohedano ML, et al. Role of tyramine synthesis by food-borne *Enterococcus durans* in adaptation to the gastrointestinal tract environment. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(2):699-702. <https://doi.org/10.1128/AEM.01411-10>.

31. Kovacevic M, McCoy J, Goren A, et al. Novel shampoo reduces hair shedding by contracting the arrector pili muscle via the trace amine-associated receptor. *J Cosmet Dermatol*. 2019;18(6):2037-2039. <https://doi.org/10.1111/jocd.13054>.
32. Barger G, Dale HH. Chemical structure and sympathomimetic action of amines. *J Physiol*. 1910;41(1-2):19-59. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1910.sp001392>.
33. Erspamer V. Identification of octopamine as l-p-hydroxyphenylethanolamine. *Nature*. 1952;169(4296):375-376. <https://doi.org/10.1038/169375b0>.
34. Axelrod J, Saavedra JM. Octopamine. *Nature*. 1977;265(5594):501-504. <https://doi.org/10.1038/265501a0>.
35. Hicks TP, McLennan H. Comparison of the actions of octopamine and catecholamines on single neurones of the rat cerebral cortex. *Br J Pharmacol*. 1978;64(4):485-491. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1978.tb17309.x>.
36. Lindemann L, Ebeling M, Kratochwil NA, et al. Trace amine-associated receptors form structurally and functionally distinct subfamilies of novel G protein-coupled receptors. *Genomics*. 2005;85(3):372-385. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2004.11.010>.
37. Lindemann L, Meyer CA, Jeanneau K, et al. Trace amine-associated receptor 1 modulates dopaminergic activity. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008;324(3):948-956. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.132647>.
38. Leo D, Mus L, Espinoza S, et al. Taar1-mediated modulation of presynaptic dopaminergic neurotransmission: role of D₂ dopamine autoreceptors. *Neuropharmacology*. 2014;81:283-291. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.02.007>.
39. Cisneros IE, Ghorpade A. Methamphetamine and HIV-1-induced neurotoxicity: role of trace amine associated receptor 1 cAMP signaling in astrocytes. *Neuropharmacology*. 2014;85:499-507. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.06.011>.
40. Miller GM. The emerging role of trace amine-associated receptor 1 in the functional regulation of monoamine transporters and dopaminergic activity. *J Neurochem*. 2011;116(2):164-176. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07109.x>.
41. Grandy DK. Trace amine-associated receptor 1-Family archetype or iconoclast? *Pharmacol Ther*. 2007;116(3):355-390. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.06.007>.
42. Moore CF, Sabino V, Cottone P. Trace amine associated receptor 1 (TAAR1) modulation of food reward. *Front Pharmacol*. 2018;9:129. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00129>.
43. Nazimek J, Perini F, Capitaio L, et al. A phase I functional neuroimaging study of SEP-363856 in healthy volunteers with high or low stereotypy. *Neuropsychopharmacology*. 2016; 41(Suppl 1): S393-S394.
44. Babusyte A, Kotthoff M, Fiedler J, Krautwurst D. Biogenic amines activate blood leukocytes via trace amine-associated receptors TAAR1 and TAAR2. *J Leukoc Biol*. 2013;93(3):387-394. <https://doi.org/10.1189/jlb.0912433>.
45. Ito J, Ito M, Nambu H, et al. Anatomical and histological profiling of orphan G-protein-coupled receptor expression in gastrointestinal tract of C57BL/6J mice. *Cell Tissue Res*. 2009;338(2):257-269. <https://doi.org/10.1007/s00441-009-0859-x>.
46. Chiellini G, Erba P, Carnicelli V, et al. Distribution of exogenous [125I]-3-iodothyronamine in mouse *in vivo*: relationship with trace amine-associated receptors. *J Endocrinol*. 2012;213(3):223-230. <https://doi.org/10.1530/JOE-12-0055>.
47. Babusyte A, Kotthoff M, Fiedler J, Krautwurst D. Biogenic amines activate blood leukocytes via trace amine-associated receptors TAAR1 and TAAR2. *J Leukoc Biol*. 2013;93(3):387-394. <https://doi.org/10.1189/jlb.0912433>.
48. Dinter J, Muhlhaus J, Wienchol CL, et al. Inverse agonistic action of 3-iodothyronamine at the human trace amine-associated receptor 5. *PLoS One*. 2015;10(2):e0117774. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117774>.
49. Belov DR, Efimova EV, Fesenko ZS, et al. Putative trace-amine associated receptor 5 (TAAR5) agonist alpha-NETA increases electrocorticogram gamma-rhythm in freely moving rats. *Cell Mol Neurobiol*. 2020;40(2):203-213. <https://doi.org/10.1007/s10571-019-00716-1>.
50. Aleksandrov AA, Knyazeva VM, Volnova AB, et al. Identification of TAAR5 agonist activity of alpha-NETA and its effect on mismatch negativity amplitude in awake rats. *Neurotox Res*. 2018;34(3):442-451. <https://doi.org/10.1007/s12640-018-9902-6>.
51. Duan J, Martinez M, Sanders AR, et al. Polymorphisms in the trace amine receptor 4 (TRAR4) gene on chromosome 6q23.2 are associated with susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet*. 2004;75(4):624-638. <https://doi.org/10.1086/424887>.
52. D'Andrea G, D'Arrigo A, Facchinetti F, et al. Octopamine, unlike other trace amines, inhibits responses of astroglia-enriched cultures to lipopolysaccharide via a beta-adrenoreceptor-mediated mechanism. *Neurosci Lett*. 2012;517(1):36-40. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.04.013>.
53. Gozal EA, O'Neill BE, Sawchuk MA, et al. Anatomical and functional evidence for trace amines as unique modulators of locomotor function in the mammalian spinal cord. *Front Neural Circuits*. 2014;8:134. <https://doi.org/10.3389/fncir.2014.00134>.
54. Tahir RA, Wu H, Javed N, et al. Pharmacoinformatics and molecular docking reveal potential drug candidates against Schizophrenia to target TAAR6. *J Cell Physiol*. 2019;234(8):13263-13276. <https://doi.org/10.1002/jcp.27999>.
55. Muhlhaus J, Dinter J, Nurnberg D, et al. Analysis of human TAAR8 and murine Taar8b mediated signaling pathways and expression profile. *Int J Mol Sci*. 2014;15(11):20638-20655. <https://doi.org/10.3390/ijms151120638>.
56. Regard JB, Sato IT, Coughlin SR. Anatomical profiling of G protein-coupled receptor expression. *Cell*. 2008;135(3):561-571. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.08.040>.

57. Vanti WB, Muglia P, Nguyen T, et al. Discovery of a null mutation in a human trace amine receptor gene. *Genomics*. 2003;82(5):531-536. <https://doi.org/10.1016/s0888>
58. Alves MB, Laureano DP, Dalle Molle R, et al. Intrauterine growth restriction increases impulsive behavior and is associated with altered dopamine transmission in both medial prefrontal and orbitofrontal cortex in female rats. *Physiol Behav*. 2019;204:336-346. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.03.010>.
59. Apryatin SA, Shipelin VA, Trusov NV, et al. Comparative analysis of the influence of a high-fat/high-carbohydrate diet on the level of anxiety and neuromotor and cognitive functions in Wistar and DAT-KO rats. *Physiol Rep*. 2019;7(4):e13987. <https://doi.org/10.14814/phy2.13987>.
60. Efimova EV, Gainetdinov RR, Budygin EA, Sotnikova TD. Dopamine transporter mutant animals: a translational perspective. *J Neurogenet*. 2016;30(1):5-15. <https://doi.org/10.3109/01677063.2016.1144751>.
61. Harmeier A, Obermueller S, Meyer CA, et al. Trace amine-associated receptor 1 activation silences GSK3beta signaling of TAAR1 and D₂R heteromers. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2015;25(11):2049-2061. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.08.011>.
62. Beaulieu JM, Gainetdinov RR. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev*. 2011;63(1):182-217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>.
63. Espinoza S, Ghisi V, Emanuele M, et al. Postsynaptic D₂ dopamine receptor supersensitivity in the striatum of mice lacking TAAR1. *Neuropharmacology*. 2015;93:308-313. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.02.010>.
64. Rada P, Avena NM, Hoebel BG. Daily bingeing on sugar repeatedly releases dopamine in the accumbens shell. *Neuroscience*. 2005;134(3):737-744. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.04.043>.
65. Revel FG, Moreau JL, Gainetdinov RR, et al. TAAR1 activation modulates monoaminergic neurotransmission, preventing hyperdopaminergic and hypoglutamatergic activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(20):8485-8490. <https://doi.org/10.1073/pnas.1103029108>.
66. Ferragud A, Howell AD, Moore CF, et al. The trace amine-associated receptor 1 agonist RO5256390 blocks compulsive, binge-like eating in rats. *Neuropsychopharmacology*. 2017;42(7):1458-1470. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.233>.
67. Espinoza S, Lignani G, Caffino L, et al. TAAR1 modulates cortical glutamate NMDA receptor function. *Neuropsychopharmacology*. 2015;40(9):2217-2227. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.65>.
68. Balodis IM, Kober H, Worhunsky PD, et al. Monetary reward processing in obese individuals with and without binge eating disorder. *Biol Psychiatry*. 2013;73(9):877-886. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.01.014>.
69. Raab S, Wang H, Uhles S, et al. Incretin-like effects of small molecule trace amine-associated receptor 1 agonists. *Mol Metab*. 2016;5(1):47-56. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2015.09.015>.
70. Michael ES, Covic L, Kuliopulos A. Trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) promotes anti-diabetic signaling in insulin-secreting cells. *J Biol Chem*. 2019;294(12):4401-4411. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.005464>.
71. Boulton AA. Trace amines and mental disorders. *Can J Neurol Sci*. 1980;7(3):261-263. <https://doi.org/10.1017/s0317167100023313>.
72. Philips SR, Rozdilsky B, Boulton AA. Evidence for the presence of m-tyramine, p-tyramine, tryptamine, and phenylethylamine in the rat brain and several areas of the human brain. *Biol Psychiatry*. 1978;13(1):51-57.
73. Pei Y, Asif-Malik A, Canales JJ. Trace amines and the trace amine-associated receptor 1: pharmacology, neurochemistry, and clinical implications. *Front Neurosci*. 2016;10:148. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00148>.
74. Espinoza S, Salahpour A, Masri B, et al. Functional interaction between trace amine-associated receptor 1 and dopamine D₂ receptor. *Mol Pharmacol*. 2011;80(3):416-425. <https://doi.org/10.1124/mol.111.073304>.
75. Lindemann L, Meyer CA, Jeanneau K, et al. Trace amine-associated receptor 1 modulates dopaminergic activity. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008;324(3):948-956. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.132647>.
76. Panas HN, Lynch LJ, Vallender EJ, et al. Normal thermoregulatory responses to 3-iodothyronamine, trace amines and amphetamine-like psychostimulants in trace amine associated receptor 1 knockout mice. *J Neurosci Res*. 2010;88(9):1962-1969. <https://doi.org/10.1002/jnr.22367>.
77. Sotnikova TD, Zorina OI, Ghisi V, et al. Trace amine associated receptor 1 and movement control. *Parkinsonism Relat Disord*. 2008;14 Suppl 2:S99-102. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2008.04.006>.
78. Revel FG, Moreau JL, Pouzet B, et al. A new perspective for schizophrenia: TAAR1 agonists reveal antipsychotic- and antidepressant-like activity, improve cognition and control body weight. *Mol Psychiatry*. 2013;18(5):543-556. <https://doi.org/10.1038/mp.2012.57>.
79. Schwartz MD, Canales JJ, Zucchi R, et al. Trace amine-associated receptor 1: a multimodal therapeutic target for neuropsychiatric diseases. *Expert Opin Ther Targets*. 2018;22(6):513-526. <https://doi.org/10.1080/14728222.2018.1480723>.
80. Gitler AD, Dhillon P, Shorter J. Neurodegenerative disease: models, mechanisms, and a new hope. *Dis Model Mech*. 2017;10(5):499-502. <https://doi.org/10.1242/dmm.030205>.
81. Heemels MT. Neurodegenerative diseases. *Nature*. 2016;539(7628):179. <https://doi.org/10.1038/539179a>.

82. Wyss-Coray T. Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation. *Nature*. 2016;539(7628):180-186. <https://doi.org/10.1038/nature20411>.
83. D'Andrea G, Nordera G, Pizzolato G, et al. Trace amine metabolism in Parkinson's disease: low circulating levels of octopamine in early disease stages. *Neurosci Lett*. 2010;469(3):348-351. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.12.025>.
84. D'Andrea G, Pizzolato G, Gucciardi A, et al. Different circulating trace amine profiles in *de novo* and treated Parkinson's disease patients. *Sci Rep*. 2019;9(1):6151. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42535-w>.
85. Karoum F, Linnoila M, Potter WZ, et al. Fluctuating high urinary phenylethylamine excretion rates in some bipolar affective disorder patients. *Psychiatry Res*. 1982;6(2):215-222. [https://doi.org/10.1016/0165-1781\(82\)90009-9](https://doi.org/10.1016/0165-1781(82)90009-9).
86. Potkin S, Karoum F, Chuang L, et al. Phenylethylamine in paranoid chronic schizophrenia. *Science*. 1979;206(4417):470-471. <https://doi.org/10.1126/science.504988>.
87. Shirkande S, O'Reilly R, Davis B, et al. Plasma phenylethylamine levels of schizophrenic patients. *Can J Psychiatry*. 1995;40(4):221. <https://doi.org/10.1177/070674379504000417>.
88. Sandler M, Ruthven CR, Goodwin BL, et al. Deficient production of tyramine and octopamine in cases of depression. *Nature*. 1979;278(5702):357-358. <https://doi.org/10.1038/278357a0>.
89. Wolf ME, Mosnaim AD. Phenylethylamine in neuropsychiatric disorders. *Gen Pharmacol*. 1983;14(4):385-390. [https://doi.org/10.1016/0306-3623\(83\)90020-4](https://doi.org/10.1016/0306-3623(83)90020-4).
90. Sriram U, Cenna JM, Haldar B, et al. Methamphetamine induces trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) expression in human T lymphocytes: role in immunomodulation. *J Leukoc Biol*. 2016;99(1):213-223. <https://doi.org/10.1189/jlb.4A0814-395RR>.
91. Chen WW, Zhang X, Huang WJ. Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review). *Mol Med Rep*. 2016;13(4):3391-3396. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.4948>.
92. Karpenko MN, Vasilishina AA, Gromova EA, et al. Interleukin-1beta, interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-6, interleukin-10, and tumor necrosis factor-alpha levels in CSF and serum in relation to the clinical diversity of Parkinson's disease. *Cell Immunol*. 2018;327:77-82. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2018.02.011>.

Сведения об авторах / Information about the authors

Сергей Алексеевич Апрытин — канд. биол. наук, старший научный сотрудник Физиологического отдела им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-6543-7495>. SPIN-код: 4250-2758. E-mail: apryatin@mail.ru.

Марина Николаевна Карпенко — канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник Физиологического отдела им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-1082-0059>. SPIN-код: 6098-2715. E-mail: mnkarpenko@mail.ru.

Замира Магомедовна Мурузева — научный сотрудник Физиологического отдела им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-2789-8431>. SPIN-код: 9248-3689. E-mail: zamira.muruzheva@mail.ru.

Мария Валерьевна Большакова — практикантка Физиологического отдела им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-5766-4172>. E-mail: bolshakova.masha37@gmail.com.

Sergey A. Apryatin — PhD, Senior Scientific Researcher, Pavlov Department of Physiology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-6543-7495>. SPIN-code: 4250-2758. E-mail: apryatin@mail.ru.

Marina N. Karpenko — PhD, Senior Scientific Researcher, Pavlov Department of Physiology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-1082-0059>. SPIN-code: 6098-2715. E-mail: mnkarpenko@mail.ru.

Zamira M. Muruzheva — Researcher, Pavlov Department of Physiology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-2789-8431>. SPIN-code: 9248-3689. E-mail: zamira.muruzheva@mail.ru.

Maria V. Bolshakova — Trainee, Pavlov Department of Physiology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-5766-4172>. E-mail: bolshakova.masha37@gmail.com.

Дарья Николаевна Магазенкова — практикантка Физиологического отдела им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-1959-7110>. E-mail: magdash@mail.ru.

Daria N. Magazenkova — Trainee, Pavlov Department of Physiology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-1959-7110>. E-mail: magdash@mail.ru.

Виктор Матвеевич Клименко — д-р мед. наук, профессор, заведующий Физиологическим отделом им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-9701-4537>. SPIN-код: 8709-5642. E-mail: klimenko_victor@mail.ru.

Victor M. Klimenko — MD, PhD, Professor, Head of the Pavlov Department of Physiology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-9701-4537>. SPIN-code: 8709-5642. E-mail: klimenko_victor@mail.ru.

✉ **Контактное лицо / Corresponding author**

Сергей Алексеевич Апрытин / Sergey A. Apryatin
E-mail: apryatin@mail.ru

УДК 616.13-004.6
<https://doi.org/10.17816/MAJ25755>

РОЛЬ ЭНДОТЕЛИЯ В АТЕРОГЕНЕЗЕ: ЗАВИСИМОСТЬ РАЗВИТИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА ОТ СВОЙСТВ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ

Н.С. Парфенова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Для цитирования: Парфенова Н.С. Роль эндотелия в атерогенезе: зависимость развития атеросклероза от свойств эндотелия сосудов // Медицинский академический журнал. – 2020. – Т. 20. – № 1. – С. 23–36. <https://doi.org/10.17816/MAJ25755>

Поступила: 31.01.2020

Одобрена: 19.02.2020

Принята: 02.03.2020

В обзоре приведены некоторые доказательства зависимости развития атеросклероза от свойств эндотелия сосудов. Подробно описаны механизмы атерогенеза, процессы эндотелиального транспорта, в том числе и caveolozависимый путь, а также гемодинамическая гипотеза развития атеросклероза. Обсуждены возможности прямого и рецептор-опосредованного транцитоза липопротеинов через эндотелиальный барьер. Рассмотрена физиологическая функция процесса аутофагии, обеспечивающего внутриклеточный транспорт липопротеинов.

Ключевые слова: эндотелий; транцитоз липопротеинов; caveола; атерогенез.

THE ROLE OF ENDOTHELIUM IN ATHEROGENESIS: DEPENDENCE OF ATHEROSCLEROSIS DEVELOPMENT ON THE PROPERTIES OF VESSEL ENDOTHELIUM

N.S. Parfenova

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: Parfenova NS. The role of endothelium in atherogenesis: dependence of atherosclerosis development on the properties of vessel endothelium. *Medical Academic Journal*. 2020;20(1):23-36. <https://doi.org/10.17816/MAJ25755>

Received: January 31, 2020

Revised: February 19, 2020

Accepted: March 3, 2020

This review discusses development of atherosclerosis as based on the evidence for its dependence on the properties of vessel endothelium. There is a detailed description of the mechanisms of atherogenesis, that were studied earlier, of the processes of endothelial transport, including caveola-dependent pathway and also the hemodynamic hypothesis of atherosclerosis development. The possibilities of the direct and receptor-mediated lipoprotein transcytosis through the endothelial barrier were discussed. A special attention was paid to the physiological function of autophagy responsible for the intracellular lipoprotein transport.

Keywords: endothelium; lipoprotein transcytosis; caveola; atherogenesis.

В настоящее время известно несколько теорий патогенеза атеросклероза, две из которых заслуживают наибольшего внимания [1, 3]. Это прежде всего «холестериновая теория» Н.Н. Аничкова [2], согласно которой основным фактором развития атеросклероза является гиперхолестеринемия, без которой, по словам автора, не может быть атеросклероза [3]. Второе место по значимости занимает «западная» теория, в соответствии с которой пусковым фактором развития атеросклероза становится травма эндотелия, а затем в зоне повреждения начинается воспалительная реакция и происходит накопление холестерина [4, 5].

Интерес к проблеме этиологии и патогенеза атеросклероза обусловлен сложностью и многогранностью этого заболевания, служащего

основной причиной смертности во всем мире. Нельзя не отметить, что в стремительном потоке все новых и новых открытий в области патогенеза атеросклероза взгляды Н.Н. Аничкова не теряют актуальности, и, как было сказано в 2002 г. крупным биохимиком Daniel Steinberg (США), «если бы истинное значение его находок было своевременно оценено, мы сэкономили бы более 30 лет в длительной борьбе за холестериную теорию атеросклероза, а сам Аничков мог бы быть удостоен Нобелевской премии» [6].

Говоря о морфогенезе атеросклеротической бляшки, Н.Н. Аничков неоднократно обращал внимание на исходные, начальные изменения в стенке сосуда, происходящие при гиперхолестеринемии. Он подробно описывал клеточ-

Список сокращений

ЛВП — липопротеины высокой плотности; ЛНП — липопротеины низкой плотности; ЛОНП — липопротеины очень низкой плотности; ТГ — триглицериды; ХЭ — холестеринные эфиры.

ные реакции в субэндотелиальном слое, ни словом не упоминая эндотелий как таковой. Таким образом, и до настоящего времени не вполне ясны важнейшие детали процесса инфильтрации липидами стенки артерий при гиперхолестеринемии, и в частности степень участия эндотелия. Современные исследования морфогенеза атеросклеротической бляшки и патогенеза атеросклероза призваны восполнить этот пробел в инфильтрационной теории Н.Н. Аничкова, в первую очередь это относится к биохимическим исследованиям.

Н.Н. Аничков полагал, что понять морфологические особенности атеросклеротической бляшки невозможно без привлечения биохимии, и в этом смысле был всецело согласен с Р. Вирховом, создателем клеточной патологии, считавшим, что «когда микроскопическое исследование не выявляет никаких изменений в клетке, это еще не повод для окончательных выводов. Химия разъясняет сущность жизненного процесса лучше, чем анатомия. Каждому анатомическому изменению предшествует химическое».

Как ни подходить к анализу механизма развития атеросклероза в целом, нельзя не учесть, что здесь важнейшую роль играют нарушения различных этапов метаболизма липопротеинов с развитием гиперхолестеринемии; об этом легко судить, принимая во внимание биохимические особенности нормального жирового обмена. Именно в сопоставлении с нормой последствия гиперхолестеринемии становятся наиболее явными, что позволяет наметить стратегию борьбы с этим патологическим состоянием.

Метаболизм липопротеинов

Метаболизм липопротеинов изучен и в целом, и в малейших деталях. Липопротеины — это липидизированные белковые частицы, несущие гидрофобные вещества в гидрофильной среде плазмы. Основные классы липопротеинов были описаны J.L. Oncley [7] и J.W. Gofman [8] более полувека тому назад. С учетом возрастания гидратированной плотности липопротеины классифицируют на хиломикроны, липопротеины очень низкой плотности (ЛОНП), липопротеины низкой плотности (ЛНП) и липопротеины высокой плотности (ЛВП) [9]. Говорят также о липопротеинах промежуточной плотности, которые представляют собой «остаточные частицы» метаболизма липидов.

Поверхность липопротеиновой частицы состоит из гидрофильных или амфипатических веществ, таких как фосфолипиды и холестерин, а также аполипопротеинов, которые являют-

ся рецептор-связывающими и регуляторными белками [10]. Центральная часть частицы (ядро липопротеинов) содержит гидрофобные молекулы, такие как триглицериды (ТГ) и сложные холестериновые эфиры (ХЭ).

Липопротеины принимают участие в распределении ТГ между тканями и служат в качестве внеклеточного резервуара холестерина вместе с теми средствами, которые обеспечивают его транспорт [11]. Нарушения липидного метаболизма наблюдаются при сердечно-сосудистых заболеваниях, ожирении и сахарном диабете. Гиперхолестеринемия связана с накоплением холестеринсодержащих частиц липопротеинов в интима и является одной из предпосылок развития атеросклероза [12]. Ниже рассмотрены пути транспортировки различных видов липопротеинов в организме с участием эндотелия.

Транспорт липопротеинов

Функцию переноса ТГ в ткани разделяют между собой хиломикроны и ЛОНП, которые могут быть как экзо-, так и эндогенного происхождения. Триглицериды встраиваются в хиломикроны в энтероцитах и секретируются в лимфу (рис. 1). Новообразованные хиломикроны содержат аполипопротеины В48, АIV, AV, а позже они приобретают аполипопротеины AI, AII, CI, CII, CIII и, наконец, аполипопротеин E. Попадая в ткани, ТГ хиломикронов разрушаются липопротеинлипазой до жирных кислот и утилизируются, а их остатки, связавшись со специфическими рецепторами LRP и LDL, усваиваются в печени [11].

В отличие от экзогенных ТГ, абсорбированных из кишечника, эндогенные ТГ секретируются печенью в виде ЛОНП и содержат аполипопротеин В100 (рис. 2). Впоследствии они приобретают еще и аполипопротеины AI, AII, AIV, CI, CII, CIII и E. По аналогии с хиломикронами триглицериды ЛОНП частично разрушаются в тканях до жирных кислот липопротеинлипазой и превращаются в остаточные частицы ЛОНП [13]. Последние усваиваются в печени, связываясь с рецептором LDL. Следует отметить, что в процессе метаболизма богатые триглицеридами ЛОНП теряют некоторое их количество в обмен на сложные ХЭ от ЛВП [14].

Казалось бы, что переработка печенью остатков ЛОНП может завершить их метаболизм в организме, если бы не то, что утилизация остатков ЛОНП происходит с их «дорасщеплением» печеночной липазой. При этом молекулы ЛОНП немного уменьшаются в размерах, полностью лишаясь апо-С и апо-Е

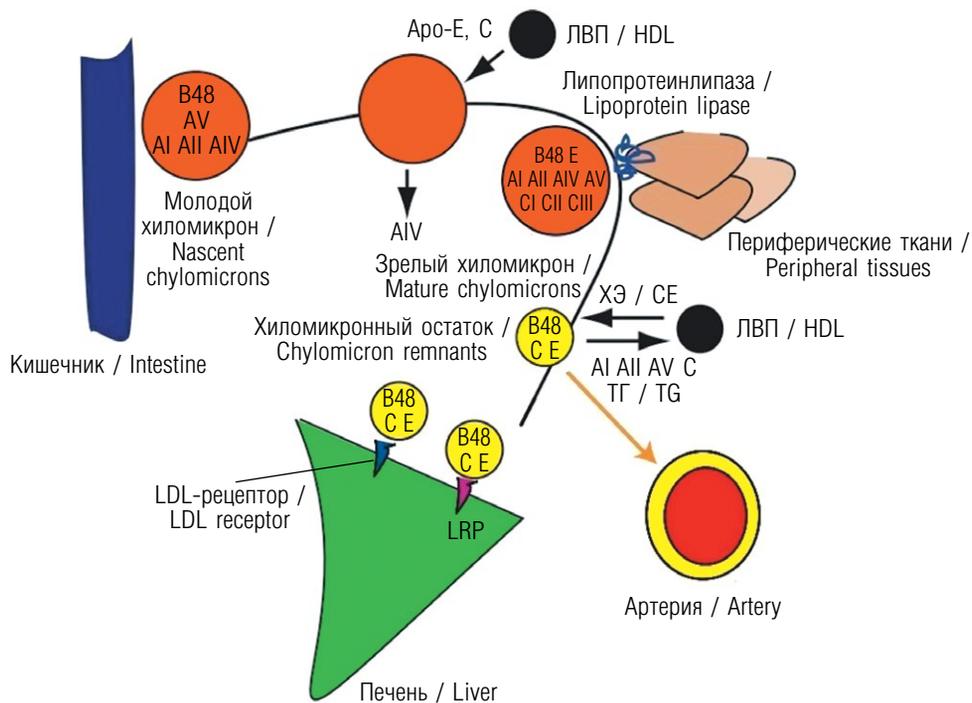


Рис. 1. Метаболизм хиломикронов: ЛВП — липопротеины высокой плотности; ХЭ — холестеринные эстеры; AI, II, IV, V, CI, II, III, E, B-48 — аполипопротеины; ТГ — триглицериды; LDL-рецептор — рецептор липопротеинов низкой плотности; LRP — липопротеиновый рецептор [11]

Fig. 1. Chylomicron metabolism. Chylomicrons transport triglycerides from the intestine to the peripheral tissues: HDL — high density lipoprotein; CE — cholesteryl esters; AI, II, IV, V, CI, II, III, E, B-48 — apolipoproteins; TG — triglycerides; LDL receptor — low density lipoprotein receptor; LRP — low density lipoprotein receptor-related protein [11]

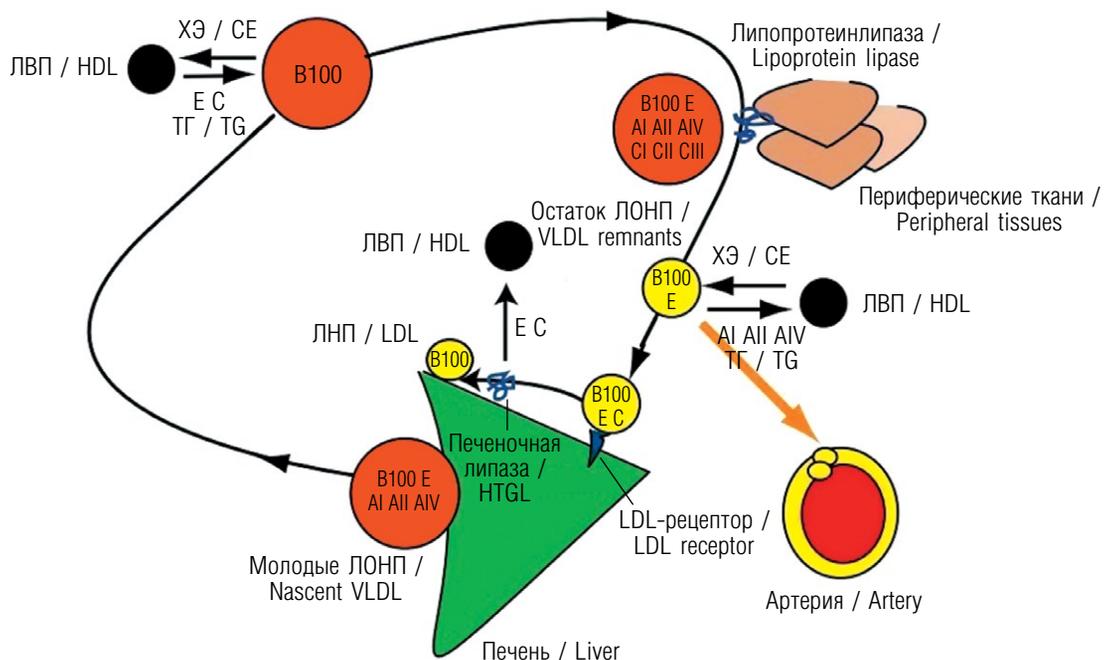


Рис. 2. Метаболизм липопротеинов очень низкой плотности: ЛВП — липопротеины высокой плотности; ЛНП — липопротеины низкой плотности; ЛОНП — липопротеины очень низкой плотности; ТГ — триглицериды; ХЭ — холестероловые эфиры; AI, II, IV, E, CI, II, III, B100 — аполипопротеины; LDL-рецептор — рецептор липопротеинов низкой плотности [11]

Fig. 2. Very low density lipoprotein metabolism: HDL — high density lipoprotein; LDL — low density lipoprotein; VLDL — very low density lipoprotein; TG — triglycerides; CE — cholesteryl esters; AI, II, IV, E, CI, II, III, B100 — apolipoproteins; HTGL — hepatic triglyceride lipase; LDL receptor — low density lipoprotein receptor [11]

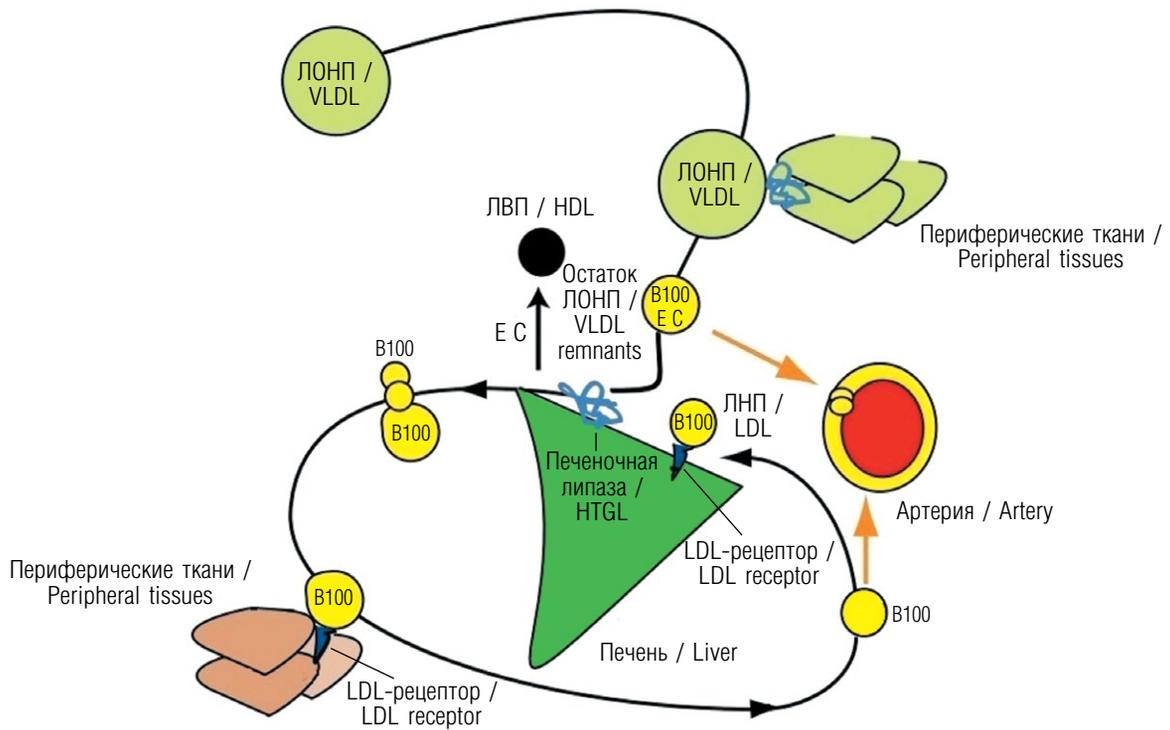


Рис. 3. Метаболизм липопротеинов низкой плотности: ЛВП — липопротеины высокой плотности; ЛНП — липопротеины низкой плотности; ЛОНП — липопротеины очень низкой плотности; E, C, B100 — аполипопротеины; LDL-рецептор — рецептор липопротеинов низкой плотности [11]

Fig. 3. Low density lipoprotein metabolism: HDL — high density lipoprotein; LDL — low density lipoprotein; VLDL — very low density lipoprotein; E, C, B100 — apolipoproteins; HTGL — hepatic triglyceride lipase; LDL receptor — low density lipoprotein receptor [11]

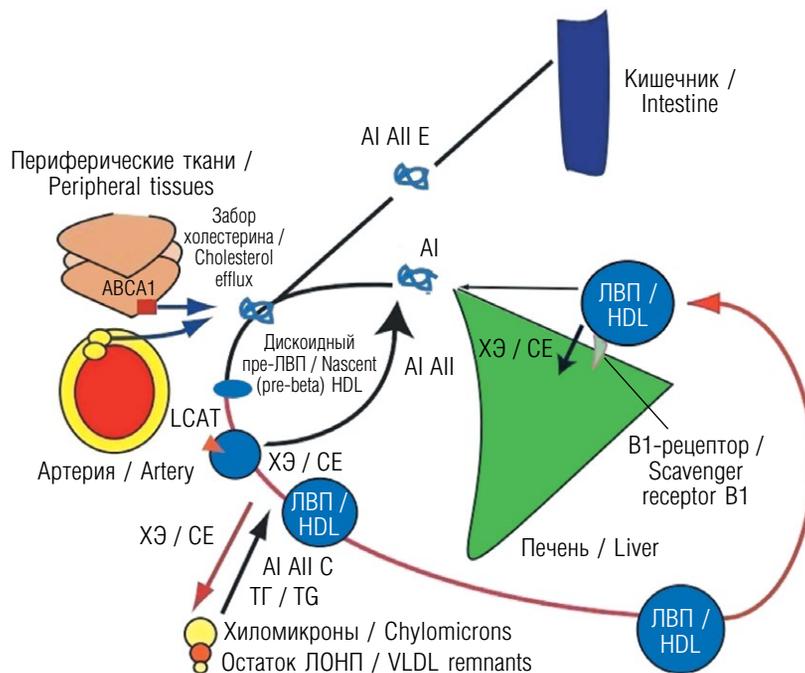


Рис. 4. Метаболизм липопротеинов высокой плотности: ЛВП — липопротеины высокой плотности; ЛОНП — липопротеины очень низкой плотности; ТГ — триглицериды; AI, AII, E, C — аполипопротеины; ХЭ — холестеринные эфиры; ABCA1 — АТФ-связывающий кассетный транспортер А1; LCAT — лецитинхолестеринацил-трансфераза [11]

Fig. 4. High density lipoprotein metabolism: HDL — high density lipoprotein; VLDL — very low density lipoprotein; TG — triglycerides; AI, AII, E, C — apolipoproteins; CE — cholesteryl esters; ABCA1 — ATP-binding cassette transporter A1; LCAT — lecithin cholesteryl-ester transferase [11]

(которые переносятся на ЛВП) и превращаются в ЛНП [15].

Дальнейший метаболизм ЛНП показан на рис. 3. Аполипопротеин В-100, составляющий основу ЛНП, контролирует их утилизацию через связывание с LDL-рецептором. Липопротеины низкой плотности служат основным депо внеклеточного холестерина. При снижении концентрации холестерина в клетке повышается экспрессия рецептора LDL, что увеличивает поглощение холестерина [15].

Липопротеины высокой плотности образуются из аполипопротеина А (рис. 4), который секретируется как печенью, так и кишечником с формированием пре-ЛВП — особых частиц дискоидной формы. Они захватывают холестерин посредством мембранного АТФ-связывающего транспортера А1 (ABCA1), который контролирует отток свободного холестерина из клеток. Холестерин с помощью лецитинхолестеринацилтрансферазы превращается в ХЭ, которые перемещаются с поверхности ЛВП внутрь, в ядро, освобождая место для захвата нового свободного холестерина. По мере накопления ХЭ дискоидный ЛВП превращается в сферический. Затем ЛВП обмениваются сложными ХЭ с частицами, богатыми ТГ, а в конце этого цикла ЛВП поглощаются печенью через рецептор В1 вместе с остатками ХЭ.

Метаболизм ЛВП — основной путь удаления избытка холестерина из тканей для по-

следующей переработки в печени [16]. Однако ЛВП выполняют и другую функцию — они удаляют холестерин из печени и перемещают его в ЛОНП и остаточные частицы ЛОНП [17]. Все это свидетельствует, что ЛВП, как и ЛНП, способствуют поддержанию внеклеточного пула холестерина.

Эндотелиальный транцитоз

Транспорт липопротеинов через клеточную мембрану контролируется эндотелиальными клетками посредством транцитоза [35, 36]. Эти клетки выстилают тонким слоем просвет артерий и вен, стенки которых состоят из гладкомышечных клеток и соединительной ткани. Как показано N. Rahimi [33], эндотелиоциты формируют своеобразный барьер, состоящий из специализированных межклеточных контактов. Последние регулируют свободное перемещение молекул из кровотока между эндотелиоцитами в периваскулярное пространство [33]. Эндотелиальный барьер проницаем для воды и молекул диаметром менее 6 нм, но почти непроницаем для макромолекул [34].

Процесс транцитоза включает в себя три фазы: фазу эндоцитоза макромолекул из окружающей клетки внешней среды, фазу их транспортировки через цитоплазму и фазу выделения, получившую название экзоцитоза [37].

В зависимости от «дорожной карты» транцитоза (рис. 5), то есть маршрута, по которому

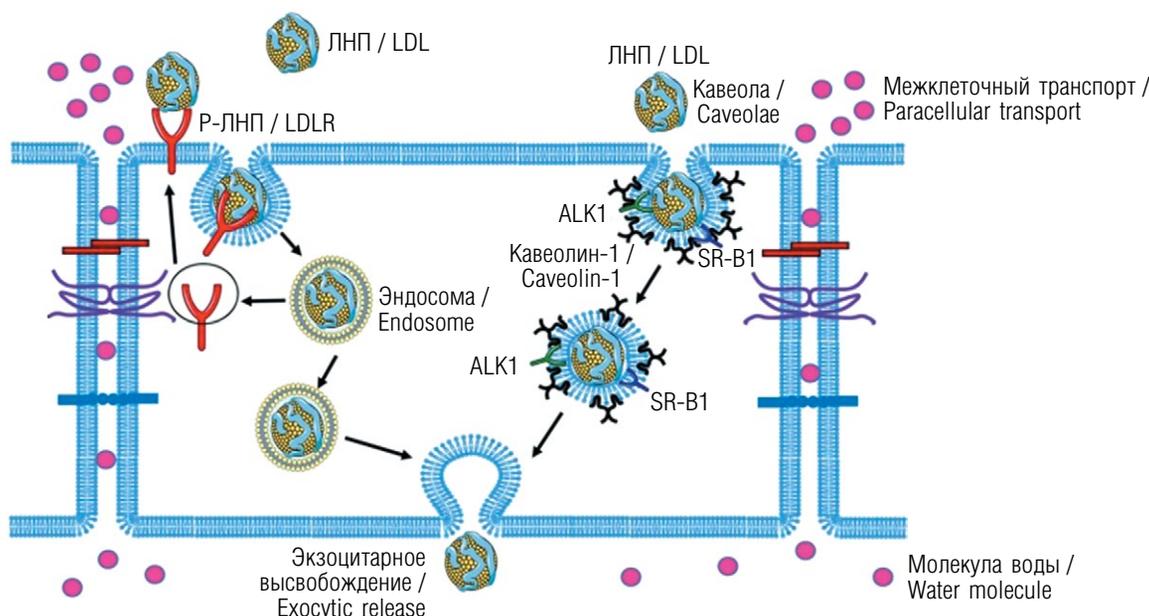


Рис. 5. Транспорт липопротеинов низкой плотности через эндотелий: ЛНП — липопротеины низкой плотности; P-ЛНП — рецептор липопротеинов низкой плотности; ALK1 — активин-рецептороподобная киназа; SR-B1 — сквенджер «мусорщик» рецептор B1 [32]

Fig. 5. Low density lipoprotein transport through the endothelium: LDL — low density lipoprotein; LDLR — LDL receptor; ALK1 — activin receptor-like kinase; SR-B1 — scavenger receptor B1 [32]

липопротеины и другие макромолекулы транспортируются через клетку, трансцитоз может быть прямым или опосредованным.

Так, при прямом трансцитозе осуществляется непосредственный перенос молекул с внешней стороны клеточной мембраны на ее внутреннюю сторону без образования особой структуры типа промежуточной эндосомы [38]. Наиболее распространенным маршрутом прямого трансцитоза в эндотелии является так называемый кавеолоопосредованный путь, изученный в последние годы и описанный ниже.

В случае рецептор-опосредованного пути различные молекулы, связавшиеся со своим рецептором на поверхности клетки и путем эндоцитоза встроившиеся в эндосому, перемещаются к противоположной стороне клеточной мембраны, где и выделяются путем экзоцитоза [38]. Иными словами, непрямой трансцитоз — рецептор-специфичный процесс, реализуемый посредством взаимодействия транспортируемых молекул с рецепторами на поверхности клетки.

Кавеолы и эндотелиальный трансцитоз

В процессе эндотелиального трансцитоза липопротеины принимают активное участие кавеолы. Это колбообразные инвагинации плазматической мембраны клеток диаметром 60–80 нм (рис. 6), которые с момента их открытия в середине прошлого века не перестают удивлять исследователей [18, 19]. Кавеолы могут существовать в виде одиночных впячиваний или же образовывать скопления таковых [28]. Эти инвагинации образуются в результате полимеризации мембранных белков рецептор-независимого эндоцитоза (белки-кавеолы) и содержат множество липидных компонентов, включая холестерин и сфинголипиды. У позвоночных животных существует

три типа кавеолинов со сходной структурой: кавеолин-1, -2 и -3.

В ранних исследованиях главными функциями кавеол считали участие в процессах эндоцитоза, трансцитоза и внутриклеточной сигнальной трансдукции, что было неоднократно подтверждено [20–22, 29, 32]. Проведены работы и по изучению экспериментального дефицита кавеол [30, 31].

Помимо этого известно, что кавеолы используются разными патогенами как в качестве прямых ворот для проникновения в клетку путем эндоцитоза [23], так и для облегчения проникновения частиц диаметром больше 80 нм [24].

Было доказано, что нарушение функции кавеол связано с некоторыми заболеваниями. Так, мутации в генах, кодирующих синтез структурных белков-кавеолинов, были обнаружены при раке молочной железы и различных формах миодистрофий [25–27].

Тем не менее, несмотря на широкий спектр внутриклеточных процессов с вовлечением кавеол, одним из наиболее важных из них представляется участие кавеол в эндотелиальном трансцитозе липопротеинов, нарушения которого ведут к развитию атеросклероза, что было продемонстрировано в одной из последних работ С.М. Ramírez et al. [39]. Основным выводом этого исследования заключается в том, что делеция Cav1 подавляет развитие атеросклероза в эксперименте на мышах. По мнению этих авторов, процесс происходит за счет уменьшения трансцитоза ЛНП и иммунного воспаления интимы сосудов, но не за счет увеличения продукции NO, как это представлялось ранее [84, 85].

Результаты интенсивного изучения кавеоларной теории атерогенеза обогащают существующие представления о механизмах этого процесса, но не отменяют значения других факторов, из которых важнейшим является гемодинамический.

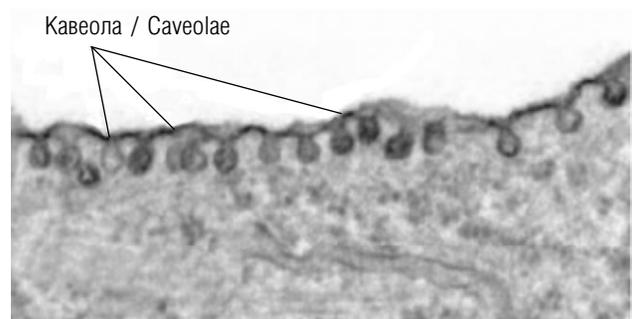
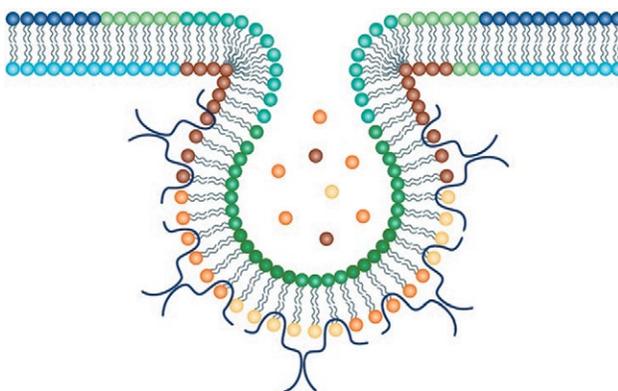


Рис. 6. Кавеола: схема (слева) и электронограмма (справа) [28]

Fig. 6. Caveola: schematic (left) and electron micrograph (right) [28]

Почему бляшки ложатся не диффузно по всей артерии, а очагово? Гемодинамический фактор атеросклероза

Гемодинамическому фактору в морфогенезе атеросклероза не всегда уделяли должного внимания, но работы в этом направлении проводят достаточно давно. Утолщение интимы, лишенное признаков атеросклероза или других болезненных процессов, было описано в аорте человека в 1883 году R. Thoma [42], который предположил, что оно является универсальным признаком в развитии артерий человека. В начале 1920-х годов одна из многолетних сотрудниц Н.Н. Аничкова — К.Г. Волкова обнаружила такое утолщение интимы в коронарных артериях новорожденных, детей и взрослых, а также у некоторых видов животных [43, 44].

В 1992 г. Н.С. Stary [45] опубликовал серию работ, в которых по данным 1286 аутопсий было представлено развитие атеросклеротических изменений в артериях людей различного возраста. Одна из целей этой работы состояла в том, чтобы найти наиболее ранние изменения толщины стенки строго определенных мест коронарных артерий и аорты у детей с последующим исследованием этих же зон во взрослой популяции. Н.С. Stary предположил, что существует тесная связь между ранним утолщением интимы и последующим развитием атеросклероза в том же месте, а зоны утолщения являются физиологической адаптацией артерии к локальному изменению напряжения сдвига [46].

Напряжение сдвига (shear stress) — это сила, действующая на верхний слой ламинарно текущей жидкости и вызывающая смещение нижележащих слоев относительно друг друга в направлении действующей силы. Эндотелий рассматривают как пласт ламинарного потока, неспособный к движению вместе с кровью, но деформирующийся в ответ на воздействие. Клетки эндотелия приобретают эллипсоидную форму и вытягиваются в направлении движения крови; внутри эндотелиоцитов изменяется ориентация органелл [48, 55, 72]. При деформации эндотелиальной мембраны активируются ионные каналы, изменяется гликокаликс и белки цитоскелета, а также возбуждаются тирозинкиназные механорецепторы на поверхности клеток [62]. При этом запускаются системы внутриклеточных мессенджеров и синтез биологически активных веществ, оказывающих широкий спектр местных и системных регуляторных воздействий.

Характер ответа эндотелия зависит от величины, направления и постоянства напряжения сдвига как вектора. Крупные артерии характе-

ризуются высоким напряжением сдвига в пределах 10–30 дин/см² [65, 71].

Наиболее изучен эндотелиальный ответ на напряжение сдвига в экспериментальных исследованиях культуры клеток внутренней оболочки пупочной вены, коронарной и сонной артерий человека и родственных животных. При этом выяснено, как влияют физические факторы и дисфункция эндотелия на развитие атеросклеротических изменений. В отношении жизнеспособности эндотелия было показано, что как нормальные (физиологические), так и повышенные значения напряжения сдвига способны тормозить апоптоз клеток [50, 56] и ускорять закрытие дефекта внутренней оболочки сосуда [47, 72]. Последнее происходит преимущественно за счет изменения формы и миграции клеток, в то время как митогенная активность эндотелия под действием напряжения сдвига подавляется вплоть до полного торможения при значениях 90 дин/см² при постоянном кровотоке и 13 дин/см² — при пульсирующем [60]. Таким образом, физиологические значения напряжения сдвига позволяют поддерживать целостность интимы, будучи не фактором роста, а лишь фактором «выживания» эндотелия [71].

Еще одним ангиопротективным механизмом является подверженный регуляторному воздействию напряжения сдвига синтез эндотелием веществ, оказывающих дезагрегантный и антикоагулянтный эффекты. Среди них наиболее изучен синтез эндотелий-релаксирующего фактора (монооксида азота, NO) и простагландина I₂ (простациклина).

Монооксид азота обладает антипролиферативными и сосудорасширяющими свойствами [52], а также тормозит агрегацию тромбоцитов [67] и уменьшает миграцию лейкоцитов [58]. Усиленный синтез NO в ответ на увеличение напряжения сдвига рассматривают как механизм тромборезистентности. В экспериментальных исследованиях показано, что напряжение сдвига способно стимулировать синтез NO эндотелиоцитами [68, 63], при этом клеточный ответ может носить двухфазный характер [59]. На первом этапе происходит быстрый выброс NO, не зависящий от величины напряжения сдвига, а некоторое время спустя начинается второй, более длительный этап синтетической активности, интенсивность которой зависит от величины физического воздействия.

Простагландин I₂ — продукт метаболизма арахидоновой кислоты, синтезируемый главным образом эндотелиоцитами. Он обладает мощным антитромботическим, антикоагуляционным, антиадгезивным эффектом, сти-

мулирует фибринолиз, а также способствует вазодилатации и активирует коллатеральный кровоток. По данным ряда экспериментов, при привычном для артериального русла уровне напряжения сдвига $10\text{--}24$ дин/см² возможно повышение синтеза простаглицина в культуре эндотелиальных клеток [51, 53, 64]. При этом количество медиатора увеличивается по аналогии с NO в две фазы — раннее высвобождение в течение первых двух минут стимуляции [53] и последующее повышение синтеза за счет активации арахидонового каскада и повышенной экспрессии гена циклооксигеназы [64, 70].

Среди других механизмов тромборезистентности на фоне физиологических значений напряжения сдвига ($13\text{--}25$ дин/см²) наблюдали усиление синтеза эндотелиоцитами естественных антикоагулянтов и активаторов фибринолиза — ингибитора пути тканевого фактора, тромбомодулина, тканевого активатора плазминогена — и уменьшение выделения прокоагуляционных агентов — тканевого фактора, ингибитора активатора плазминогена-1 [49, 54, 57, 61, 69].

Таким образом, интенсивность реакции эндотелия повышалась с ростом напряжения сдвига. Отмечены и качественные особенности, то есть связь реакции эндотелия с характером физического воздействия, а именно превосходство пульсирующего режима (аналогично крупным артериальным сосудам) над постоянным в силе эндотелиальным ответом [51, 63]. Вместе с тем турбулентный кровоток вследствие быстрого изменения направления и относительно невысокой величины напряжения сдвига не приводит к ангиопротективному ответу эндотелия, а, наоборот, потенцирует клеточную пролиферацию, апоптоз, продукцию факторов коагуляции, агрегации и вазоконстрикции с развитием патологических изменений в сосудистой стенке [55, 63, 66, 70].

Итак, умеренное повышение напряжения сдвига может приводить к ангиопротективному ответу эндотелия. Одной из причин приспособительного утолщения интимы можно считать ее реакцию в ответ на уменьшение напряжения сдвига сосудистой стенки в какой-то области. Адаптивное утолщение вызывает уменьшение диаметра просвета сосуда и возрастание скорости кровотока на этом участке с восстановлением напряжения сдвига до базовых значений. Другой причиной приспособительного утолщения интимы является реакция эндотелия на увеличенное напряжение растяжения сосуда, где интима утолщается, чтобы укрепить стенки артерии и, как следствие, поддержать нормальные значения напряжения растяжения.

Для описания характера утолщений используют два термина — «эксцентричное» и «диффузное» (без четкого их разделения). Эксцентричное утолщение представляет собой локальное увеличение толщины интимы, расположенное в местах разветвления артерии, занимает примерно половину окружности материнского и дочернего сосудов и продолжается на небольшое расстояние по длине бифуркации. Диффузное утолщение, напротив, распространяется по всей окружности и явно не связано с геометрической конфигурацией артерий.

Связь между адаптивным утолщением интимы и атеросклерозом

По мнению Н.С. Stary [45], развивавшего концепцию R. Thoma [42], существует определенная взаимосвязь между адаптивным утолщением интимы и атеросклерозом. Все дело в том, что при избыточном количестве липопротеинов в плазме они проявляют тенденцию накапливаться прежде всего в той области интимы, которая подверглась адаптивному утолщению. Именно поэтому к этим зонам применим термин «склонные к прогрессированию». Гемодинамические силы вызывают утолщение независимо от того, присутствуют ли высокие концентрации атерогенных липопротеинов или нет. Однако совмещение зон раннего утолщения интимы с более или менее выраженным накоплением липидов подтверждает мнение, что адаптивное утолщение составляет часть атеросклеротического процесса. Идеи Н.С. Stary о роли напряжения сосудистого сдвига в патогенезе атеросклероза получили продолжение в исследовании группы авторов под руководством С. Cheng [73]. Они опубликовали работу, цель которой заключалась в проверке *in vivo* гипотезы, что снижение напряжения сдвига влияет на избыточное накопление липидов в этом месте сосуда. Были изучены также параметры кровотока в сонных артериях мышей после установки на внешней стороне этих артерий небольших муфт, конически суживавших просвет сосуда; контрольными являлись артерии без муфты (рис. 7).

Иными словами, С. Cheng et al. удалось смоделировать такой тип кровотока, при котором в сонных артериях мышей возникали зоны повышенных, пониженных и вихревых напряжений сдвига. Были получены убедительные морфометрические данные, что атеросклеротические поражения неизменно развивались именно в регионах с пониженным или вихревым напряжением сдвига, тогда как в областях повышенного напряжения они отсутствовали (рис. 8).

Рис. 7. Схематичное изображение модели напряжения сдвига, полученной при помощи манжеты. *Справа:* прямой сегмент сонной артерии мыши (без манжеты), имеющий ламинарный кровоток (обозначен параллельными стрелками). На основе доплерографии среднее напряжение сосудистого сдвига было рассчитано как 15 Н/м^2 . *Слева:* сонная артерия мыши, имеющая форму конуса из-за подсоединенной наружной манжеты. До сужения давление сосудистого сдвига относительно низкое (по сравнению с контрольным сосудом) — 10 Н/м^2 и вызвано ограничивающим кровоток стенозом артерии. Внутри стенотической части напряжение сдвига увеличивается от относительно низкого (10 Н/м^2) до относительно высокого (25 Н/м^2). На выходе регистрируется вихревое напряжение сдвига со средним диапазоном (14 Н/м^2) [73]

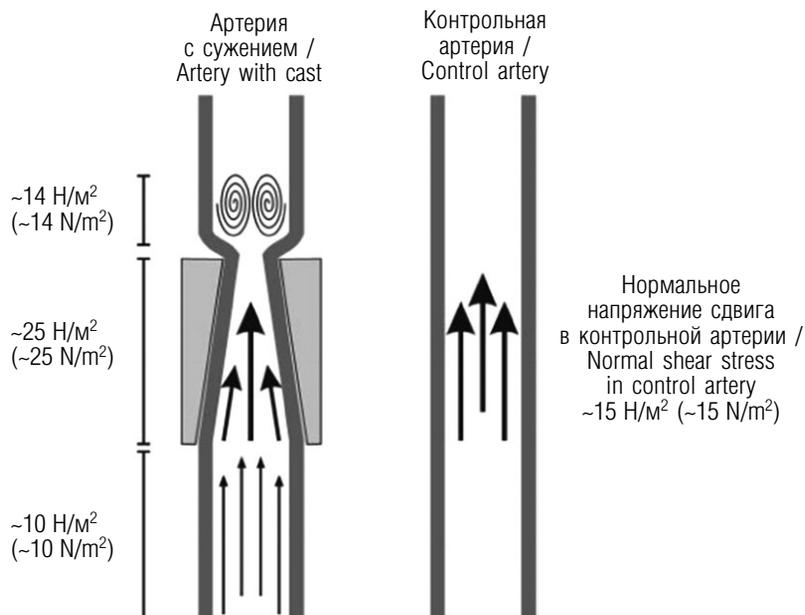


Fig. 7. Schematic representation of the shear stress patterns induced by the cast. On the right, straight segment of a mouse carotid artery without a cast, which has laminar blood flow (indicated by parallel arrows). Based on Doppler measurements, the average shear stress has been calculated as 15 N/m^2 . On the left, mouse carotid artery with the conical cast. Upstream from the cast, shear stress is relatively low (compared with the shear stress in the control vessel), 10 N/m^2 , caused by the flow-limiting stenosis induced by the cast. Within the cast, shear stress increases from relatively low (10 N/m^2) to relatively high (25 N/m^2) because of the tapered shape of the cast. Downstream from the cast, shear stress is oscillatory ($\sim 14 \text{ N/m}^2$) [73]

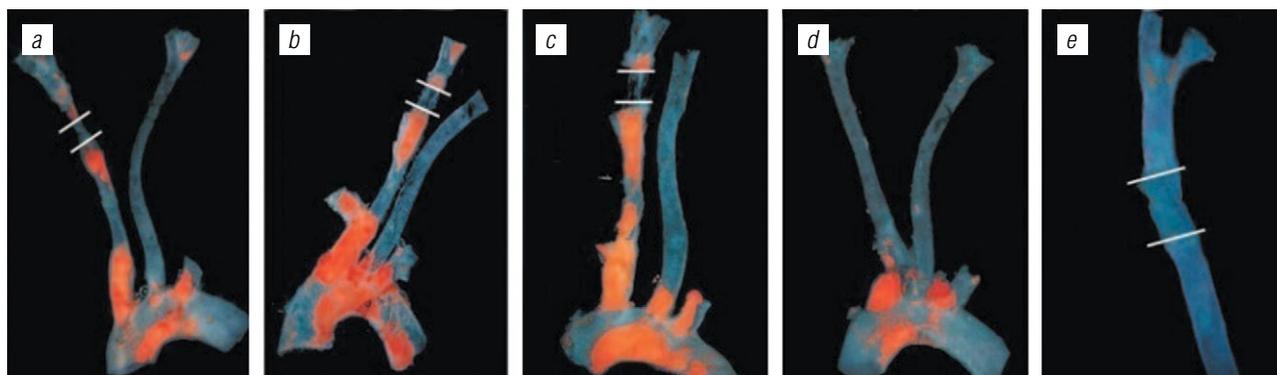


Рис. 8. Зоны пониженного и вихревого напряжения сосудистого сдвига, способствующие развитию атеросклероза у мышей, получавших атерогенную западную диету [73]. Дугу аорты и каротидную артерию окрашивали при помощи судана красного для выявления атеросклеротических поражений. Белые линии показывают место фиксации манжеты. Проксимальнее от нее находится область пониженного напряжения сосудистого сдвига, дистальнее — вихревая зона. Манжету устанавливали животным после двухнедельного нахождения на атерогенной диете. Затем последовательно выводили мышей из эксперимента на 6-й (a), 9-й (b) и 12-й (c–e) неделе. При исследовании сонных артерий у контрольной группы (d) или мышей с нестенозирующей манжетой (e) не было обнаружено признаков атеросклероза. Каждая экспериментальная группа мышей состояла из 6–8 особей

Fig. 8. Lowered shear stress and vortices with oscillatory shear stress induce atherosclerosis in mice fed on atherogenic Western diet [73]. Aortic arches and carotid arteries were stained with Oil red O for atherosclerotic lesions. White lines demarcate the position of the cast. Upstream from the cast is the lowered shear stress region, and downstream from the cast is the oscillatory shear stress region. Animals were instrumented with a cast 2 weeks after starting the diet. Next animals were humanely killed after 6 (a), 9 (b), or 12 (c–e) weeks of cast placement. No lesions were detected in the carotid arteries of either sham-operated mice (d) or animals instrumented with a nonconstrictive cast (e). Each of experimental mice groups consists of 6 to 8 animals

Помимо повышенного накопления липидов в вышеописанных областях ($15,8 \pm 0,9$ против $10,2 \pm 0,5$ %), было также выявлено, что в зонах пониженного напряжения сдвига комплексы интима – медиа были заметно толще контрольных ($1,38 \pm 0,68$ против $0,22 \pm 0,04$ %), содержали меньше гладкомышечных клеток ($1,9 \pm 1,6$ против $26,3 \pm 9,7$ %) и коллагена ($15,3 \pm 1,0$ против $22,2 \pm 1,0$ %).

Дальнейший научный поиск причинно-следственных связей между напряжением сосудистого сдвига и развитием атеросклероза связан с активным изучением аутофагии, играющей важную роль в поддержании клеточного гомеостаза [75, 76]. Аутофагию можно рассматривать как процесс внутриклеточного транспорта, посредством которого различные компоненты, включая растворимые белки и белковые агрегаты, углеводы, липиды, мембраны, компоненты цитоскелета и органеллы, доставляются в лизосомы и разрушаются там гидролазами. При этом продуцируются метаболиты, которые могут быть переработаны для использования в новых биосинтетических реакциях или же перенаправлены на метаболические пути, генерирующие АТФ [74]. Роль аутофагии в поддержании цитоплазматического гомеостаза здоровых и больных клеток активно исследуется, но до сих пор относительно мало известно о механизмах аутофагии в стенке сосудов в целом и в эндотелиоцитах в частности [77–79]. Тем не менее опубликованы работы, экспериментально доказывающие, что нарушения аутофагии в эндотелиальной выстилке интимы способствуют возникновению атеросклеротических изменений [80].

Причины этого до конца не выяснены, поэтому необходимы дальнейшие более подробные исследования. Однако в экспериментах S.K. Park et al. [81] доказали, что увеличение сосудистого сдвига влияет на активацию аутофагии и продукцию оксида азота в эндотелиальных клетках. Учитывая несколько важнейших функций оксида азота в эндотелии, таких как вазодилатация [82], снижение адгезии к эндотелию лейкоцитов [58], снижение пролиферации гладкомышечных клеток сосудов [83], можно предположить, что наличие физиологического сосудистого сдвига обеспечивает правильность процессов аутофагии в эндотелиальной клетке, тем самым благотворно влияя на синтез эндотелием оксида азота с его антиатерогенным эффектом.

Найдет ли эта теория подтверждение, пока неизвестно. Тем не менее дальнейшие исследования молекулярных механизмов возникновения и развития атеросклероза неизбежно

приведут к появлению новых лечебных тактик борьбы с этим широко распространенным и тяжелым заболеванием.

Заключение

Есть все основания полагать, что биохимические данные, полученные в последние годы, восполняют пробел в инфльтрационной теории Н.Н. Аничкова, касающейся патогенеза атеросклероза. Субэндотелиальное накопление проатерогенных липопротеинов, в том числе ЛНП, представляет собой ключевой момент в начальном этапе развития атеросклероза [40]. Транспорт атерогенных частиц через эндотелий происходит посредством транцитоза, который включает в себя эндоцитоз, перенос субстанции через цитоплазму и ее экзоцитарное высвобождение. Существует также и антиатерогенный путь, когда холестерин из субэндотелиального пространства в системный кровоток попадает путем ЛВП-опосредованного обратного транспорта [40].

Данные литературы последних лет свидетельствуют, что фаза эндоцитоза при транцитозе липопротеинов изучена относительно хорошо, чего нельзя сказать о других его фазах, особенно о регуляции внутриклеточного движения транспортируемых веществ и экзоцитоза. Предстоит найти ответ на вопрос о возможном изменении состава липопротеинов в процессе эндотелиального переноса. Транцитоз ЛВП, в отличие от ЛНП, гораздо менее изучен. Например, предстоит выяснить, как, исходя из двойной роли SR-B1 во внутриклеточном переносе и ЛНП, и ЛВП, сбалансировать эти различные пути для предотвращения атерогенеза.

Несмотря на многие трудности, стоящие перед исследователями, уже сегодня разработаны и применяются в медицине лекарственные носители, нацеленные на кавеолозависимый путь эндотелиального транцитоза [41].

К сожалению, исследования проникновения липопротеинов через интиму ограничены невозможностью прямого наблюдения или контроля этого процесса *in vivo*. Тем не менее ряд современных технологий, используемых при анализе *in vitro*, а также дальнейшее развитие методов микроскопии сверхвысокого разрешения и визуализации живых клеток будут, несомненно, способствовать ускорению изучения молекулярной регуляции и механизмов клеточного транспорта липопротеинов.

Более глубокое понимание механизмов и закономерностей, обеспечивающих транспорт липопротеинов через эндотелиоциты, может

помочь в разработке препаратов таргетной терапии. Иначе говоря, появится возможность лечить атеросклероз на его начальных этапах и тем самым предотвратить его прогрессирование с развитием хорошо известных тяжелых осложнений.

Литература

1. Аймагамбетова А.О. Атерогенез и воспаление. Обзор литературы // Наука и здравоохранение. – 2016. – № 1. – С. 24–39. [Aimagambetova AO. Atherogenesis and inflammation. *Nauka I zdravookhranenie*. 2016;(1):24-39. (In Russ.)]
2. Anichkov N, Chalатов S. Über experimentelle Cholesterinsteatose: Ihre Bedeutung für die Entstehung einiger pathologischer Prozessen. *Zentrbl Allg Pathol Pathol Anat*. 1913;24:21-29.
3. Лиходед В.Г., Бондаренко В.М., Гинцбург А.Л. Экзогенные и эндогенные факторы в патогенезе атеросклероза. Рецепторная теория атерогенеза // Российский кардиологический журнал. – 2010. – Т. 15. – № 2. – С. 92–96. [Likhoded VG, Bondarenko VM, Gintzburg AL. Exogenous and endogenous factors in atherosclerosis pathogenesis. Receptor theory of atherogenesis. *Russian journal of cardiology*. 2010;15(2):92-96. (In Russ.)]
4. Adler I. Studies in experimental atherosclerosis: a preliminary report. *J Exp Med*. 1914;20(2):93-107. <https://doi.org/10.1084/jem.20.2.93>.
5. Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science*. 1973;180(4093):1332-1339. <https://doi.org/10.1126/science.180.4093.1332>.
6. Лазебник Л.Б. К 125-летию со дня рождения Н.Н. Аничкова // Клиническая геронтология. – 2011. – Т. 17. – № 1–2. – С. 81–83. [Lazebnik LB. The 125-jubilee of N.N. Anichkov's birth. *Klinicheskaja gerontologija*. 2011;17(1-2):81-83. (In Russ.)]
7. Oncley JL. Lipoproteins of human plasma. *Harvey Lect*. 1954-1955;50:71-91.
8. Gofman JW, Jones HB, Lindgren FT, et al. Blood lipids and human atherosclerosis. *Circulation*. 1950;2(2):161-178. <https://doi.org/10.1161/01.cir.2.2.161>.
9. Durrington P. Dyslipidaemia. *Lancet*. 2003;362(9385):717-731. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)14234-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(03)14234-1).
10. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*. 1986;232(4746):34-47. <https://doi.org/10.1126/science.3513311>.
11. Dominiczak MH, Caslake MJ. Apolipoproteins: metabolic role and clinical biochemistry applications. *Ann Clin Biochem*. 2011;48(Pt 6):498-515. <https://doi.org/10.1258/acb.2011.011111>.
12. Tabas I, Williams KJ, Boren J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. *Circulation*. 2007;116(16):1832-1844. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.676890>.
13. Cohn JS, Marcoux C, Davignon J. Detection, quantification, and characterization of potentially atherogenic triglyceride-rich remnant lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(10):2474-2486. <https://doi.org/10.1161/01.atv.19.10.2474>.
14. Mann CJ, Yen FT, Grant AM, Bihain BE. Mechanism of plasma cholesteryl ester transfer in hypertriglyceridemia. *J Clin Invest*. 1991;88(6):2059-2066. <https://doi.org/10.1172/JCI115535>.
15. Havel RJ. The formation of LDL: mechanisms and regulation. *J Lipid Res*. 1984;25(13):1570-1576.
16. Florentin M, Liberopoulos EN, Wierzbicki AS, Mikhailidis DP. Multiple actions of high-density lipoprotein. *Curr Opin Cardiol*. 2008;23(4):370-378. <https://doi.org/10.1097/HCO.0b013e3283043806>.
17. Bruckert E, Hansel B. HDL-c is a powerful lipid predictor of cardiovascular diseases. *Int J Clin Pract*. 2007;61(11):1905-1913. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2007.01509.x>.
18. Parton RG, Tillu VA, Collins BM. Caveolae. *Curr Biol*. 2018;28(8):R402-R405. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.11.075>.
19. Lamaze C, Tardif N, Dewulf M, et al. The caveolae dress code: structure and signaling. *Curr Opin Cell Biol*. 2017;47:117-125. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2017.02.014>.
20. Lisanti MP, Tang Z, Scherer PE, et al. Caveolae, transmembrane signalling and cellular transformation. *Mol Membr Biol*. 1995;12(1):121-124. <https://doi.org/10.3109/09687689509038506>.
21. Kurzchalia TV, Partan RG. Membrane microdomains and caveolae. *Curr Opin Cell Biol*. 1999;11(4):424-431. [https://doi.org/10.1016/s0955-0674\(99\)80061-1](https://doi.org/10.1016/s0955-0674(99)80061-1).
22. Williams TM, Lisanti MP. Caveolin-1 in oncogenic transformation, cancer, and metastasis. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2005;288(3):C494-506. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00458.2004>.
23. Pelkmans L, Kartenbeck J, Helenius A. Caveolar endocytosis of simian virus 40 reveals a new two-step vesicular-transport pathway to the ER. *Nat Cell Biol*. 2001;3(5):473-483. <https://doi.org/10.1038/35074539>.
24. Shin JS, Gao Z, Abraham SN. Involvement of cellular caveolae in bacterial entry into mast cells. *Science*. 2000;289(5480):785-788. <https://doi.org/10.1126/science.289.5480.785>.
25. Hayashi K, Matsuda S, Machida K, et al. Invasion activating caveolin-1 mutation in human scirrhous breast cancers. *Cancer Res*. 2001;61(6):2361-2364.

26. Williams TM, Cheung MW, Park DS, et al. Loss of caveolin-1 gene expression accelerates the development of dysplastic mammary lesions in tumor-prone transgenic mice. *Mol Biol Cell*. 2003;14(3):1027-1042. <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-08-0503>.
27. Woodman SE, Sotgia F, Galbiati F, et al. Caveolinopathies: mutations in caveolin-3 cause four distinct autosomal dominant muscle diseases. *Neurology*. 2004;62(4):538-543. <https://doi.org/10.1212/wnl.62.4.538>.
28. Parton RG, Simons K. The multiple faces of caveolae. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(3):185-194. <https://doi.org/10.1038/nrm2122>.
29. Fra AM, Williamson E, Simons K, Parton RG. *De novo* formation of caveolae in lymphocytes by expression of VIP21-caveolin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(19):8655-8659. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.19.8655>.
30. Drab M, Verkade P, Elger M, et al. Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice. *Science*. 2001;293(5539):2449-2452. <https://doi.org/10.1126/science.1062688>.
31. Galbiati F, Engelman JA, Volonte D, et al. Caveolin-3 null mice show a loss of caveolae, changes in the microdomain distribution of the dystrophin-glycoprotein complex, and t-tubule abnormalities. *J Biol Chem*. 2001;276(24):21425-21433. <https://doi.org/10.1074/jbc.M100828200>.
32. Zhang X, Sessa WC, Fernandez-Hernando C. Endothelial transcytosis of lipoproteins in atherosclerosis. *Front Cardiovasc Med*. 2018;5:130. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00130>.
33. Rahimi N. Defenders and challengers of endothelial barrier function. *Front Immunol*. 2017;8:1847. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01847>.
34. J MS, Graindorge A, Soldati-Favre D. New insights into parasite rhomboid proteases. *Mol Biochem Parasitol*. 2012;182(1-2):27-36. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2011.11.010>.
35. Mehta D, Malik AB. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability. *Physiol Rev*. 2006;86(1):279-367. <https://doi.org/10.1152/physrev.00012.2005>.
36. Minshall RD, Malik AB. Transport across the endothelium: regulation of endothelial permeability. *Handb Exp Pharmacol*. 2006(176 Pt 1):107-144. https://doi.org/10.1007/3-540-32967-6_4.
37. Fung KYY, Fairn GD, Lee WL. Transcellular vesicular transport in epithelial and endothelial cells: Challenges and opportunities. *Traffic*. 2018;19(1):5-18. <https://doi.org/10.1111/tra.12533>.
38. Thuenauer R, Muller SK, Romer W. Pathways of protein and lipid receptor-mediated transcytosis in drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv*. 2017;14(3):341-351. <https://doi.org/10.1080/17425247.2016.1220364>.
39. Ramirez CM, Zhang X, Bandyopadhyay C, et al. Caveolin-1 regulates atherogenesis by attenuating low-density lipoprotein transcytosis and vascular inflammation independently of endothelial nitric oxide synthase activation. *Circulation*. 2019;140(3):225-239. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038571>.
40. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis. *Cell*. 2001;104(4):503-516. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00238-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00238-0).
41. Wang Z, Tirupathi C, Cho J, et al. Delivery of nanoparticle: complexed drugs across the vascular endothelial barrier via caveolae. *IUBMB Life*. 2011;63(8):659-667. <https://doi.org/10.1002/iub.485>.
42. Thoma R. Über die Abhängigkeit der Bindegewebsneubildung in der Arterienintima von den mechanischen Bedingungen des Blutumlaufes. *Virchows Arch*. 1883;93:443-505. <https://doi.org/10.1007/BF02324120>.
43. Wolkoff K. Über die histologische Struktur der Coronararterien des menschlichen Herzens. *Virchows Arch*. 1923;241:42-58. <https://doi.org/10.1007/BF01942462>.
44. Wolkoff K. Über die Altersveränderungen der Arterien bei Tieren. *Virchows Arch*. 1924;252:208-228. <https://doi.org/10.1007/BF01960728>.
45. Stary HC. Composition and classification of human atherosclerotic lesions. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1992;421(4):277-290. <https://doi.org/10.1007/bf01660974>.
46. Zarins CK, Giddens DP, Bharadvaj BK, et al. Carotid bifurcation atherosclerosis. Quantitative correlation of plaque localization with flow velocity profiles and wall shear stress. *Circ Res*. 1983;53(4):502-514. <https://doi.org/10.1161/01.res.53.4.502>.
47. Albuquerque ML, Waters CM, Savla U, et al. Shear stress enhances human endothelial cell wound closure *in vitro*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279(1):H293-302. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.2000.279.1.H293>.
48. Dewey CF, Jr., Bussolari SR, Gimbrone MA, Jr., Davies PF. The dynamic response of vascular endothelial cells to fluid shear stress. *J Biomech Eng*. 1981;103(3):177-185. <https://doi.org/10.1115/1.3138276>.
49. Diamond SL, Sharefkin JB, Dieffenbach C, et al. Tissue plasminogen activator messenger RNA levels increase in cultured human endothelial cells exposed to laminar shear stress. *J Cell Physiol*. 1990;143(2):364-371. <https://doi.org/10.1002/jcp.1041430222>.
50. Dimmeler S, Haendeler J, Rippmann V, et al. Shear stress inhibits apoptosis of human endothelial cells. *FEBS Letters*. 1996;399(1-2):71-74. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(96\)01289-6](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(96)01289-6).
51. Frangos JA, Eskin SG, McIntire LV, Ives CL. Flow effects on prostacyclin production by cultured human endothelial cells. *Science*. 1985;227(4693):1477-1479. <https://doi.org/10.1126/science.3883488>.
52. Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth

- muscle cells. *J Clin Invest.* 1989;83(5):1774-1777. <https://doi.org/10.1172/JCI114081>.
53. Grabowski EF, Jaffe EA, Weksler BB. Prostacyclin production by cultured endothelial cell monolayers exposed to step increases in shear stress. *J Lab Clin Med.* 1985;105(1):36-43. <https://doi.org/10.5555/uri:pii:0022214385900861>.
 54. Grabowski EF, Reiningner AJ, Petteruti PG, et al. Shear stress decreases endothelial cell tissue factor activity by augmenting secretion of tissue factor pathway inhibitor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(1):157-162. <https://doi.org/10.1161/01.atv.21.1.157>.
 55. Helmlinger G, Geiger RV, Schreck S, Nerem RM. Effects of pulsatile flow on cultured vascular endothelial cell morphology. *J Biomech Eng.* 1991;113(2):123-131. <https://doi.org/10.1115/1.2891226>.
 56. Kaiser D, Freyberg MA, Friedl P. Lack of hemodynamic forces triggers apoptosis in vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;231(3):586-590. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.6146>.
 57. Kawai Y, Matsumoto Y, Ikeda Y, Watanabe K. Regulation of antithrombogenicity in endothelium by hemodynamic forces. *Rinsho Byori.* 1997;45(4):315-320.
 58. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991;88(11):4651-4655. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.11.4651>.
 59. Kuchan MJ, Frangos JA. Role of calcium and calmodulin in flow-induced nitric oxide production in endothelial cells. *Am J Physiol.* 1994;266(3 Pt 1):C628-636. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1994.266.3.C628>.
 60. Levesque M. Vascular endothelial cell proliferation in culture and the influence of flow. *Biomaterials.* 1990;11(9):702-707. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(90\)90031-k](https://doi.org/10.1016/0142-9612(90)90031-k).
 61. Malek AM, Jackman R, Rosenberg RD, Izumo S. Endothelial expression of thrombomodulin is reversibly regulated by fluid shear stress. *Circ Res.* 1994;74(5):852-860. <https://doi.org/10.1161/01.res.74.5.852>.
 62. Y. Ngai C. Vascular responses to shear stress: the involvement of mechanosensors in endothelial cells. *Open Circ Vasc J.* 2012;3(1):85-94. <https://doi.org/10.2174/1877382601003010085>.
 63. Noris M, Morigi M, Donadelli R, et al. Nitric oxide synthesis by cultured endothelial cells is modulated by flow conditions. *Circ Res.* 1995;76(4):536-543. <https://doi.org/10.1161/01.res.76.4.536>.
 64. Okahara K, Sun B, Kambayashi J. Upregulation of prostacyclin synthesis-related gene expression by shear stress in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18(12):1922-1926. <https://doi.org/10.1161/01.atv.18.12.1922>.
 65. Papaioannou TG, Stefanadis C. Vascular wall shear stress: basic principles and methods. *Hellenic J Cardiol.* 2005;46(1):9-15.
 66. Paszkowiak JJ, Dardik A. Arterial wall shear stress: observations from the bench to the bedside. *Vasc Endovascular Surg.* 2003;37(1):47-57. <https://doi.org/10.1177/153857440303700107>.
 67. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(13):5193-5197. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.13.5193>.
 68. Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol.* 1986;250(6 Pt 2):H1145-1149. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1986.250.6.H1145>.
 69. Takada Y, Shinkai F, Kondo S, et al. Fluid shear stress increases the expression of thrombomodulin by cultured human endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;205(2):1345-1352. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.2813>.
 70. Topper JN, Cai J, Falb D, Gimbrone MA, Jr. Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli: cyclooxygenase-2, manganese superoxide dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93(19):10417-10422. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.19.10417>.
 71. Traub O, Berk BC. Laminar shear stress: mechanisms by which endothelial cells transduce an atheroprotective force. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18(5):677-685. <https://doi.org/10.1161/01.atv.18.5.677>.
 72. Vyalov S, Langille BL, Gotlieb AI. Decreased blood flow rate disrupts endothelial repair *in vivo*. *Am J Pathol.* 1996;149(6):2107-2118.
 73. Cheng C, Tempel D, van Haperen R, et al. Atherosclerotic lesion size and vulnerability are determined by patterns of fluid shear stress. *Circulation.* 2006;113(23):2744-2753. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.590018>.
 74. Guo FX, Hu YW, Zheng L, Wang Q. Shear stress in autophagy and its possible mechanisms in the process of atherosclerosis. *DNA Cell Biol.* 2017;36(5):335-346. <https://doi.org/10.1089/dna.2017.3649>.
 75. Kuma A, Mizushima N. Physiological role of autophagy as an intracellular recycling system: with an emphasis on nutrient metabolism. *Semin Cell Dev Biol.* 2010;21(7):683-690. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2010.03.002>.
 76. Mizushima N. Physiological functions of autophagy. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2009;335:71-84. https://doi.org/10.1007/978-3-642-00302-8_3.
 77. Lavandero S, Troncoso R, Rothermel BA, et al. Cardiovascular autophagy: concepts, controversies, and perspectives. *Autophagy.* 2013;9(10):1455-1466. <https://doi.org/10.4161/auto.25969>.
 78. Lavandero S, Chiong M, Rothermel BA, Hill JA. Autophagy in cardiovascular biology. *J Clin Invest.* 2015;125(1):55-64. <https://doi.org/10.1172/JCI73943>.

79. Yang Q, Li X, Li R, et al. Low shear stress inhibited endothelial cell autophagy through TET2 downregulation. *Ann Biomed Eng.* 2016;44(7):2218-2227. <https://doi.org/10.1007/s10439-015-1491-4>.
80. Torisu K, Singh KK, Torisu T, et al. Intact endothelial autophagy is required to maintain vascular lipid homeostasis. *Aging Cell.* 2016;15(1):187-191. <https://doi.org/10.1111/ace1.12423>.
81. Park SK, La Salle DT, Cerbie J, et al. Elevated arterial shear rate increases indexes of endothelial cell autophagy and nitric oxide synthase activation in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2019;316(1):H106-H112. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00561.2018>.
82. Shesely EG, Maeda N, Kim HS, et al. Elevated blood pressures in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(23):13176-13181. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.23.13176>.
83. Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1989;83(5):1774-1777. <https://doi.org/10.1172/JCI114081>.
84. Bernatchez P, Sharma A, Bauer PM, et al. A noninhibitory mutant of the caveolin-1 scaffolding domain enhances eNOS-derived NO synthesis and vasodilation in mice. *J Clin Invest.* 2011;121(9):3747-3755. <https://doi.org/10.1172/JCI44778>.
85. Trane AE, Pavlov D, Sharma A, et al. Deciphering the binding of caveolin-1 to client protein endothelial nitric-oxide synthase (eNOS): scaffolding subdomain identification, interaction modeling, and biological significance. *J Biol Chem.* 2014;289(19):13273-13283. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.528695>.

Сведения об авторе / Information about the author

Нина Соломоновна Парфенова — канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории липопротеидов отдела биохимии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. SPIN-код: 9415-0241. E-mail: nina.parf@mail.ru.

Nina S. Parfenova — PhD, Senior Researcher, Laboratory of Lipoproteins, Department of Biochemistry, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. SPIN-code: 9415-0241. E-mail: nina.parf@mail.ru.

УДК 616.8

<https://doi.org/10.17816/MAJ33848>

POTENTIAL ROLE OF LACTOFERRIN IN EARLY DIAGNOSTICS AND TREATMENT OF PARKINSON DISEASE

A.V. Sokolov^{1,2,3}, I.V. Miliukhina¹, Y.P. Belsky³, N.V. Belska³, V.B. Vasilyev^{1,2}¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;² Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia;³ The Preclinical Translational Research Centre of the Almazov Centre, Saint Petersburg, RussiaFor citation: Sokolov AV, Miliukhina IV, Belsky YuP, et al. Potential role of lactoferrin in early diagnostics and treatment of Parkinson disease. *Medical Academic Journal*. 2020;20(1):37-44. <https://doi.org/10.17816/MAJ33848>

Received: January 28, 2020

Revised: February 26, 2020

Accepted: March 3, 2020

Incidence of Parkinson disease progressively grows with increasing age and percentage of elderly people in the global population. Clear understanding of the causes of dopaminergic neurons' death in *Substantia nigra* and Parkinson disease pathogenesis are currently absent, not speaking of an efficient therapy. However, an early diagnosis of dopaminergic neurons' degeneration and prescription of dopamine replacement therapy significantly slow down the rate of symptoms' progression. An increased concentration of iron in *Substantia nigra* of Parkinson disease patients has been shown in several studies. In this review we summarized the data concerning a potential significance of lactoferrin, the iron-binding protein of exocrine secretions and neutrophils, for early diagnosis and treatment of Parkinson disease. Salivary and lacrimal lactoferrin levels in Parkinson disease patients were higher than those observed in the control group. Plasma levels of lactoferrin inversely correlated with Parkinson disease severity even after treatment with Levodopa, a dopamine agonist, and with monoaminooxidase inhibitors. Lactoferrin levels in cerebrospinal fluid of Parkinson disease patients negatively correlated with the tumor necrosis factor- α concentration. Lactoferrin treatment of rodents with several experimental models of Parkinson disease (induced by rotenone, MPTP) protected neurons and mitigated the symptoms of neurodegeneration. Some contradictions about the positive effects of lactoferrin as a remedy in Parkinson disease animal models and possible participation of lactoferrin in accumulation of iron in neurons are discussed.

Keywords: Parkinson's disease; lactoferrin; iron.

ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ РОЛЬ ЛАКТОФЕРРИНА ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

А.В. Соколов^{1,2,3}, И.В. Милухина¹, Ю.П. Бельский³, Н.В. Бельская³, В.Б. Васильев^{1,2}¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург;³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-ПетербургДля цитирования: Соколов А.В., Милухина И.В., Бельский Ю.П., и др. Потенциальная роль лактоферрина для ранней диагностики и лечения болезни Паркинсона // Медицинский академический журнал. – 2020. – Т. 20. – № 1. – С. 37–44. <https://doi.org/10.17816/MAJ33848>

Поступила: 28.01.2020

Одобрена: 26.02.2020

Принята: 02.03.2020

Заболеваемость болезнью Паркинсона прогрессивно растет по мере увеличения продолжительности жизни и доли пожилых людей в мировой популяции. В настоящее время не существует эффективных методов терапии, четкого понимания патогенеза болезни Паркинсона и причин гибели дофаминовых нейронов в *Substantia nigra*. Однако ранняя диагностика дегенерации дофаминовых нейронов и своевременное назначение дофамин-замещающей терапии значительно снижают скорость проявления симптомов заболевания. В ряде исследований было показано, что при болезни Паркинсона в *Substantia nigra* накапливается железо. В данном обзоре суммированы данные о потенциале использования лактоферрина, железосвязывающего белка экзокринных секретов и нейтрофилов для ранней диагностики и терапии болезни Паркинсона. Концентрация лактоферрина в слюнной и слезной жидкости пациентов с болезнью Паркинсона достоверно выше, чем в контрольных образцах. Концентрация лактоферрина в плазме крови пациентов с болезнью Паркинсона обратно коррелирует с тяжестью симптомов даже после применения леводопы, агонистов дофамина и ингибиторов моноаминоксидазы. Концентрация лактоферрина в спинномозговой жидкости обратно коррелировала с концентрацией фактора некроза опухоли- α . Введение лактоферрина грызунам с различными вариантами

List of abbreviations

DA — dopamine; LF — lactoferrin; MPTP — 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine; PD — Parkinson disease; SN — *Substantia nigra*; SNpc — *Substantia nigra pars compacta*.

экспериментальной болезни Паркинсона (индукция ротеноном, МРТР) защищало нейроны и снижало выраженность клинических проявлений нейродегенерации. В обзоре обсуждены некоторые противоречия между данными о позитивном действии лактоферрина при моделировании болезни Паркинсона у животных и возможности участия лактоферрина в накоплении железа в нейронах.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; лактоферрин; железо.

Introduction

Parkinson disease (PD) is the major cause of slowly progressive parkinsonism, a clinical syndrome comprising combinations of motor and non-motor symptoms. The incidence of PD is estimated between 10 and 50 per 100,000 person-years, and its prevalence rate is approximately 0.3% of the entire population, affecting more than 1% of individuals above 60 years and up to 4% of those older than 80 years [1, 2]. The nigrostriatal dopamine (DA) system in aging shares important biological features with PD. Dopaminergic neurodegeneration in PD presents a complex biology of interacting factors. Many of those factors are also present during the aging of DA system. In normal aging a reduced viability of dopaminergic neurons is manifested as impaired function of the system, whereas additional contributions of genetic, environmental, factors are needed to reach the threshold for dopaminergic neurodegeneration in PD [3, 4]. In healthy aging selective accumulation of iron occurs in several brain regions and different cell types, with iron mostly bound to ferritin and neuromelanin. Iron is involved in quite a few cellular processes in the brain. Those include mitochondrial respiration, synthesis of myelin, DNA and neurotransmitters, oxygen transportation, and other components of cellular metabolism. Dysregulation of iron metabolism has been linked to the pathogenesis of several neurodegenerative disorders, including PD, and age-related accumulation of iron might be an important factor that contributes to neurodegenerative processes [5]. Iron has been shown to accumulate in *Substantia nigra pars compacta* (SNpc) in PD patients. Lees [6] studied micro-architecture of SN in patients with parkinsonism as compared with control cases of varying age. The lateral-ventral tier of SNpc was identified as selectively vulnerable to the loss of melanized dopaminergic neurons in PD. In patients with PD SNpc was identified as the site of iron accumulation, whereas in controls SN *pars reticulata* is rich in iron [7–9]. Overlapping of regions detected by iron-sensitive MRI and neuromelanin-sensitive MRI was shown in SN of individuals with PD and healthy controls. The lateral-ventral SNpc was identified as prone to iron accumulation [10].

The clinical application of iron chelators has a bright future in PD therapy [5]. To achieve a better follow-up the earliest possible start of PD treatment is proposed, when movement disorders are

not severe [11, 12]. A number of studies in animal models have shown that lactoferrin (LF), a multifunctional iron-binding glycoprotein, provides neuroprotection against DA neuronal impairment by several mechanisms. Those are not limited to the regulation of iron metabolism, but may involve the inhibition of apoptosis or mitigation of oxidative stress and neuroinflammation [5].

Links between pathogenesis of PD and iron metabolism

The hypothesis of iron participation in the degeneration of dopaminergic neurons is based on the peculiarities of iron localization in the brain of PD patients. DA, the crucial neurotransmitter involved in PD, easily forms toxic metabolites. Indeed, even in physiological conditions the oxidation of DA by monoamine oxidase results in formation of hydrogen peroxide. Interaction between hydrogen peroxide and iron accumulated in dopaminergic neurons is known as the Fenton reaction producing hydroxyl radicals. These reactive oxygen species provoke oxidative stress featuring the destruction of lipids, proteins, nucleic acids and various antioxidants [13, 14]. Direct oxidative modification of ceruloplasmin with a drop of its ferroxidase activity in cerebrospinal fluid of PD patients is a vivid example of the causative link between the iron deposition in the central nervous system and the oxidative stress. [15]. Elevated level of intracellular iron induced ferroptosis, the programmed cell death associated with accumulation of lipid hydroperoxides produced in the presence of Fe(II). Moreover, the iron-catalyzed oxidation of DA formed 6-hydroxydopamine. Noteworthy, the latter is used as a neurotoxin to model PD in animals, since it induces iron release from ferritin and the production of reactive oxygen species [16, 17].

The pathognomonic sign of familial and sporadic PD is the presence of Lewy bodies. Those contain aggregates of alpha-synuclein, but also are stained in the iron-sensitive histochemical reaction [18]. Alpha-synuclein is mostly contained in presynaptic terminals and may be involved in the compartmentalization, storage, and recycling of neurotransmitters [19, 20]. The high-affinity iron-binding sites were identified in its structure: D121, N122, and E123 [21]. Experiments with wild-type and mutant form of alpha-synuclein (A30P, A53T, and E46K),

which is specific for familial cases of PD, showed that Fe(III) can induce fibrillization of both wild-type and mutant forms of the protein [22]. Under physiological conditions only about 4% of the soluble monomeric alpha-synuclein is phosphorylated, whereas the protein found in Lewy bodies of PD patients is phosphorylated by more than 90% [23]. The $^{119}\text{DPDNEA}(\text{pY})\text{EMPSEEG}^{132}$ phosphopeptide of alpha-synuclein, where Y residue was replaced with phosphotyrosine (pY), possessed a marked selectivity for trivalent metal ions, e.g. Fe(III), in comparison with the non-modified peptide or the phosphoserine (pS) containing peptide: $^{119}\text{DPDNEAYEMP}(\text{pS})\text{EEG}^{132}$ [24, 25].

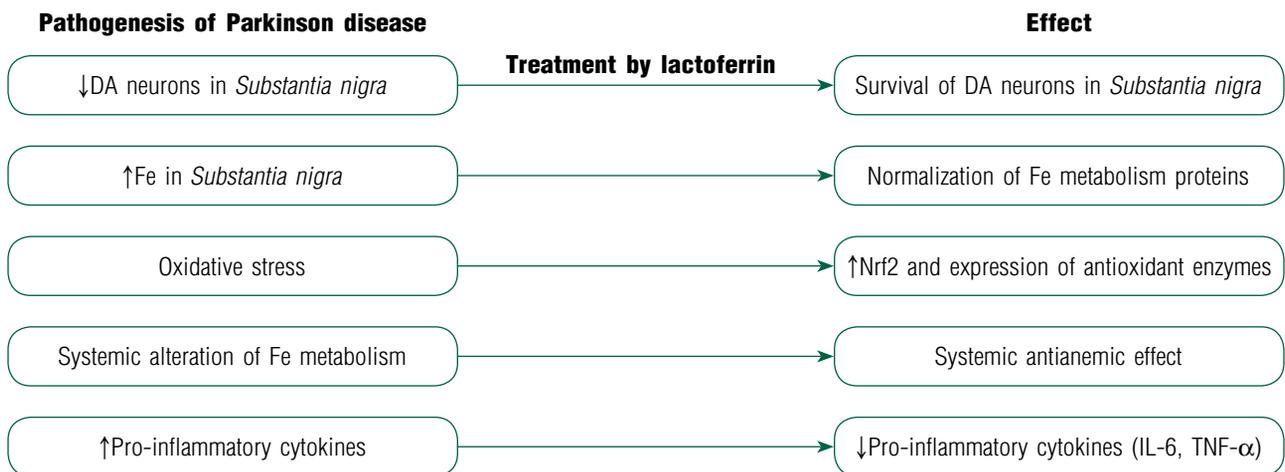
5'-untranslated region of mRNA encoding alpha-synuclein contains the stem-loop structure motif similar to the iron-responsive element of mRNA encoding H- and L-ferritin, ferroportin, and mitochondrial aconitase [26]. In the absence of iron, iron-regulatory proteins bind the iron-responsive element at the ferritin mRNA and block ferritin translation. In a cellular model with knockdown of iron-regulatory protein 1, which corresponds to the situation when iron-responsive element do not sense iron, the level of alpha-synuclein mRNA was up-regulated [27]. Depletion of intracellular iron by desferal decreased the level of alpha-synuclein mRNA [28]. This impact of the iron concentration on the regulation of alpha-synuclein synthesis does not seem coincidental if to take into account that both the recombinant protein and lysates of cells with alpha-synuclein overexpression demonstrate the activity of ferric reductase [29]. Overexpression of alpha-synuclein alters the activity of tyrosine hydroxylase, the key enzyme involved in DA synthesis [30].

In 1997 Logroscino and colleagues reported about an alteration of systemic iron metabolism in PD patients [31]. Comparing the latter with a corresponding age group of donors without clinical evidence of PD or other major neurologic or medical disorder revealed a significant decrease of serum iron and the total iron binding capacity, of transferrin and its iron saturation, and of ferritin. Although there was no difference between patients and controls in the overall dietary intake of iron, dietary iron was not related to serum iron. Moreover, there was also no difference between patients with PD who used Levodopa and those who did not, implying that the observed differences in circulating concentrations of iron and iron proteins were not related to dissimilarities in the treatment of PD [31]. The peculiarities of iron metabolism in PD observed in that study were consistent both with previous [32] and subsequent [33] investigations. Importantly, the level of plasma transferrin positively correlated with the severity of tremor in the tremor-dominant PD [34].

Links between lactoferrin and Parkinson disease

Studies of a connection between LF and the pathogenesis of PD started with an observation of the LF receptor higher content in mesencephalon samples obtained by autopsy from 8 patients with histologically confirmed PD in comparison with 13 individuals with no known history of psychiatric or neurological disorders [35]. This observation immediately placed a theoretical footing for a possible mechanism of pumping iron in the brain of patients with PD [36]. This contradicted the notion that the bacteriostatic activity of LF in exocrine secretions and neutrophils is based on its capacity to sequester iron, otherwise captured by microorganisms. Indeed, LF binds iron about 300 times more avidly than transferrin, but little is known about the regulation of iron release from LF in physiological conditions [37]. Further analysis of cellular distribution in mesencephalon demonstrated the high levels of LF in a large population of neurons in SN of control cases [38]. Quantitative analysis also demonstrated that patients with PD had higher LF levels in the surviving neurons of SN as compared with control cases. The authors conclude: "further studies will be necessary to elucidate whether LF acts as an iron scavenger and may represent a protective factor, or conversely, promotes excessive iron accumulation leading to oxidative damage in vulnerable neurons" [38]. In animals the acute administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) destroys neurons in SN, containing most of the melanin, and causes a PD-like syndrome [39]. Treatment of mice with MPTP caused up-regulation of LF expression accompanied by the synthesis of antioxidant enzymes such as catalase and gamma-glutamyl cysteine synthetase, which may provide the protection of brain tissue from oxidative damage induced by the neurotoxin [40, 41]. This hypothesis is confirmed by an observation that LF plasma levels inversely correlated with PD severity even after treatment with Levodopa, the DA agonist, and monoaminooxidase inhibitors [42]. Noteworthy, the expression of gamma-glutamyl cysteine synthetase is under control of the nuclear factor erythroid 2-related factor 2, the synthesis of which is induced by LF [43, 44].

Several groups reported about the capacity of both iron-saturated and apo-forms of LF to cross the blood-brain barrier *in vitro* and *in vivo* [45–48]. These observations stimulated the studies of LF beneficial effects, when LF-coated nanoparticles were used to deliver drugs and constructions designed for gene therapy in animals with models of PD [49–53]. In parallel several studies demonstrated the anti-anxiety and stress-protective activity of LF mediated *via* the opioid system and its corticostatic activity [54–57].



Effects of lactoferrin treatment on the pathogenesis of Parkinson disease modeled in animals: DA — dopamine

Early in this century a peptide hormone hepcidin was discovered. It regulates the iron efflux from cells under inflammatory conditions and iron overload [58, 59]. Iron metabolism is affected by a number of pro-inflammatory cytokines on (e.g. tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , interleukin-6) mediated both by iron-regulatory proteins and by hepcidin. This process includes the up-regulation of divalent metal transporter 1 and down-regulation of ferroportin, the iron exporter [60]. Antianemic effect of LF is realized by decreasing IL-6, abrogating the endotoxin-mediated degradation of ferroportin and increasing ceruloplasmin ferroxidase activity [61–63]. Ferroxidase activity of ceruloplasmin prevents the ubiquitin-mediated degradation of ferroportin [64]. Participation of LF in iron regulation is also mediated *via* stabilization of iron-sensitive hypoxia-inducible factors-1 α and -2 α [65, 66]. These transcription factors up-regulate the synthesis of erythropoietin, which demonstrated neuroprotective effects distinct from its antianemic functions [67]. Indeed, intraperitoneal and nasal administration of LF to rodents protects the animals against neurodegeneration, including the rotenone-induced model of PD in rats [42]. These results are confirmed by other studies in which LF protected a culture of dopaminergic neurons from toxic effects of MPTP [67] or mice [69, 70] against the MPTP-induced neurodegeneration. In MPTP-treated mice the level of divalent metal transporter 1 in *striatum* became significantly higher in comparison with the control group, but after LF treatment it was substantially decreased [69]. The following scheme summarizes the effects of LF treatment in PD animal models, differing in the pathogenetic links affected.

The effects of LF and pro-inflammatory cytokines are inverse, which is evidenced by the negative correlation of LF and tumor necrosis factor- α levels in cerebrospinal fluid of PD pa-

tients [71]. Two recent studies independently suggested a potential usability of LF as non-invasive marker of PD [72, 73]. In fact, the levels of LF in saliva and tears of PD patients were higher than those observed in the control group. Using salivary and lacrimal LF as PD marker seems reasonable, since both fluids are easily obtained as compared with the blood samples and, which is more important, the levels of LF in these exocrine secretions are much higher than the level of oligomeric α -synuclein. The latter is widely used for PD diagnosing, but its prevalence in red blood cells, relatively low concentration in biological fluids and contradictory data of meta-analysis diminish its importance as a PD marker [74, 75].

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest in financial or any other sphere.

References

- de Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2006;5(6):525-535. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70471-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70471-9).
- Elbaz A, Carcaillon L, Kab S, Moisan F. Epidemiology of Parkinson's disease. *Revue Neurologique.* 2016;172(1):14-26. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2015.09.012>.
- Fahn S. Description of Parkinson's disease as a clinical syndrome. *Ann NY Acad Sci.* 2006;991(1):1-14. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb07458.x>.
- Larsen JP, Beiske AG, Bekkelund SI, et al. Motor symptoms in Parkinson disease. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2008;128(18):2068-2071.
- Jiang H, Song N, Jiao Q, et al. Iron Pathophysiology in Parkinson Diseases. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1173:45-66. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9589-5_4.
- Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain.* 1991;114(Pt 5):2283-2301. <https://doi.org/10.1093/brain/114.5.2283>.

7. Morris CM, Edwardson JA. Iron histochemistry of the substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurodegeneration*. 1994;3(4):277-282.
8. Sian-Hülsmann J, Mandel S, Youdim MB, Riederer P. The relevance of iron in the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Neurochem*. 2011;118(6):939-957. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07132.x>.
9. Wypijewska A, Galazka-Friedman J, Bauminger ER, et al. Iron and reactive oxygen species activity in parkinsonian *Substantia nigra*. *Parkinsonism Relat Disord*. 2010;16(5):329-333. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2010.02.007>.
10. Huddleston DE, Langley J, Sedlacik J, et al. *In vivo* detection of lateral-ventral tier nigral degeneration in Parkinson's disease. *Hum Brain Mapp*. 2017;38(5):2627-2634. <https://doi.org/10.1002/hbm.23547>.
11. Schapira AH, Obeso J. Timing of treatment initiation in Parkinson's disease: a need for reappraisal? *Ann Neurol*. 2006;59:559-562. <https://doi.org/10.1002/ana.20789>.
12. Aminoff MJ. Treatment should not be initiated too soon in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2006;59:562-564. <https://doi.org/10.1002/ana.20814>.
13. Hare DJ, Double KL. Iron and dopamine: a toxic couple. *Brain*. 2016;139(Pt4):1026-1035. <https://doi.org/10.1093/brain/aww022>.
14. Dias V, Junn E, Mouradian MM. The role of oxidative stress in Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis*. 2013;3(4):461-491. <https://doi.org/10.3233/JPD-130230>.
15. Olivieri S, Conti A, Iannaccone S, et al. Ceruloplasmin oxidation, a feature of Parkinson's disease CSF, inhibits ferroxidase activity and promotes cellular iron retention. *J Neurosci*. 2011;31(50):18568-18577. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3768-11.2011>.
16. Wang J, Jiang H, Xie JX. Time dependent effects of 6-OHDA lesions on iron level and neuronal loss in rat nigrostriatal system. *Neurochem Res*. 2004;29(12):2239-2243. <https://doi.org/10.1007/s11064-004-7031-5>.
17. Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, et al. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease. *Cell*. 2017;171(2):273-285. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.021>.
18. Castellani RJ, Siedlak SL, Perry G, Smith MA. Sequestration of iron by Lewy bodies in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol*. 2000;100(2):111-114. <https://doi.org/10.1007/s004010050001>.
19. Adamczyk A, Solecka J, Strosznajder JB. Expression of alpha-synuclein in different brain parts of adult and aged rats. *J Physiol Pharmacol*. 2005;56(1):29-37.
20. Allen Reish HE, Standaert DG. Role of alpha-synuclein in inducing innate and adaptive immunity in Parkinson disease. *J Parkinsons Dis*. 2015;5(1):1-19. <https://doi.org/10.3233/JPD-140491>.
21. Binolfi A, Rasia RM, Bertoincini CW, et al. Interaction of α -synuclein with divalent metal ions reveals key differences: a link between structure, binding specificity and fibrillation enhancement. *J Am Chem Soc*. 2006;128(30):9893-9901. <https://doi.org/10.1021/ja0618649>.
22. Bharathi SS, Indi, Rao KSJ. Copper- and iron-induced differential fibril formation in α -synuclein: TEM study. *Neuroscience Letters*. 2007;424(2):78-82. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.06.052>.
23. Fujiwara H, Hasegawa M, Dohmae N, et al. α -Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. *Nat Cell Biol*. 2002;4(2):160-164. <https://doi.org/10.1038/ncb748>.
24. Liu LL, Franz KJ. Phosphorylation-dependent metal binding by α -synuclein peptide fragments. *J Biol Inorg Chem*. 2007;12:234-247. <https://doi.org/10.1007/s00775-006-0181-y>.
25. Santner A, Uversky VN. Metalloproteomics and metal toxicology of α -synuclein. *Metalomics*. 2010;2(6):378-392. <https://doi.org/10.1039/b926659c>.
26. Friedlich AL, Tanzi RE, Rogers JT. The 5'-untranslated region of Parkinson's disease α -synuclein messenger RNA contains a predicted iron responsive element. *Mol Psychiatry*. 2007;12(3):222-223. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001937>.
27. Li W., Jiang H, Song N, Xie J. Oxidative stress partially contributes to iron-induced α -synuclein aggregation in SK-N-SH cells. *Neurotox Res*. 2011;19(3):435-442. <https://doi.org/10.1007/s12640-010-9187-x>.
28. Febbraro F, Giorgi M, Caldarola S, et al. α -Synuclein expression is modulated at the translational level by iron. *NeuroReport*. 2012;23(9):576-580. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e328354a1f0>.
29. Davies P, Moualla D, Brown DR. Alpha-synuclein is a cellular ferrioreductase. *PLoS One*. 2011;6(1):e15814. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015814>.
30. Yu S, Zuo X, Li Y, et al. Inhibition of tyrosine hydroxylase expression in alpha-synuclein-transfected dopaminergic neuronal cells. *Neurosci Lett*. 2004;367(1):34-39. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.05.118>.
31. Logroscino G, Marder K, Graziano J, et al. Altered systemic iron metabolism in Parkinson's disease. *Neurology*. 1997;49(3):714-717. <https://doi.org/10.1212/wnl.49.3.714>.
32. Abbott RA, Cox M, Markus H, Tomkins A. Diet, body size and micronutrient status in Parkinson's disease. *Eur J Clin Nutr*. 1992;46(12):879-884.
33. Xu W, Zhi Y, Yuan Y, et al. Correlations between abnormal iron metabolism and non-motor symptoms in Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2018;125(7):1027-1032. <https://doi.org/10.1007/s00702-018-1889-x>.
34. Si QQ, Yuan YS, Zhi Y, et al. Plasma transferrin level correlates with the tremor-dominant phenotype of Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2018;684:42-46. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.07.004>.
35. Faucheux BA, Nillesse N, Damier P, et al. Expression of lactoferrin receptors is increased in the mesencephalon of patients with Parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(21):9603-9607. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.21.9603>.
36. Bonn D. Pumping iron in Parkinson's disease. *Lancet*. 1996;347(9015):1614. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(96\)91094-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)91094-6).
37. Aisen P, Leibman A. Lactoferrin and transferrin: a comparative study. *Biochim Biophys Acta*. 1972;257(2):314-323. [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(72\)90283-8](https://doi.org/10.1016/0005-2795(72)90283-8).

38. Leveugle B, Faucheux BA, Bouras C, et al. Cellular distribution of the iron-binding protein lactoferrin in the mesencephalon of Parkinson's disease cases. *Acta Neuropathol.* 1996;91(6):566-572. <https://doi.org/10.1007/s004010050468>.
39. Mochizuki H, Imai H, Endo K, et al. Iron accumulation in the substantia nigra of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced hemiparkinsonian monkeys. *Neuroscience Letters.* 1994;168(1-2):251-253. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(94\)90462-6](https://doi.org/10.1016/0304-3940(94)90462-6).
40. Fillebeen C, Dexter D, Mitchell V, et al. Lactoferrin is synthesized by mouse brain tissue and its expression is enhanced after MPTP treatment. *Adv Exp Med Biol.* 1998;443:293-300. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9068-9_36.
41. Fillebeen C, Mitchell V, Dexter D, et al. Lactoferrin is synthesized by mouse brain tissue and its expression is enhanced after MPTP treatment. *Brain Res Mol Brain Res.* 1999;72(2):183-194. [https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(99\)00221-1](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(99)00221-1).
42. Grau AJ, Willig V, Fogel W, Werle E. Assessment of plasma lactoferrin in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2001;16(1):131-134. [https://doi.org/10.1002/1531-8257\(200101\)16:1<131::AID-MDS1008>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/1531-8257(200101)16:1<131::AID-MDS1008>3.0.CO;2-O)
43. Zakharova ET, Sokolov AV, Pavlichenko NN, et al. Erythropoietin and Nrf2: key factors in the neuroprotection provided by apo-lactoferrin. *Biomaterials.* 2018;31(3):425-443. <https://doi.org/10.1007/s10534-018-0111-9>.
44. Mohamed WA, Schaalan MF. Antidiabetic efficacy of lactoferrin in type 2 diabetic pediatrics; controlling impact on PPAR- γ , SIRT-1, and TLR4 downstream signaling pathway. *Diabetol Metab Syndr.* 2018;10:89. <https://doi.org/10.1186/s13098-018-0390-x>.
45. Fillebeen C, Descamps L, Dehouck MP, et al. Receptor-mediated transcytosis of lactoferrin through the blood-brain barrier. *J Biol Chem.* 1999;274(11):7011-7017. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.11.7011>.
46. Harada E, Araki Y, Furumura E, et al. Characteristic transfer of colostrum-derived biologically active substances into cerebrospinal fluid via blood in natural suckling neonatal pigs. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2002;49(7):358-364. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0442.2002.00457.x>.
47. Talukder MJ, Takeuchi T, Harada E. Receptor-mediated transport of lactoferrin into the cerebrospinal fluid via plasma in young calves. *J Vet Med Sci.* 2003;65(9):957-964. <https://doi.org/10.1292/jvms.65.957>.
48. Ji B, Maeda J, Higuchi M, et al. Pharmacokinetics and brain uptake of lactoferrin in rats. *Life Sci.* 2006;78(8):851-855. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.05.085>.
49. Huang R, Ke W, Liu Y, et al. Gene therapy using lactoferrin-modified nanoparticles in a rotenone-induced chronic Parkinson model. *J Neurol Sci.* 2010;290(1-2):123-130. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2009.09.032>.
50. Hu K, Shi Y, Jiang W, et al. Lactoferrin conjugated PEG-PLGA nanoparticles for brain delivery: preparation, characterization and efficacy in Parkinson's disease. *Int J Pharm.* 2011;415(1-2):273-83. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.05.062>.
51. Bi C, Wang A, Chu Y, et al. Intranasal delivery of rotigotine to the brain with lactoferrin-modified PEG-PLGA nanoparticles for Parkinson's disease treatment. *Int J Nanomedicine.* 2016;11:6547-6559. <https://doi.org/10.2147/IJN.S120939>.
52. Yan X, Xu L, Bi C, et al. Lactoferrin-modified rotigotine nanoparticles for enhanced nose-to-brain delivery: LESA-MS/MS-based drug biodistribution, pharmacodynamics, and neuroprotective effects. *Int J Nanomedicine.* 2018;13:273-281. <https://doi.org/10.2147/IJN.S151475>.
53. Tang S, Wang A, Yan X, et al. Brain-targeted intranasal delivery of dopamine with borneol and lactoferrin co-modified nanoparticles for treating Parkinson's disease. *Drug Deliv.* 2019;26(1):700-707. <https://doi.org/10.1080/10717544.2019.1636420>.
54. Takeuchi T, Hayashida Ki, Inagaki H, et al. Opioid mediated suppressive effect of milk-derived lactoferrin on distress induced by maternal separation in rat pups. *Brain Res.* 2003;979(1-2):216-224. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(03\)02941-x](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(03)02941-x).
55. Kamemori N, Takeuchi T, Hayashida K, Harada E. Suppressive effects of milk-derived lactoferrin on psychological stress in adult rats. *Brain Res.* 2004;1029(1):34-40. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.09.015>.
56. McManus B, Korpela R, O'Connor P, et al. Compared to casein, bovine lactoferrin reduces plasma leptin and corticosterone and affects hypothalamic gene expression without altering weight gain or fat mass in high fat diet fed C57/BL6J mice. *Nutrition & Metabolism.* 2015;12:53. <https://doi.org/10.1186/s12986-015-0049-7>.
57. Aleshina GM, Yankelevich IA, Zakharova ET, et al. Stress-protective effect of human lactoferrin. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova.* 2016;102(7):846-851.
58. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, et al. A new mouse liver specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem.* 2001;276:7811-7819. <https://doi.org/10.1074/jbc.M008923200>.
59. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest.* 2002;110:1037-1044. <https://doi.org/10.1172/JCI15686>.
60. Urrutia P, Aguirre P, Esparza A, et al. Inflammation alters the expression of DMT1, FPN1 and hepcidin, and it causes iron accumulation in central nervous system cells. *J Neurochem.* 2013;126(4):541-549. <https://doi.org/10.1111/jnc.12244>.
61. Paesano R, Berlutti F, Pietropaoli M, et al. Lactoferrin efficacy versus ferrous sulfate in curing iron deficiency and iron deficiency anemia in pregnant women. *Biomaterials.* 2010;23(3):411-417. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9335-z>.
62. Pulina MO, Sokolov AV, Zakharova ET, et al. Effect of lactoferrin on consequences of acute experimental hemorrhagic anemia in rats. *Bull Exp Biol Med.* 2010; 149:219-222. <https://doi.org/10.1007/s10517-010-0911-6>.
63. Cutone A, Frioni A, Berlutti F, et al. Lactoferrin prevents LPS-induced decrease of the iron exporter ferroportin in human monocytes/macrophages. *Biomaterials.* 2014;27(5):807-813. <https://doi.org/10.1007/s10534-014-9742-7>.

64. De Domenico I, Ward DMcV, Bonaccorsi di Patti MC, et al. Ferroxidase activity is required for the stability of cell surface ferroportin in cells expressing GPI-ceruloplasmin. *EMBO J.* 2007;26:2823-2831. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601735>.
65. Zakharova ET, Kostevich VA, Sokolov AV, Vasilyev VB. Human apo-lactoferrin as a physiological mimetic of hypoxia stabilizes hypoxia-inducible factor-1 alpha. *Biometals.* 2012;25(6):1247-1259. <https://doi.org/10.1007/s10534-012-9586-y>.
66. Kostevich VA, Sokolov AV, Kozlov SO, et al. Functional link between ferroxidase activity of ceruloplasmin and protective effect of apo-lactoferrin: studying rats kept on a silver chloride diet. *Biometals.* 2016;29(4):691-704. <https://doi.org/10.1007/s10534-016-9944-2>.
67. Xue YQ, Zhao LR, Guo WP, Duan WM. Intrastratial administration of erythropoietin protects dopaminergic neurons and improves neurobehavioral outcome in a rat model of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2007;146(3):1245-1258. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.02.004>.
68. Rousseau E, Michel PP, Hirsch EC. The iron-binding protein lactoferrin protects vulnerable dopamine neurons from degeneration by preserving mitochondrial calcium homeostasis. *Mol Pharmacol.* 2013;84(6):888-898. <https://doi.org/10.1124/mol.113.087965>.
69. Xu SF, Zhang YH, Wang S, et al. Lactoferrin ameliorates dopaminergic neurodegeneration and motor deficits in MPTP-treated mice. *Redox Biol.* 2019;21:101090. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.101090>.
70. Liu H, Wu H, Zhu N, et al. Lactoferrin protects against iron dysregulation, oxidative stress, and apoptosis in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced Parkinson's disease in mice. *J Neurochem.* 2020;152(3):397-415. <https://doi.org/10.1111/jnc.14857>.
71. Yu SY, Sun L, Liu Z, et al. Sleep disorders in Parkinson's disease: clinical features, iron metabolism and related mechanism. *PLoS One.* 2013;8(12):e82924. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082924>.
72. Carro E, Bartolomé F, Bermejo-Pareja F, et al. Early diagnosis of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease based on salivary lactoferrin. *Alzheimers Dement (Amst).* 2017;8:131-138. <https://doi.org/10.1016/j.dadm.2017.04.002>.
73. Hamm-Alvarez SF, Janga SR, Edman MC, et al. Levels of oligomeric α -Synuclein in reflex tears distinguish Parkinson's disease patients from healthy controls. *Biomark Med.* 2019;13(17):1447-1457. <https://doi.org/10.2217/bmm-2019-0315>.
74. Bougea A, Koros C, Stefanis L. Salivary alpha-synuclein as a biomarker for Parkinson's disease: a systematic review. *J Neural Transm (Vienna).* 2019;126(11):1373-1382. <https://doi.org/10.1007/s00702-019-02062-4>.
75. Bougea A, Stefanis L, Paraskevas GP, et al. Plasma alpha-synuclein levels in patients with Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Neurol Sci.* 2019;40(5):929-938. <https://doi.org/10.1007/s10072-019-03738-1>.

Information about the authors / Сведения об авторах

Alexey V. Sokolov — Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Biochemical Genetics of the Department of Molecular Genetics, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia; Professor of Chair of Fundamental Problems of Medicine and Medical Technology at Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia; Senior researcher of the Biochemical Research Department of the Preclinical Translational Research Centre, the Institute of Experimental Medicine of the Almazov Centre, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-9033-0537>. SPIN-code: 7427-7395. E-mail: biochemsokolov@gmail.com.

Irina V. Miliukhina — PhD, MD, Head of the Center of the Neurodegenerative Disorders, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <http://orcid.org/0000-0002-6433-542X>. SPIN-code: 1767-2266. E-mail: milyukhinaiv@yandex.ru.

Yury P. Belsky — Doctor of Medical Sciences, Head of the Biochemical Research Department of the Preclinical Translational Research Centre, the Institute of Experimental Medicine of the Almazov Centre, Saint Petersburg, Russia. E-mail: belsky59@mail.ru.

Алексей Викторович Соколов — д-р биол. наук, заведующий лабораторией биохимической генетики отдела молекулярной генетики, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург; профессор кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург; старший научный сотрудник Научно-исследовательского отдела Центра доклинических и трансляционных исследований Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-9033-0537>. SPIN-код: 7427-7395. E-mail: biochemsokolov@gmail.com.

Ирина Валентиновна Милюхина — канд. мед. наук, руководитель научно-клинического центра нейродегенеративных заболеваний, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <http://orcid.org/0000-0002-6433-542X>. SPIN-код: 1767-2266. E-mail: milyukhinaiv@yandex.ru.

Юрий Павлович Бельский — д-р мед. наук, руководитель Научно-исследовательского отдела Центра доклинических и трансляционных исследований Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: belsky59@mail.ru.

Nataly V. Belska — Doctor of Medical Sciences, Leading Researcher of the Toxicology Research Department of the Preclinical Translational Research Centre, the Institute of Experimental Medicine of the Almazov Centre, Saint Petersburg, Russia. E-mail: natalybelska@yandex.ru.

Vadim B. Vasilyev — Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Molecular Genetics, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia; Professor of Chair of Fundamental Problems of Medicine and Medical Technology at Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-9707-262X>. SPIN-code: 6699-6350. E-mail: vadim@biokemis.ru.

Наталья Витальевна Бельская — д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник Научно-исследовательского отдела токсикологии Центра доклинических и трансляционных исследований Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: natalybelska@yandex.ru.

Вадим Борисович Васильев — д-р мед. наук, руководитель отдела молекулярной генетики, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург; профессор кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-9707-262X>. SPIN-код: 6699-6350. E-mail: vadim@biokemis.ru.

✉ **Corresponding author / Контактное лицо**

Alexey V. Sokolov / Алексей Викторович Соколов
E-mail: biochemsokolov@gmail.com

УДК 616-009.17
<https://doi.org/10.17816/MAJ26249>

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПОСТУРОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ПРИ ЭКСТРАПИРАМИДНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

А.В. Кудреватых^{1,2}, И.В. Милюхина^{1,2,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург;

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург

Для цитирования: Кудреватых А.В., Милюхина И.В. Диагностические возможности постурологических методов при экстрапирамидных заболеваниях // Медицинский академический журнал. — 2020. — Т. 20. — № 1. — С. 45–50. <https://doi.org/10.17816/MAJ26249>

Поступила: 22.01.2020

Одобрена: 27.02.2020

Принята: 02.03.2020

Поза — это положение тела в пространстве. С помощью позы поддерживается равновесие тела в статических и динамических условиях. Баланс тела обусловлен сложной системой регуляции. Областью знаний, изучающей процессы поддержания баланса, является постурология. Более 20 лет стабилметрия, как метод диагностики постурального баланса, широко используется в клинической практике. Данный метод применяют у пациентов с патологиями центральной и периферической нервной системы. В обзоре отражены современные представления о формировании позы и механизмах поддержания постурального баланса, а также диагностических возможностях стабилметрии у пациентов с заболеваниями экстрапирамидной системы.

Ключевые слова: постурология; поза; постуральный баланс; стабилметрия; болезнь Паркинсона; эссенциальный тремор; нейродегенеративные заболевания.

DIAGNOSTIC CAPABILITIES OF POSTUROLOGICAL METHODS IN EXTRAPYRAMIDAL DISORDERS

A.V. Kudrevatykh^{1,2}, I.V. Miliukhina^{1,2,3}

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

² Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

³ Petersburg Nuclear Physics Institute, Saint Petersburg, Russia

For citation: Kudrevatykh AV, Miliukhina IV. Diagnostic capabilities of posturological methods in extrapyramidal disorders. *Medical Academic Journal*. 2020;20(1):45-50. <https://doi.org/10.17816/MAJ26249>

Received: January 22, 2020

Revised: February 27, 2020

Accepted: March 3, 2020

The posture is the position of the body in space, the ultimate goal of which is to maintain balance in static and dynamic conditions. The balance of the body is due to a complex system of regulation. The field of knowledge that studies balance maintenance processes is posturology. For over 20 years, stabilometry as a method of diagnosing postural balance has been widely used in clinical practice. This method has found its application in patients with pathologies of central and peripheral nervous systems. In this review we present modern concepts of postural balance formation and mechanisms of postural balance maintenance, as well as diagnostic capabilities of stabilometry in patients with diseases of extrapyramidal system.

Keywords: posturology; postural balance; stabilometry; Parkinson's disease; essential tremor; neurodegenerative disorders.

Postura переводится с латинского языка как поза. Поза — это положение тела в пространстве [1]. Субъект принимает наиболее энергетически выгодную для организма позу для обеспечения мобильности и в конечном счете для поддержания равновесия (баланса) в статических и динамических условиях [1, 2]. Баланс тела обусловлен сложной системой регуляции. Условно уровни регуляции можно разделить

на центральные (основные) и периферические (вторичные). К центральным относятся органы вестибулярного аппарата, мозжечок, кора головного мозга и ретикулярная формация, к периферическим — экстерорецепторы стопы, проприорецепторы сухожилий, суставных капсул и мышц, а также зрительные рецепторы [3]. Схематично процесс формирования позы и контроля постурального баланса можно

Список сокращений

БП — болезнь Паркинсона; МСА — мультисистемная атрофия; ЭТ — эссенциальный тремор.

представить следующим образом. Первым звеном биомеханики данного процесса является сенсорная система (рецепторы сетчатки, кожи стоп, вестибулярные рецепторы, сухожильные рецепторы Гольджи и мышечные веретена), которая собирает информацию об окружающей среде [1, 4]. Собранный информация поступает в мозжечок, кору и ствол мозга, проходя процессы обработки и формируя представление о положении тела в пространстве. Затем через мотонейроны спинного мозга информация доходит до мышц, сокращение которых изменяет взаиморасположение суставов, в результате чего происходит поддержание позы и баланса [1, 3]. Таким образом, постоянный круговой контроль от афферентной системы к эфферентной через центральную нервную систему к органу-исполнителю (мышца) определен как постуральная система [5]. Непрерывная работа постуральной системы приводит к постоянным «тонким» мышечным сокращениям, которые регулируют работу суставов, в результате чего формируются мелкоамплитудные отклонения оси центра масс от опорной зоны — постуральные колебания [6], поддерживающие постуральный баланс.

Постуральный баланс — это вертикальная проекция оси тела (центра масс) на опорную зону [7]. Баланс может быть статическим и динамическим. Вытягивание позвоночного столба вверх от основания крестца с тремя физиологическими искривлениями определяет статический тип баланса. Динамический тип, в свою очередь, поддерживает стабильное состояние во время различных движений [1]. Основной определяющей величиной координации позы и движения является центр давления. Центр давления — это среднее значение всех давлений на поверхность стопы [8]. При обоих типах баланса центр давления поддерживается в соответствии с анатомическими структурами, но с минимальным потреблением энергии, распределяя вес тела по всему опорно-двигательному аппарату [5].

Постурология — область знаний о количественной оценке функциональных взаимоотношений между позой, балансом и гравитацией [9]. Постурология, как способ изучения позы, объединяет несколько моделей: нейрофизиологическую, биомеханическую и психосоматическую. Методом оценки постурологических показателей является постурография, также используют термины «стабилометрия» и «стабилография».

Стабилометрия в неврологии

Стабилометрия — аппарат оценки нарушений баланса, основанный на преобразовании механических колебаний физиологического

гравитационного поля человека в электрические сигналы, которые усиливаются, регистрируются и анализируются [9].

Более 20 лет стабилометрию широко используют в клинической практике. Данный метод нашел свое применение и у пациентов с патологиями центральной и периферической нервной системы. В оценке постурального баланса более других нуждаются пациенты с прогрессирующими заболеваниями нервной системы, в клиническую картину которых входит синдром постуральных нарушений. Все патологии экстрапирамидной системы и нейродегенеративные заболевания протекают в сочетании с постуральной дисфункцией, приводящей к тяжелой инвалидизации в связи с высоким риском падений.

В связи со сложностью дифференциальной диагностики заболеваний, сопровождающихся синдромом паркинсонизма, ученые продолжают поиск маркеров, с помощью которых будет возможна более точная диагностика уже на ранних стадиях заболевания. Стабилометрия, так же как и компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, электроэнцефалография, электронейромиография и другие методы, относится к числу вспомогательных методов исследования. В 2018 г. впервые проведено стабилометрическое обследование пациентов с предманифестной стадией болезни Гентингтона. Результаты данного исследования продемонстрировали, что у пациентов с манифестной болезнью Гентингтона показатели стабиллограммы были хуже, чем у пациентов с предманифестными стадиями болезни и пациентами контрольной группы, что не было неожиданностью. Однако и у пациентов в предманифестной стадии болезни Гентингтона стабилометрические показатели были значительно хуже, чем у здоровых лиц контрольной группы [10]. Кроме диагностики постуральных нарушений, а также оценки их выраженности, стабилометрию использовали для контроля качества лечения пациентов с болезнью Гентингтона. Так, с помощью стабилометрических тестов оценивали влияние препарата тетрабеназина на постуральную дисфункцию [11].

В 2000 г. был проведен сравнительный анализ стабилометрических показателей у пациентов с ранними стадиями болезни Паркинсона (БП) и прогрессирующим надъядерным параличом. У пациентов с прогрессирующим надъядерным параличом площадь и время колебаний центра давления были увеличены по сравнению с пациентами с БП и контрольной группой. Стабилометрия характеризуется стопроцентной чувствительностью и специфичностью для дифференциации данных патологий [12].

Оценка постурального баланса с помощью стабилотрии была проведена и в ряде исследований у пациентов с болезнью Альцгеймера. В результате исследования 2019 г. была продемонстрирована значительная разница таких стабилотрических показателей, как общая скорость колебаний центра давления, медиально-латеральная и переднезадняя площадь колебаний центра давления, между пациентами с болезнью Альцгеймера и пациентами контрольной группы. Кроме того, авторы из всех показателей стабилотриграммы особо выделили общую скорость колебаний центра давления с закрытыми глазами, как наиболее чувствительный параметр, и предложили его рассмотреть в качестве потенциального биомаркера моторных нарушений у пациентов с деменцией [13]. В более раннем исследовании 2014 г. также была отмечена связь между скоростью колебаний центра давления и когнитивными нарушениями. Данный стабилотрический показатель было предложено использовать как основной для оценки постуральных расстройств у пациентов с когнитивными нарушениями, в том числе и с болезнью Альцгеймера [14]. Однако существуют данные, что наиболее чувствительный параметр у пациентов с болезнью Альцгеймера — это переднезаднее колебание центра давления [15].

Еще одним нейродегенеративным заболеванием, привлекающим исследователей в связи с относительно высокой встречаемостью и тяжестью проявлений, является мультисистемная атрофия (МСА). При проведении стабилотрического обследования у больных МСА была выявлена разница в постуральном балансе между двумя подтипами МСА: паркинсоническим (МСА тип Р) и мозжечковым (МСА тип С). Анализ полученных данных позволил авторам предположить, что у пациентов с МСА типа С постуральные нарушения более выражены, чем у пациентов с МСА типа Р. Кроме того, было отмечено, что наибольший вклад в изменения стабилотрических показателей вносило наличие постурального тремора, характерного в большей степени для пациентов с МСА типа С [16].

Эссенциальный тремор (ЭТ) — одно из самых распространенных заболеваний экстрапирамидной системы [17]. Кроме того, в настоящее время существует гипотеза, что ЭТ является нейродегенеративным заболеванием [18]. В литературе исследования с использованием стабилотрии у пациентов с ЭТ встречаются чаще, чем при вышеописанных патологиях. Вероятно, это связано с повышенным интересом к недавно обнаруженному синдрому постуральных расстройств у пациентов с данной нозологией.

Сведения относительно постурального баланса у пациентов с ЭТ противоречивы. В одном из ранних исследований было продемонстрировано, что значения такого стабилотрического показателя, как общий путь центра давления, были значительно ниже у пациентов с ЭТ, чем у пациентов контрольной группы. При этом на этот показатель влияли когнитивные нарушения. Однако по стабилотрическому показателю «центр давления» различий между группами выявлено не было [19]. В исследованиях, проведенных позже, были обнаружены выраженная постуральная неустойчивость у пациентов с ЭТ и значительная разница стабилотрических показателей между пациентами с ЭТ и пациентами контрольной группы. Интересно, что выраженность постуральных нарушений не зависела от возраста пациентов и длительности течения ЭТ, как можно было предположить [20, 21]. Следует отметить, что авторы всех представленных исследований в качестве недостатка исследования называют малое количество выборки. Отечественными авторами С. Васичкиным и О. Левиным также было проведено стабилотрическое обследование пациентов с ЭТ. Полученные ими результаты не противоречат данным зарубежных коллег: показано увеличение значений основных стабилотрических показателей у пациентов с ЭТ в сравнении с контролем. Кроме того, выявлена зависимость постуральных показателей у пациентов с ЭТ от выраженности постурального и кинетического тремора верхних конечностей [22]. Описанное наблюдение согласуется с данными, полученными при обследовании пациентов с МСА, о влиянии постурального тремора на постуральный баланс [16]. При этом в исследовании пациентов с ЭТ, проведенном в 2006 г., описано влияние на постуральные показатели только тремора головы [19].

Наиболее широкое применение среди всех нейродегенеративных и экстрапирамидных заболеваний стабилотрия получила у пациентов с БП. С учетом накопленных данных данный вид исследования рассматривают как основной эффективный метод раннего выявления постуральной нестабильности у пациентов с БП [23]. Несмотря на многочисленное количество исследований в данной области, результаты разных авторов противоречивы. Некоторые авторы указывают на недостаток своих исследований в виде немногочисленности обследуемых групп и отсутствия деления пациентов в зависимости от стадии и формы БП. Так, максимальное количество пациентов с БП, вошедших в исследования постурального баланса, составляет 58 [24], а минимальное — 6 [25].

В большинстве исследований у пациентов с БП зарегистрированы более высокие значения показателей стабиллограммы (площадь колебаний центра давления, общий переднезадний и медиально-латеральный путь центра давления, средняя скорость колебаний, амплитуда колебаний центра давления), чем у пациентов контрольной группы [26–30], в других работах различия между данными показателями отсутствовали [31–33] или их значения были меньше [34, 35]. Исследование пациентов с ранними стадиями БП (I–II по шкале Хен – Яра) продемонстрировало, что уже на ранних стадиях заболевания формируется поструральная нестабильность. Более того, стабиллография чувствительна к данным изменениям в отличие от клинических методов диагностики [36–38]. Стабиллометрическое обследование пациентов с БП легло в основу предположения и подтверждения влияния когнитивных и простых моторных задач на поструральную нестабильность. Многие исследователи сообщили об увеличении значений показателей стабиллограммы в условиях наличия дополнительных когнитивных задач у пациентов с БП [36, 39].

Таким образом, стабиллометрия является чувствительным и надежным методом диагностики поструральных изменений у пациентов с нейродегенеративными заболеваниями и патологиями экстрапирамидной системы. Однако, несмотря на достаточно широкое использование данного метода, не разработаны основные принципы и подходы к использованию и интерпретации данных в связи с противоречивыми результатами. На сегодняшний день опубликованы данные всего нескольких исследований, посвященных оценке поструральной нестабильности на ранних стадиях БП и других заболеваний, с которыми следует проводить дифференциальную диагностику при подозрении на БП. Большинство авторов оценивают поструральный контроль во всех группах пациентов с БП без разделения на стадии и формы, что негативно влияет на интерпретацию результатов и дает противоречивую информацию о поструральном контроле. Существует явная необходимость в дальнейших исследованиях в данной области с расширением количества обследуемых пациентов и детальным анализом результатов с учетом фенотипических особенностей близких по клиническим проявлениям нозологий.

Литература

- Carini F, Mazzola M, Fici C, et al. Posture and posturology, anatomical and physiological profiles: overview and current state of art. *Acta Biomed.* 2017;88(1):11-16. <https://doi.org/10.23750/abm.v88i1.5309>.
- Scoppa F. Posturology: the neurophysiological model, the biomechanical model, the model psychosomatic. *Otoneurologia.* 2002;9:3-13.
- Barker V. Postura, Posizione e Movimento. Rome: Mediteranee;1998.
- Oravitan M. Posturology-fundamental concepts and practical applications. *Analele UVT-Seria EFS.* 2009;11:61-69.
- Гаже П.М., Вебер Б. Постурология. Регуляция и нарушения равновесия человека. – СПб.: СПбМАПО, 2008. [Posturologiya. Regulyatsiya i narusheniya ravnovesiya che-loveka. Saint Petersburg: SPbMAPO; 2008. (In Russ.)]
- Balasubramaniam R, Wing AM. The dynamics of standing balance. *Trends Cogn Sci.* 2002;6(12):531-536. [https://doi.org/10.1016/s1364-6613\(02\)02021-1](https://doi.org/10.1016/s1364-6613(02)02021-1).
- Barton JE, Roy A, Sorkin JD, et al. An engineering model of human balance control-part I: biomechanical model. *J Biomech Eng.* 2016;138(1). <https://doi.org/10.1115/1.4031486>.
- Winter DA. Human balance and posture control during standing and walking. *Gait Posture.* 1995;3(4):193-214. [https://doi.org/10.1016/0966-6362\(96\)82849-9](https://doi.org/10.1016/0966-6362(96)82849-9).
- Gori L, Firenzuoli F. Posturology. Methodological problems and scientific evidence. *Recenti Prog Med.* 2005;96(2):89-91.
- Reyes A, Salomonczyk D, Teo WP, et al. Computerised dynamic posturography in premanifest and manifest individuals with Huntington's Disease. *Sci Rep.* 2018;8(1):14615. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32924-y>.
- Fekete R, Davidson A, Ondo WG, Cohen HS. Effect of tetrabenazine on computerized dynamic posturography in Huntington disease patients. *Parkinsonism Relat Disord.* 2012;18(7):896-898. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2012.04.029>.
- Ondo W, Warrior D, Overby A, et al. Computerized posturography analysis of progressive supranuclear palsy: a case-control comparison with Parkinson's disease and healthy controls. *Arch Neurol.* 2000;57(10):1464-1469. <https://doi.org/10.1001/archneur.57.10.1464>.
- Sant'Anna P, Silva FO, Rodrigues A, et al. Posturographic analysis of older adults without dementia and patients with Alzheimer's disease: A cross-sectional study. *Dement Neuropsychol.* 2019;13(2):196-202. <https://doi.org/10.1590/1980-57642018dn13-020008>.
- Mignardot JB, Beauchet O, Annweiler C, et al. Postural sway, falls, and cognitive status: a cross-sectional study among older adults. *J Alzheimers Dis.* 2014;41(2):431-439. <https://doi.org/10.3233/JAD-132657>.
- Leandri M, Cammisuli S, Cammarata S, et al. Balance features in Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis.* 2009;16(1):113-120. <https://doi.org/10.3233/JAD-2009-0928>.
- Li X, Wang Y, Wang Z, et al. 3-Hz postural tremor in multiple system atrophy cerebellar type (MSA-C)-a static posturography study. *Neurol Sci.* 2018;39(1):71-77. <https://doi.org/10.1007/s10072-017-3130-3>.
- Шток В.Н., Левин О.С., Федорова Н.В. Руководство для врачей: экстрапирамидные расстройства. Классификация, терминология, диагностика, лечение. – М.: Медицинское информационное агентство, 2002. [Shtok VN, Levin OS, Fedorova NV. Rukovodstvo dlya

- врачей: экстрапиримидные расстройства. Классификация, терминология, диагностика, лечение. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe aginstvo; 2002. (In Russ.)]
18. Benito-Leon J. Essential tremor: a neurodegenerative disease? *Tremor Other Hyperkinet Mov (N Y)*. 2014;4:252. <https://doi.org/10.7916/D8765CG0>.
 19. Bove M, Marinelli L, Avanzino L, et al. Posturographic analysis of balance control in patients with essential tremor. *Mov Disord*. 2006;21(2):192-198. <https://doi.org/10.1002/mds.20696>.
 20. Hoskovicova M, Ulmanova O, Sprdlik O, et al. Disorders of balance and gait in essential tremor are associated with mid-line tremor and age. *Cerebellum*. 2013;12(1):27-34. <https://doi.org/10.1007/s12311-012-0384-4>.
 21. Prasad S, Velayutham SG, Reddam VR, et al. Shaky and unsteady: Dynamic posturography in essential tremor. *J Neurol Sci*. 2018;385:12-16. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.12.003>.
 22. Васичкин С.В., Левин О.С. Нарушения ходьбы и постуральной устойчивости у пациентов с эссенциальным тремором // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2016. – Т. 116. – № 6-2. – С. 88–90. [Vasichkin SV, Levin OS. Gait disorders and postural instability in patients with an essential tremor. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2016;116(6-2):88-90. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/jnevro20161166288-90>.
 23. Nardone A, Schieppati M. Balance in Parkinson's disease under static and dynamic conditions. *Mov Disord*. 2006;21(9):1515-1520. <https://doi.org/10.1002/mds.21015>.
 24. Adkin AL, Frank JS, Jog MS. Fear of falling and postural control in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2003;18(5):496-502. <https://doi.org/10.1002/mds.10396>.
 25. Schmit JM, Riley MA, Dalvi A, et al. Deterministic center of pressure patterns characterize postural instability in Parkinson's disease. *Exp Brain Res*. 2006;168(3):357-367. <https://doi.org/10.1007/s00221-005-0094-y>.
 26. Fukunaga JY, Quitschal RM, Dona F, et al. Postural control in Parkinson's disease. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2014;80(6):508-514. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2014.05.032>.
 27. Oude Nijhuis LB, Allum JH, Nanhoe-Mahabier W, Bloem BR. Influence of perturbation velocity on balance control in Parkinson's disease. *PLoS One*. 2014;9(1):e86650. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086650>.
 28. Ickenstein GW, Ambach H, Kloditz A, et al. Static posturography in aging and Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci*. 2012;4:20. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2012.00020>.
 29. Blaszczyk JW, Orawiec R, Duda-Klodowska D, Opala G. Assessment of postural instability in patients with Parkinson's disease. *Exp Brain Res*. 2007;183(1):107-114. <https://doi.org/10.1007/s00221-007-1024-y>.
 30. Stylianou AP, McVey MA, Lyons KE, et al. Postural sway in patients with mild to moderate Parkinson's disease. *Int J Neurosci*. 2011;121(11):614-621. <https://doi.org/10.3109/00207454.2011.602807>.
 31. Zawadka-Kunikowska M, Zalewski P, Klawe JJ, et al. Age-related changes in cognitive function and postural control in Parkinson's disease. *Aging Clin Exp Res*. 2014;26(5):505-510. <https://doi.org/10.1007/s40520-014-0209-z>.
 32. Ganesan M, Pal PK, Gupta A, Sathyaprabha TN. Dynamic posturography in evaluation of balance in patients of Parkinson's disease with normal pull test: concept of a diagonal pull test. *Parkinsonism Relat Disord*. 2010;16(9):595-599. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2010.08.005>.
 33. Johnson L, James I, Rodrigues J, et al. Clinical and posturographic correlates of falling in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2013;28(9):1250-1256. <https://doi.org/10.1002/mds.25449>.
 34. Ebersbach G, Baas H, Csoti I, et al. Scales in Parkinson's disease. *J Neurol*. 2006;253 Suppl 4:IV32-35. <https://doi.org/10.1007/s00415-006-4008-0>.
 35. Termoz N, Halliday SE, Winter DA, et al. The control of upright stance in young, elderly and persons with Parkinson's disease. *Gait Posture*. 2008;27(3):463-470. <https://doi.org/10.1016/j.gaitpost.2007.05.015>.
 36. Fernandes A, Coelho T, Vitoria A, et al. Standing balance in individuals with Parkinson's disease during single and dual-task conditions. *Gait Posture*. 2015;42(3):323-328. <https://doi.org/10.1016/j.gaitpost.2015.06.188>.
 37. Chastan N, Debono B, Maltete D, Weber J. Discordance between measured postural instability and absence of clinical symptoms in Parkinson's disease patients in the early stages of the disease. *Mov Disord*. 2008;23(3):366-372. <https://doi.org/10.1002/mds.21840>.
 38. Barbieri FA, Polastri PF, Baptista AM, et al. Effects of disease severity and medication state on postural control asymmetry during challenging postural tasks in individuals with Parkinson's disease. *Hum Mov Sci*. 2016;46:96-103. <https://doi.org/10.1016/j.humov.2015.12.009>.
 39. Ferrazzoli D, Fasano A, Maestri R, et al. Balance dysfunction in Parkinson's Disease: the role of posturography in developing a rehabilitation program. *Parkinsons Dis*. 2015;2015:520128. <https://doi.org/10.1155/2015/520128>.

Сведения об авторах / Information about the authors

Анастасия Владимировна Кудреватых — врач-невролог клиники ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург; ассистент кафедры неврологии и мануальной медицины последипломного образования ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург.

Anastasiya V. Kudrevatykh — MD, neurologist in Center for Neurodegenerative Diseases of Institute of Experimental Medicine Clinic, assistant of Department of Neurology and Manual Medicine, Faculty of Postgraduate education of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia.

Ирина Валентиновна Милухина — канд. мед. наук, врач-невролог, руководитель НКЦ нейродегенеративных заболеваний клиники ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; научный сотрудник отдела Экологической физиологии ФГБНУ ИЭМ; старший научный сотрудник НИЦ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; младший научный сотрудник ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург.

Irina V. Miliukhina — MD, PhD, neurologist, Head of the Center for Neurodegenerative Diseases of Institute of Experimental Medicine Clinic, Senior Researcher of Department of Ecological Physiology of IEM, Senior Researcher of Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Junior Researcher of Petersburg Nuclear Physics Institute, Saint Petersburg, Russia.

✉ **Контактное лицо / Corresponding author**

Анастасия Владимировна Кудреватых / Anastasiya V. Kudrevatykh
E-mail: kudrevatykh91@mail.ru

ЛЕКЦИЯ

LECTURE

УДК [616.12-089]
<https://doi.org/10.17816/MAJ17737>

SAS ENTERPRISE GUIDE 6.1 ДЛЯ ВРАЧЕЙ: КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ

Н.С. Буненков, Г.Ф. Буненкова, В.В. Комок, О.А. Гриненко, А.С. Немков

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Для цитирования: Буненков Н.С., Буненкова Г.Ф., Комок В.В., и др. SAS Enterprise Guide 6.1 для врачей: корреляционный анализ // Медицинский академический журнал. – 2020. – Т. 20. – № 1. – С. 51–56. <https://doi.org/10.17816/MAJ17737>

Поступила: 14.11.2019

Одобрена: 13.01.2020

Принята: 02.03.2020

Цель — разработать алгоритм обработки базы данных проспективного нерандомизированного исследования Assessment of Myocardial Ischemic-Reperfusion Injury During Off- and On-Pump CABG (AMIRI-CABG, ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03050489) в программном пакете SAS Enterprise Guide 6.1 для определения наличия и оценки силы корреляции между исследуемыми переменными.

Материалы и методы. В проспективное нерандомизированное исследование AMIRI-CABG (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03050489) в ПСПбГМУ им. И.П. Павлова с 2016 по 2019 г. включено 336 пациентов. Создана база данных с результатами клинических, лабораторных и инструментальных исследований. Статистическая обработка данных выполнена с использованием лицензионного программного обеспечения SAS Enterprise Guide 6.1. Корреляционный анализ проводили с применением коэффициентов Пирсона и Спирмена.

Результаты. Разработан алгоритм обработки данных проспективного нерандомизированного исследования AMIRI-CABG (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03050489), позволяющий выполнить корреляционный анализ. Данный алгоритм может быть использован врачами различных специальностей и научными сотрудниками для обработки результатов научных или клинических исследований.

Заключение. С помощью разработанного алгоритма обработки базы данных научного исследования и программного пакета SAS Enterprise Guide 6.1 врачи и научные сотрудники смогут упростить и ускорить корреляционный анализ результатов исследований.

Ключевые слова: SAS Enterprise Guide; статистическая обработка данных; статистика; клинические исследования; научные исследования; корреляционный анализ; коэффициент корреляции Пирсона; коэффициент корреляции Спирмена.

SAS ENTERPRISE GUIDE 6.1 FOR PHYSICIANS: CORRELATION ANALYSIS

N.S. Bunenkov, G.F. Bunenkova, V.V. Komok, A.A. Grinenko, A.S. Nemkov

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

For citation: Bunenkov NS, Bunenkova GF, Komok VV, et al. SAS Enterprise Guide 6.1 for physicians: correlation analysis. *Medical Academic Journal*. 2020;20(1):51-56. <https://doi.org/10.17816/MAJ17737>

Received: November 14, 2019

Revised: January 13, 2020

Accepted: March 2, 2020

Objective: to develop algorithm of correlation analysis of prospective non-randomized clinical trial AMIRI-CABG (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03050489) data using SAS Enterprise Guide 6.1.

Materials and methods. Data collection was performed according prospective non-randomized clinical trial AMIRI-CABG (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03050489) in Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia between 2016–2019 years with 336 patients. There is database with clinical, laboratory and instrumental data. Correlation analysis was performed with SAS Enterprise Guide 6.1.

Results. There was developed algorithm of correlation analysis data of prospective non-randomized clinical trial AMIRI-CABG (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03050489). This algorithm could be useful for physicians and researchers for data analysis.

Conclusion. Presented algorithm of correlation analysis could make easier and improve efficient data analysis with SAS Enterprise Guide 6.1.

Keywords: SAS Enterprise Guide 6.1; statistical analysis; clinical trials; correlation analysis; Pearson coefficient correlation; Spearman coefficient correlation.

Введение

Одной из целей научных исследований зачастую является установление зависимости между изучаемыми параметрами, например маркером в плазме крови и концентрацией препарата. Распространено мнение, что для выявления зависимости между двумя переменными необходимо оценить корреляцию, и если она существует, то говорят, что корреляция есть. Нередко слово «зависимость» заменяют словом «корреляция», и можно услышать вопрос: «Наблюдалась ли корреляция?» Однако наличие корреляции не подразумевает прямую причинно-следственную связь, так же как и отсутствие корреляции не исключает наличия связи между двумя переменными, в том числе причинно-следственной [3]. В ходе научного исследования в кардиохирургическом центре ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова возник вопрос: есть ли взаимосвязь между временем пережатия аорты при операциях коронарного шунтирования и уровнем тропонина I после операции?

В нашем примере мы взяли для анализа следующие переменные: TnIEndOp — уровень тропонина I к концу операции, TnI1 — уровень тропонина I на первые сутки после операции коронарного шунтирования, AoClamp — время пережатия аорты в минутах. Было сформировано три группы пациентов: первая группа — коронарное шунтирование без искусственного кровообращения, вторая группа — коронарное шунтирование с искусственным кровообращением, третья группа — коронарное шунтирование на параллельном искусственном кровообращении.

Цель данной работы состояла в написании алгоритма обработки базы данных проспективного нерандомизированного исследования AMIRI—CABG (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03050489) в программном пакете SAS Enterprise Guide 6.1, позволяющего выполнить корреляционный анализ.

Материалы и методы

В проспективное нерандомизированное исследование AMIRI—CABG (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03050489) в Научно-исследовательском центре сердечно-сосудистой хирургии ПСПбГМУ им. И.П. Павлова с 2016 по 2019 г. включено 336 пациентов с ишемической болезнью сердца, имеющих показания к операции коронарной реваскуляризации. Создана база данных с результатами клинических, лабораторных и инструментальных исследований. Статистическая обработка базы данных

проведена с использованием лицензионного программного обеспечения SAS Enterprise Guide 6.1.

Результаты и их обсуждение

Как и в ранее рассмотренных примерах, прежде чем выполнять корреляционный анализ, необходимо определить тип распределения изучаемых переменных [1]. Если распределение отличается от нормального, стоит попробовать привести его к нормальному распределению. Как это сделать, было рассмотрено ранее [1]. В нашем случае к нормальному виду удалось привести распределение переменной TnIEndOp (уровень тропонина I к концу операции) с помощью логарифмирования. Переменные TnI1 (уровень тропонина I на первые сутки после операции) и AoClamp (время пережатия аорты) привести к нормальному распределению не удалось. В случае нормально распределенных переменных и предположения о линейной связи между переменными корреляцию рассчитывали с помощью коэффициента Пирсона. Если распределение переменных отличается от нормального, то следует использовать коэффициент корреляции Спирмена. Следует отметить, что коэффициент корреляции Пирсона позволяет выявить линейную связь. Если связь носит нелинейный характер, то данный метод покажет отсутствие корреляции [2].

Далее представлен код, с помощью которого можно определить характер распределения, а также привести распределение к нормальному, если оно отличается от нормального.

```
ods graphics on;
/* Выполняем проверку на нормальность
распределения по критериям Колмогорова -
Смирнова или Шапиро - Уилка, если p>0,05
то распределение нормальное */
Proc UNIVARIATE DATA=WORK.'20_06_2019
work'n normaltest plots;
  where CPBType=2;
  VAR TnIEndOp TnI1 AoClamp;
run;
/* приведем к нормальному распределению
с помощью логарифмирования */
DATA NEWDATASET; /* Создаем новую
таблицу данных */
  SET WORK.'20_06_2019 work'n;
/* переносим в новую таблицу все наши
данные */
  LGTnI1=LOG10(TnI1); /* логарифмируем
с целью "нормализации" */
  LGTnIEndOp=LOG10(TnIEndOp);
  LGAoClamp=LOG(AoClamp);
RUN;
/* TnIEndOp - уровень тропонина
к концу операции
TnI1 - уровень тропонина на 1-е сут-
ки после операции
AoClamp - время пережатия аорты; */
```

После определения характера распределения переменных построим скатерограмму (рис. 1). Оценим, существует ли корреляция между повышением уровня тропонина I к концу операции и на первые сутки после операции.

```
/* Оценим характер связи между уровнем тропонина I к концу операции и уровнем тропонина I на 1-е сутки после операции */
proc sgplot data=NEWDATASET;
  WHERE CPBTYPE=2;
  title "Скатерограмма»;
  scatter x=LGTnIEndOp y=LGTnI1;
  ellipse x=LGTnIEndOp y=LGTnI1;
  label LGTnIEndOp = 'уровень тропонина I к концу операции';
  label LGTnI1 = 'уровень тропонина I на 1-е сутки после операции';
run;
```

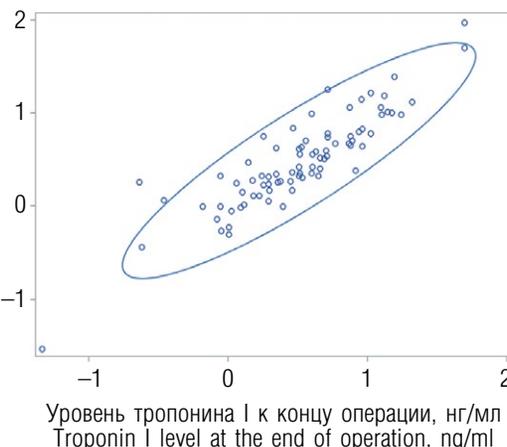
На рис. 1 видно, что точки стремятся распределиться вдоль наклонной прямой, следовательно, зависимость двух переменных носит линейный характер и можно применять линейный корреляционный анализ.

```
TITLE 'Корреляция исходных значений тропонина I к концу операции и на 1-е сутки после операции';
proc corr DATA=WORK.'20_06_2019 work'n
  pearson spearman kendall hoeffding fisher;
  WHERE CPBTYPE=2;
  var TnI1;
  with TnIEndOp;
run;
```

Примечания.

pearson — указываем, чтобы рассчитать коэффициент корреляции Пирсона (две исследуемые переменные распределены нормально);

Уровень тропонина I на 1-е сутки после операции, нг/мл
Troponin I level on the 1st postoperative day, ng/ml



- Уровень тропонина I к концу операции, нг/мл
Troponin I level at the end of operation, ng/ml
- 95 % доверительный эллипс
95% prediction ellipse

Рис. 1. Скатерограмма зависимости уровня тропонина I на первые сутки после операции от уровня тропонина I к концу операции

Fig. 1. Scatter plot for correlation analysis of troponin I level at the end of operation and on the 1st postoperative day

spearman — указываем, чтобы рассчитать коэффициент корреляции Спирмена (одна или две исследуемые переменные имеют распределение, отличающееся от нормального);

kendall — указываем, чтобы рассчитать коэффициент корреляции Кендалла;

fisher — указываем, чтобы рассчитать доверительный интервал корреляции.

Нажимаем кнопку «**Выполнить**» (рис. 2).

Получаем результаты, обращаем внимание на следующую таблицу (рис. 3).

```
ods graphics on;
/*
  Выполняем проверку на нормальность распределения по
  Критериям Колмогорова-Смирнова или Шапиро-Уилка, если p>0,05 то распределение нормальное
*/
proc UNIVARIATE DATA=WORK.'20_06_2019 work'n normaltest plots;
  where CPBType=2;
  VAR TnIEndOp TnI1 AoClamp;
run;
/*
  приведем к нормальному распределению с помощью логарифмирования
*/
DATA NEWDATASET; /* Создаем новую таблицу данных */
SET WORK.'20_06_2019 work'n; /* переносим в новую таблицу все наши данные */
LGTnI1=LOG10(TnI1); /* логарифмируем */
LGTnIEndOp=LOG10(TnIEndOp);
LGAoClamp=LOG(AoClamp);
RUN;
/*
  TnIEndOp - уровень тропонина к концу операции
  TnI1 - уровень тропонина на 1 сутки после операции
  AoClamp - время пережатия аорты;
*/
Оценим характер связи между уровнем тропонина I к концу операции и уровнем тропонина I на 1 сутки
proc sgplot data=WORK.'20_06_2019 work'n ;
  WHERE CPBTYPE=2;
  title "Скатерограмма";
  scatter x=TnIEndOp y=TnI1;
  ellipse x=TnIEndOp y=TnI1;
  label TnIEndOp = 'уровень тропонина I к концу операции';
  label TnI1 = 'уровень тропонина I на 1-е сутки после операции';
run;
/*
  Рассчитаем корреляцию уровня тропонина I к концу операции и на 1 сутки после операции
*/
TITLE 'Корреляция исходных значений тропонина I к концу операции и на 1 сутки после операции';
proc corr DATA=WORK.'20_06_2019 work'n pearson spearman kendall hoeffding fisher;
  WHERE CPBTYPE=2;
  var TnI1;
```

Рис. 2. Расчет корреляции

Fig. 2. Correlation analysis

Pearson Correlation Statistics (Fisher's z Transformation)									
Variable	With Variable	N	Sample Correlation	Fisher's z	Bias Adjustment	Correlation Estimate	95% Confidence Limits		p Value for H0:Rho=0
TnI1	TnIEndOp	81	0.90346	1.49072	0.00565	0.90241	0.851930	0.936278	<.0001

Spearman Correlation Statistics (Fisher's z Transformation)									
Variable	With Variable	N	Sample Correlation	Fisher's z	Bias Adjustment	Correlation Estimate	95% Confidence Limits		p Value for H0:Rho=0
TnI1	TnIEndOp	81	0.87681	1.36179	0.00548	0.87553	0.812515	0.918325	<.0001

Рис. 3. Результаты корреляционного анализа

Fig. 3. Correlation analysis results

Поскольку одна из переменных имеет распределение, отличающееся от нормального, то берем результаты из раздела Spearman Correlation Statistic (см. рис. 3). Значение корреляции — 0,88 (сильная корреляция), 95 % доверительный интервал — 0,81–0,92, уровень значимости $p < 0,0001$. Коэффициент детерминации $0,88^2 = 0,77$. Это означает, что одна переменная способна объяснить 77 % вариативности другой, что свидетельствует о сильной связи двух переменных.

Таким образом, уровень тропонина I на первые сутки после операции сильно коррелирует с уровнем тропонина I к концу операции. Безусловно, исходя из патофизиологии ишемически-реперфузионного повреждения миокарда, полученный вывод предполагался, но с целью демонстрации возможностей SAS и наглядности был выбран анализ двух переменных, между которыми, очевидно, существует связь.

Теперь выполним корреляционный анализ с целью выявления связи между длительностью пережатия аорты (AoClamp) и уровнем тропонина I к концу операции (TnIEndOp). Строим

скатерограмму:

```
TITLE 'Зависимость уровня тропонина I от времени пережатия аорты';
proc sgplot data=NEWDATASET;
  WHERE CPBType=2;
  title "Скатерограмма";
  scatter x=AoClamp y=LGTnIEndOp;
  ellipse x=AoClamp y=LGTnIEndOp;
  label AoClamp = 'время пережатия аорты';
  label TnIEndOp = 'уровень тропонина I к концу операции';
run;
```

После нажатия кнопки «Выполнить» получим скатерограмму (рис. 4) зависимости уровня тропонина I к концу операции от времени пережатия аорты.

Обращает на себя внимание широкий разброс точек от границ эллипса: достаточно сложно провести прямую, вдоль которой могло бы расположиться большинство точек, эллипс стремится к контуру окружности (см. рис. 4). Уже по скатерограмме понятно, что корреляция между временем пережатия аорты и степенью повышения тропонина I концу операции отсутствует.

Рассчитаем коэффициент корреляции Спирмена.

```
TITLE 'Корреляция уровня тропонина I к концу операции и времени пережатия аорты';
proc corr DATA=NEWDATASET pearson spearman kendall hoeffding fisher;
  where CPBTYPE=2;
  var AoClamp;
  with LGTnIEndOp;
  label LGTnIEndOp = 'уровень тропонина I к концу операции';
run;
```

Полученный результат представлен на рис. 5.

Корреляция между временем пережатия аорты и уровнем тропонина I к концу операции — 0,4 (слабая), 95 % доверительный интервал — 0,19–0,57 — относительно широкий, уровень значимости $p = 0,0002$ (корреляция статистически значима). Коэффициент детерминации $0,4^2 = 0,16$. Исходя из расчетов, одна переменная

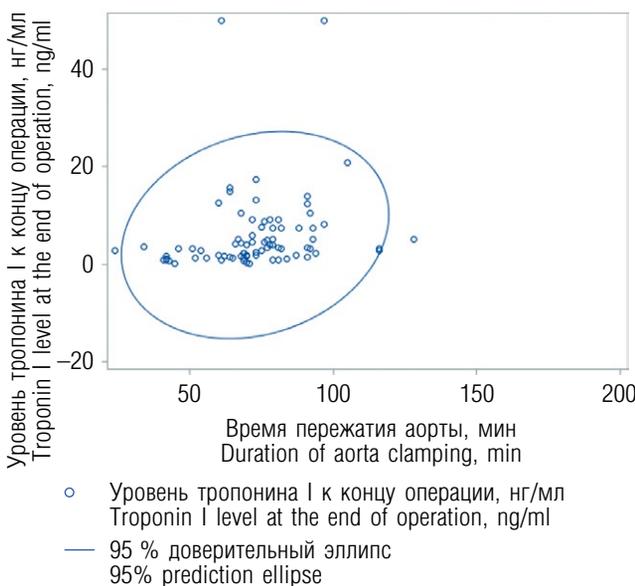


Рис. 4. Скатерограмма между временем пережатия аорты и уровнем тропонина I к концу операции

Fig. 4. Scatter plot aorta clamping time – troponin I level

Pearson Correlation Statistics (Fisher's z Transformation)								
Variable	With Variable	N	Sample Correlation	Fisher's z	Bias Adjustment	Correlation Estimate	95% Confidence Limits	p Value for H0:Rho=0
AoClamp	LGTnlEndOp	80	0.45889	0.49591	0.00290	0.45660	0.263293 0.614650	<.0001

Spearman Correlation Statistics (Fisher's z Transformation)								
Variable	With Variable	N	Sample Correlation	Fisher's z	Bias Adjustment	Correlation Estimate	95% Confidence Limits	p Value for H0:Rho=0
AoClamp	LGTnlEndOp	80	0.39768	0.42089	0.00252	0.39556	0.192582 0.566080	0.0002

Рис. 5. Корреляция между временем пережатия аорты и уровнем тропонина I к концу операции

Fig. 5. Correlation analysis aorta clamping time – troponin I level

ная объясняет только 16 % вариабельности другой переменной, что крайне мало. Таким образом, можно заключить, что время пережатия аорты не влияет на повышение уровня тропонина I к концу операции. В случае коэффициента корреляции $r < 0,4$ говорят о слабой связи, при $0,4 < r < 0,8$ — о связи средней силы, при $r > 0,8$ — о сильной связи.

Как уже упоминалось, отсутствие корреляции может говорить об отсутствии линейной связи двух переменных, но возможна нелинейная связь. Может быть, она присутствует в нашем случае? На этот вопрос помогает ответить скатерограмма, представленная на рис. 4. Разброс точек стремится к равномерности, что говорит об отсутствии не только линейной связи, но и нелинейной. В случае нелинейной зависимости корреляционный анализ покажет отсутствие корреляции, поэтому при поиске зависимости между двумя переменными следует строить скатерограммы. Пример нелинейной зависимости между двумя переменными рассмотрен на рис. 6.

Следует отметить, что корреляционный анализ широко упоминается в российской литературе, но для понимания границ его применимости и интерпретации результатов необходимы знания биостатистики [2].

Несмотря на отсутствие корреляции, нельзя исключить наличия связи между исследуемыми переменными. Возможно, стоит одну из исследуемых переменных попробовать привести к бинарному виду и применить логистическую регрессию.

Разработанный алгоритм корреляционного анализа представлен таким образом, чтобы врач, никогда не работавший с программным продуктом SAS Enterprise Guide 6.1, мог обработать свою базу данных. Одно из преимуществ SAS — возможность достаточно просто рассчитать доверительный интервал для коэффициента корреляции, следует только указать в процедуре корреляционного анализа **fisher**, в то время как в других программных продуктах такой возможности нет и доверительные интервалы для коэффициентов корреляции необходимо рассчитывать вручную [2]. В данной

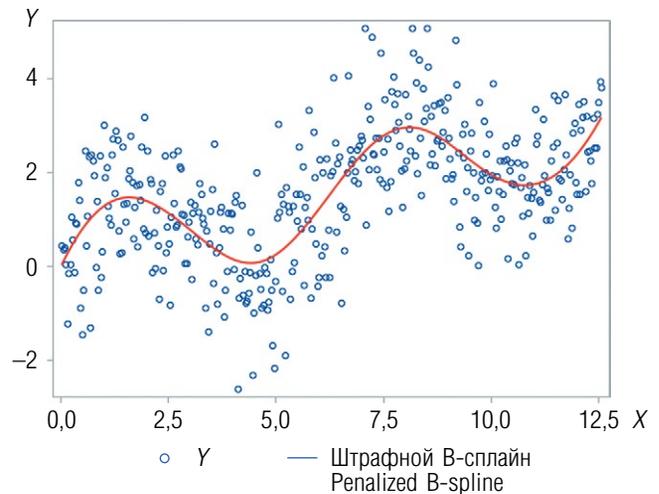


Рис. 6. Нелинейная связь между двумя переменными

Fig. 6. Nonlinear relationship

статье рассмотрены вопросы практического применения корреляционного анализа в программном пакете SAS, теоретические аспекты затронуты лишь в малой степени, так как прекрасно представлены в российской литературе [2–5].

Таким образом, SAS Enterprise Guide 6.1 предоставляет полный набор современных методов обработки данных, необходимых врачу-исследователю.

Выводы

1. SAS Enterprise Guide 6.1 позволяет быстро и удобно выполнять корреляционный анализ, что делает этот программный пакет интересным для врачей.
2. Разработанный алгоритм корреляционного анализа может применяться исследователями для обработки различных баз данных научных и клинических исследований.

Дополнительная информация

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Оценка регенеративного потенциала пациента при операциях на сердце».

Соблюдение этических норм. Выполнение исследования одобрено протоколом локального этического комитета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Гржибовский А.М. Корреляционный анализ // Экология человека. – 2008. – № 9. – С. 50–60. [Grjibovski AM. Correlation analysis. *Ecology, human*. 2008;(9):50-60. (In Russ.)]
2. Гржибовский А.М., Иванов С.В., Горбатова М.А. Корреляционный анализ данных с использованием программного обеспечения STATISTICA и SPSS // Наука и здравоохранение. – 2017. – № 1. – С. 7–36. [Grjibovski AM, Ivanov SV, Gorbatova MA. Correlation analysis of data using statistica and spss software. *Nauka i zdravo-okhranenie*. 2017;(1):7-36. (In Russ.)]
3. Гржибовский А.М., Иванов С.В., Горбатова М.А. Экологические (корреляционные) исследования в здравоохранении // Наука и здравоохранение. – 2015. – № 5. – С. 5–18. [Grjibovski AM, Ivanov SV, Gorbatova MA. Ecological (correlation) studies in health sciences. *Nauka i zdravookhranenie*. 2015;(5):5-18. (In Russ.)]
4. Унгурияну Т.Н., Гржибовский А.М. Корреляционный анализ с использованием пакета статистических программ STATA // Экология человека. – 2014. – Т. 9. – С. 60–64. [Unguryanu TN, Grjibovski AM. Correlation analysis using STATA. *Ecology, human*. 2014;9:60-64. (In Russ.)]

Сведения об авторах / Information about the authors

Николай Сергеевич Буненков — аспирант кафедры факультетской хирургии, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-4331-028X>. E-mail: bunenkov2006@gmail.com.

Nikolay S. Bunenkov — aspirant, Department of Faculty Surgery, First Pavlov State Medical University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-4331-028X>. E-mail: bunenkov2006@gmail.com.

Гулнара Физулиевна Буненкова — клинический ординатор кафедры госпитальной терапии, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: gulnara533@gmail.com.

Gulnara F. Bunenkova — resident, Department of Hospital Therapy, First Pavlov State Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: gulnara533@gmail.com.

Владимир Владимирович Комок — канд. мед. наук, кардиохирург отделения кардиохирургии № 2, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-3834-7566>. E-mail: vladimir_komok@mail.ru.

Vladimir V. Komok — PhD, Cardiac Surgeon, Department of Cardiac Surgery No. 2, First Pavlov State Medical University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-3834-7566>. E-mail: vladimir_komok@mail.ru.

Олег Александрович Гриненко — д-р мед. наук, проректор по лечебной работе, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: klinika@spb-gmu.ru.

Oleg A. Grinenko — Doctor of Medical Science, Vice-rector, First Pavlov State Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: klinika@spb-gmu.ru.

Александр Сергеевич Немков — д-р мед. наук, профессор, кардиохирург, руководитель отделения кардиохирургии № 2, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-5152-0001>. E-mail: nemk_as@mail.ru.

Alexander S. Nemkov — Doctor of Medical Science, Professor, Cardiac Surgeon, Chief of Department of Cardiac Surgery No. 2, First Pavlov State Medical University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-5152-0001>. E-mail: nemk_as@mail.ru.

✉ Контактное лицо / Corresponding author

Николай Сергеевич Буненков / Nikolay S. Bunenkov
E-mail: bunenkov2006@gmail.com

УДК 617.518:611.013.6

<https://doi.org/10.17816/MAJ34103>

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМНОЙ СТВОЛОВОЙ ТЕРАПИИ НА ПОВЕДЕНИЕ ПОТОМСТВА САМОК-КРЫС С ТРАВМОЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Т.В. Авалиани, О.Р. Федотова, С.Г. Цикунов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Для цитирования: Авалиани Т.В., Федотова О.Р., Цикунов С.Г. Влияние мезенхимной стволовой терапии на поведение потомства самок-крыс с травмой головного мозга // Медицинский академический журнал. – 2020. – Т. 20. – № 1. – С. 57–64. <https://doi.org/10.17816/MAJ34103>

Поступила: 28.11.2019

Одобрена: 21.01.2020

Принята: 02.03.2020

Современные исследования свидетельствуют о потенциальной возможности использования мезенхимных стволовых клеток в лечении травм головного мозга. Внутривенное введение мезенхимных стволовых клеток взрослым крысам с травмой головного мозга приводит к восстановлению поведенческого и неврологического статуса и способствует нормализации материнского поведения. В данной работе показано, что однократная трансплантация сингенных мезенхимных стволовых клеток (5 млн) в кровотоки самок крыс с моторным дефицитом оказывает корректирующее влияние на поведение их потомства: предотвращает развитие нарушений исследовательского и локомоторного поведения в тесте «открытое поле» и уменьшает эмоциональные расстройства.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма; терапия; мезенхимные стволовые клетки; поведение потомства; крысы.

INFLUENCE OF MESENCHYMAL STEM THERAPY ON THE BEHAVIOR OF THE PROGENY OF SAM-RATS WITH BRAIN INJURY

T.V. Avaliani, O.R. Fedotova, S.G. Tsikunov

Institute of Experimental Medicine Saint Petersburg, Russia

For citation: Avaliani TV, Fedotova OR, Tsikunov SG. Influence of mesenchymal stem therapy on the behavior of the progeny of sam-rats with brain injury. *Medical Academic Journal*. 2020;20(1):57-64. <https://doi.org/10.17816/MAJ34103>

Received: November 28, 2019

Revised: January 21, 2020

Accepted: March 2, 2020

Current research suggests the potential use of mesenchymal stem cells (MSCs) in the treatment of brain injuries. Intravenous administration of MSCs to adult rats with brain injury leads to the restoration of behavioral and neurological status and helps to normalize maternal behavior. In this work, it was shown that a single transplantation of syngeneic mesenchymal stem cells (5 mln) into the bloodstream of female rats with motor deficiency has a corrective effect on the behavior of their offspring: it prevents the development of violations of research and locomotor behavior in the Open Field test and reduces emotional disorders.

Keywords: brain injury; therapy; mesenchymal stem cells; offspring behavior; rats.

Введение

Для предупреждения развития патологии у потомства, рожденного от травмированных матерей, в экспериментах и клинической практике применяют различные методы. В частности, показано, что введение полиненасыщенных жирных кислот крысам с травмой мозга уменьшает патологические проявления у их потомства [1, 2]. У беременных женщин применение полиненасыщенных жирных кислот приводит к существенному улучшению статуса новорожденных группы «риска» [3].

Одним из современных методов предупреждения последствий мозговых нарушений является клеточная терапия. Наиболее перспективным материалом для клеточной терапии считают использование мезенхимных стволовых клеток (МСК). Это плюрипотентные клетки, способные дифференцироваться в остеогенном, хондрогенном, адипоцитарном, миоцитарном, кардиомиоцитарном, а также в нейрональном и глиальном направлениях [4, 5]. В модели черепно-мозговой травмы введение стволовых клеток

Список сокращений

МСК — мезенхимные стволовые клетки; ОП — открытое поле.

крысам способствует значительному улучшению моторных и неврологических функций [6]. Клеточная терапия после черепно-мозговой травмы предотвращает апоптоз и повышает выживаемость нейронов в зоне дефекта и близлежащих структурах мозга [7], улучшает функциональное состояние крыс [8], что в свою очередь приводит к восстановлению поведенческого и неврологического статуса животных. Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о потенциальной возможности использования МСК в лечении мозговых нарушений [9].

У потомства от самок крыс с травмой мозга, полученной до или во время беременности, отмечаются моторные, поведенческие и иммунные нарушения. Выраженность этих нарушений у крысят зависит от времени нанесения травмы, ее локализации и межполушарной функциональной асимметрии матерей [10–12].

Цель данной работы — изучить поведенческие реакции крыс, рожденных от матерей с травмой головного мозга и получавших в качестве терапии одноразовую внутривенную инъекцию МСК.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на половозрелых крысах-самках породы Вистар массой 250–300 г и на их одномесячном потомстве.

Группы экспериментальных животных: группа А — интактные взрослые самки ($n = 8$) и их одномесячное потомство ($n = 30$); группа Б — крысы-самки, у которых удален участок сенсомоторной коры ($n = 13$), и их одномесячное потомство ($n = 47$); группа В — крысы-самки, которым непосредственно после повреждения головного мозга в хвостовую вену было введено 5 млн МСК в 100 мкл культуральной среды ($n = 13$), и их одномесячное потомство ($n = 48$).

Повреждение сенсомоторной коры головного мозга у взрослых самок проводили по стандартной методике [13]. Для премедикации внутримышечно вводили 0,2 мл рометара (Rometar, Чехия). Затем через 15 мин наркотизировали посредством интраперитонеального введения препарата Zoletil 100 (2,5 мг/кг) (Virbac, Франция). Обработывали поверхность головы 5 % раствором йода. Делали продольный разрез кожи на голове длиной 2,5 см. Очищали надкостницу с предварительной анестезией 0,5 % раствором новокаина. С помощью бора делали отверстие по следующим координатам: AP = 2,0, ML = 2,5 (область заднелобной сенсомоторной коры, зона двигательного анализатора). В области отверстия делали надрез твердой мозговой оболочки и экстирпировали с помощью мозговой ло-

жечки участок сенсомоторной коры справа или слева ($S = 1,0 \times 1,0 \text{ мм}^2$). Глубина повреждения составляла 1 мм. Зашивали кожный разрез шелковыми нитками, обрабатывали рану стрептоцидом. Для предотвращения воспалительного процесса вводили 1 мл бициллина-3 (30 000 ЕД) в мышцу задней конечности. При проведении операции использовали стереотаксический прибор фирмы Medicor (Венгрия).

Сразу после операции самкам в хвостовую вену вводили недифференцированные флуоресцентно меченные МСК по 5 млн клеток в 100 мкл среды α MEM. Сингенные мезенхимные стволовые клетки были выделены, культивированы, фенотипированы и окрашены флуорохромом РКН 26 в ООО «Транс-Технологии» по стандартной методике [14].

Самцов к самкам подсаживали через месяц после операции.

Анализ поведения

На 4-е и 20-е сутки после родов оценивали материнское поведение самок крыс по показателям времени сбора разбросанных по клетке крысят в гнездо и выживаемости потомства (индекс жизнеспособности и индекс лактации) [23]. Поведение потомства анализировали в одномесячном возрасте в тесте «открытое поле» (ОП). Животное помещали в центр поля и регистрировали длительность и последовательность поведенческих актов на основании классификации индивидуального поведения, предложенного В.П. Пошиваловым, с поправками Е.С. Петрова и В.В. Шабаева [15]. Оценивали ориентировочно исследовательскую активность: акты «норки», «локомоция», «стойки с упором», «обнюхивание»; эмоциональное состояние — акты «груминг», «движение на месте», «вертикальные стойки»; локомоторное поведение — акты «локомоция», «сидит», «движение на месте», «фризинг». Длительность и последовательность всех актов поведения регистрировали в оригинальной программе Open Field для IBM PC, разработанной сотрудниками Физиологического отдела им. И.П. Павлова ФГБНУ ИЭМ Е.С. Петровым и В.В. Шабаевым [15]. Математический анализ данных выполняли с помощью непараметрического критерия Вилкоксона и критерия Манна – Уитни (программа Statistica v. 6.0) с уровнем надежности ($p \leq 0,05$).

Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище. Исследования проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных целей (Страсбург, 1986).

Работа выполнена с разрешения этического комитета ФГБНУ ИЭМ № 2/16 от 12.05.2016.

Результаты и их обсуждение

Анализ материнского поведения экспериментальных самок крыс

У самок с травмой мозга (группа Б) наблюдалось нарушение материнского поведения: повышенная агрессивность, каннибализм. Самки затрачивали длительное время для обнюхива-

ния клетки, формирование гнезда и только потом собирали разбросанных крысят. Время возвращения в гнездо крысят самками группы В (травма мозга и введение МСК) также было достоверно высоким, но ниже, чем в группе Б (табл. 1).

Индекс жизнеспособности и лактации у крысят группы В не отличался от контроля

Таблица 1 / Table 1

Материнское поведение и выживаемость потомства
Maternal behavior and survival of offspring

Группы самок	Среднее время сбора одного крысенка, с	Индекс жизнеспособности, 4-е сутки, %	Индекс лактации, 21-е сутки, %
А — интактные ($n = 8$)	$6,6 \pm 2,4$	92 ± 8	92 ± 8
Б — с травмой мозга ($n = 8$)	$29,5 \pm 7,4^{**} \#$	$82 \pm 9^*$	$72 \pm 15^*$
В — с травмой мозга + МСК ($n = 8$)	$16,5 \pm 5,2^*$	90 ± 10	90 ± 10

Примечание. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ — уровень значимости по сравнению с группой А; # $p \leq 0,05$ — уровень значимости по сравнению с группой В; МСК — мезенхимные стволовые клетки.

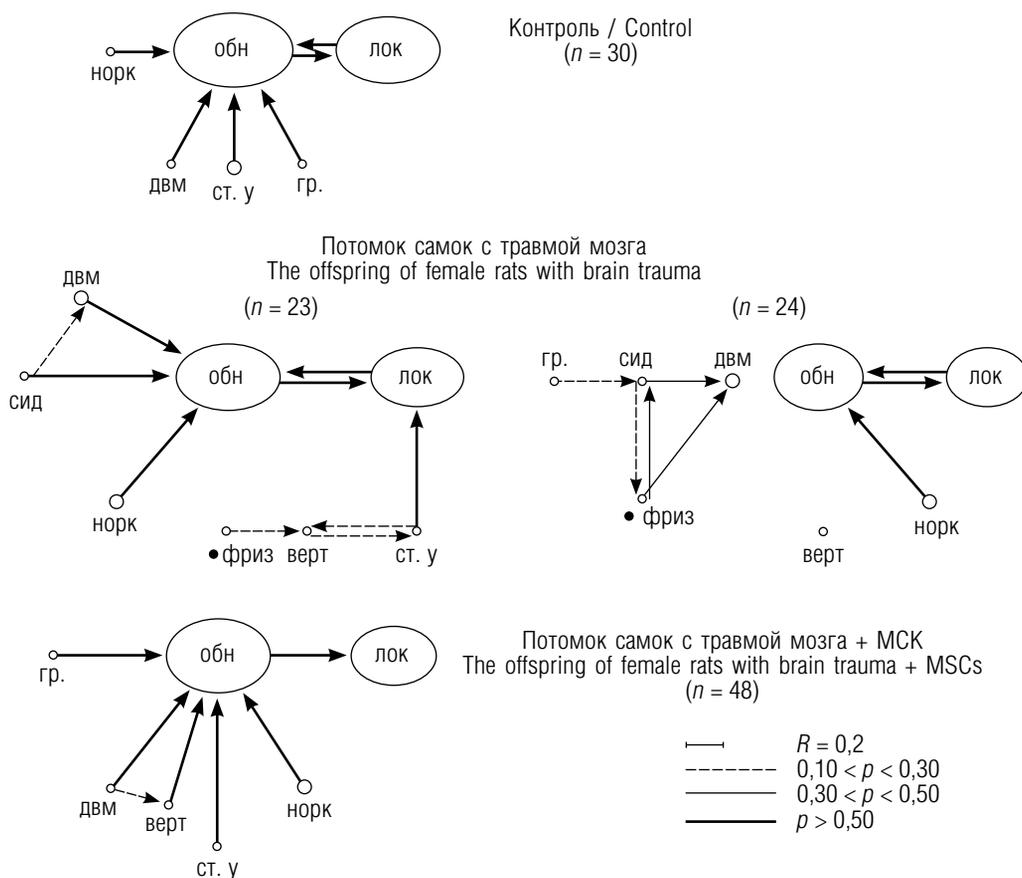


Рис. 1. Графы поведения одномесячных крысят в тесте «открытое поле»: обн — обнюхивание, лок — локомоция, ст. у — стойки с упором, гр. — груминг, сид — сидит, верт — вертикальные стойки, фриз — фризинг, двм — движение на месте, норк — норки; R — радиус окружности; пунктирная линия — вероятность появления актов; толщина линий — вероятность перехода одних актов в другие; МСК — мезенхимные стволовые клетки

Fig. 1. Graphs of behavior of one-month-old rats in the open field test: обн — sniffing, лок — locomotion, ст. у — stand with support, гр. — grooming, сид — sitting, верт — vertical stand, фриз — freezing, двм — moving in place; норк — hole; R is the radius of the circle; dashed line — probability of occurrence of acts; line thickness — the probability of the transition of some acts to others; MSCs — mesenchymal stem cells

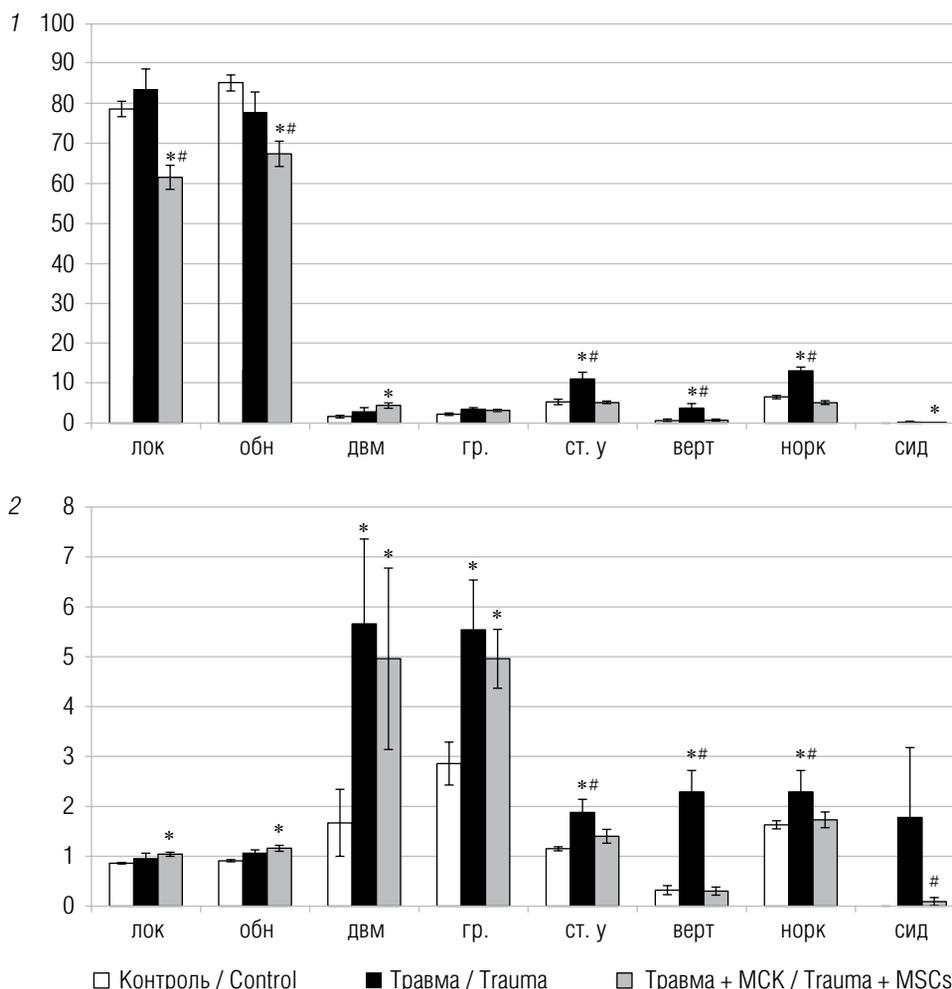


Рис. 2. Поведение контрольных и экспериментальных одномесячных крысят: 1 — количество актов; 2 — длительность акта. Обозначения: лок — локомоция, обн — обнюхивание, двм — движение на месте, гр. — груминг, ст. у — стойки с упором, верт — вертикальные стойки, норк — норки, сид — сидит; * $p \leq 0,05$ — уровень значимости по сравнению контролем; # $p \leq 0,05$ — уровень значимости по сравнению с группой «травма»; МСК — мезенхимные стволовые клетки

Fig. 2. The behavior of the control and experimental one-month-old rats: 1 — number of acts; 2 — duration of the act. Designations: лок — locomotion, обн — sniffing, двм — movement in place, гр. — grooming, ст. у — stand with support, верт — vertical stand, норк — hole, сид — sitting; * $p \leq 0.05$ — significance level compared to control; # $p \leq 0.05$ — significance level compared with the trauma group; MSCs — mesenchymal stem cells

в отличие от крысят группы Б, в которой наблюдалась высокая частота гибели крысят.

Полученные данные свидетельствуют о нарушении материнского поведения у самок-крыс с травмой сенсомоторной коры, что приводит к гибели части потомства. Введение стволовых клеток травмированным самкам способствует значительному улучшению материнского поведения и выживаемости потомства.

Структура поведения крысят в одномесячном возрасте в тесте ОП зависела от состояния их матерей. Наиболее выраженные изменения поведения зарегистрированы у потомства от самок с травмой мозга (рис. 1). Это прежде всего нарушение целостности поведения и изменение последовательности переходов одних актов в другие. Введение МСК травмирован-

ным самкам способствовало восстановлению целостности поведения крысят в тесте ОП, что свидетельствует о положительном эффекте МСК-терапии. Однако восстановление поведения не было полным, графы поведения отличались от контроля.

На рис. 2 представлены показатели отдельных видов поведения. В экспериментальной группе крысят, матерям которых после травмы вводили МСК, прежде всего было изменено двигательное поведение (акты «локомоция» и «движение на месте»), а также акт «обнюхивание», которыми обычно завершается переход к другим видам поведения. Исследовательское поведение соответствовало контролю («норки», «стойки с упором»). Отмечалось частичное изменение эмоционального поведения — дли-

тельность актов «груминг» увеличилась почти в 2 раза, но акты «вертикальная стойка», которые также характеризуют эмоциональность, как по количеству, так и по длительности соответствовали контролю.

Обсуждение

Мезенхимные стволовые клетки широко применяют в экспериментальных и клинических исследованиях. По данным фундаментальных исследований последних лет, клеточные технологии могут способствовать репаративным процессам в поврежденных тканях и органах [16–18]. Методы с использованием стволовых клеток включают замену утраченных нейронов и высвобождение факторов роста для поддержки и стимулирования эндогенных процессов репарации [19, 20]. Одним из общих признаков МСК является их мультипотентность. Как МСК костного мозга и жировой ткани, так и клетки пуповинной крови (UC-MSCs) обладают потенциалом для дифференцировки в различные типы клеток [21]. Доклинические и клинические испытания указывают на безопасность и восстановление неврологического статуса при терапии МСК. Показаны успешная миграция трансплантированных МСК в мозг и их локализация в области повреждения [8, 9].

При травме мозга МСК секретуют ряд ростовых и трофических факторов, которые непосредственно влияют на поврежденные, но еще жизнеспособные нейроны, предотвращая их гибель. Это в свою очередь приводит к восстановлению поведенческого и неврологического статуса животных [17, 18, 22].

Период развития плода определяет качество последующего развития и во многом зависит от функционального состояния матери. В постнатальном периоде поведение определяется не только генетическими факторами, но и материнской заботой. Нарушенное материнское поведение вызывает у потомства весь спектр психических отклонений на сенсорном, когнитивном, эмоциональном и социальном уровнях [24].

В данной работе учитывали время сбора самками разбросанных по клетке крысят и выживаемость потомства. Это позволяет оценить материнское поведение по удобным для измерения параметрам [23].

Пренатальные воздействия различной природы влияют на формирование функциональных систем развивающегося организма и вызывают долговременные изменения в поведении. У животных с поврежденным участком сенсомоторной коры поведение в тесте

ОП через 10 нед. после травмы продолжало деградировать в отличие от крыс из группы клеточной терапии, которые и через 10 нед. были в 2 раза активнее, хотя и не достигали уровня интактных животных [22]. Выявленные в нашей работе факты свидетельствуют о нарушении материнского поведения у самок-крыс с травмой сенсомоторной коры, что обуславливает изменение поведения потомства. После МСК-терапии матерей крыс демонстрировали целостность поведения в тесте ОП. Однако графы поведения отличались от контроля. Отдельные виды поведения крысят также не достигали контрольных показателей. У потомства травмированных крыс и после МСК-терапии снижена двигательная активность и увеличено эмоциональное напряжение, но при этом исследовательское поведение соответствует контролю.

Исследование в данной области расширяет представление о влиянии трансплантации МСК. Результаты данной работы могут быть использованы при разработке способов предупреждения нарушений поведения у потомства, рожденного матерями с травмой мозга.

Выводы

Травма мозга самок крыс вызывает двигательные и эмоциональные расстройства у их потомства.

Однократная трансплантация мультипотентных стволовых клеток (5 млн) в кровотоки самкам крыс с моторным дефицитом оказывает корректирующее воздействие на материнское поведение.

Введение МСК травмированным самкам способствует восстановлению целостности поведения крысят в тесте ОП, но структура поведения отличается от нормы.

Клеточная терапия матерей предотвращает развитие нарушений исследовательского и частично локомоторного поведения у потомства. Однако у крысят отмечается высокая эмоциональная напряженность.

Литература

1. Авалиани Т.В., Чеботарь Н.А. Полиненасыщенные жирные кислоты уменьшают индуцированные патологические нарушения у крысят // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2002. – Т. 38. – № 1. – С. 62–65. [Avaliani TV, Chebotar' NA. Polyunsaturated fatty acids reduce induced pathological disorders in rat pups. *Zh Evol Biokhim Fiziol.* 2002;38(1):62-65. (In Russ.)]
2. Авалиани Т.В., Абдаладзе Н.С., Лазаренко Н.С., Клименко В.М. Полиненасыщенные жирные кислоты предотвра-

- щают развитие локомоторных нарушений, вызванных изменением нейрогуморального фона у крысят // Онтогенез. – 2010. – Т. 41. – № 3. – С. 221–227. [Avaliani TV, Abdaladze NS, Lazarenko NS, Klimenko VM. Polyunsaturated fatty acids prevent the development of locomotor disorders caused by changes in the neurohumoral background in rat pups. *Ontogenez*. 2010;41(3):221–227. (In Russ.)]
3. Абдаладзе Н.С., Авалиани Т.В., Цикунов С.Г. Протекция неврологических нарушений у новорожденных Омега-3 полиненасыщенными жирными кислотами // Педиатр. – 2014. – Т. 5. – № 3. – С. 75–82. [Abdaladze NS, Avaliani TV, Tsikunov SG. Protection of the neurological dysfunctions of newborn by omega-3 acids. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2014;5(3):75–82. (In Russ.)]
 4. Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells *in vitro*. *Exp Neurol*. 2000;164(2):247–256. <https://doi.org/10.1006/exnr.2000.7389>.
 5. Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res*. 2000;61(4):364–370. [https://doi.org/10.1002/1097-4547\(20000815\)61:4<364::AID-JNR2>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1097-4547(20000815)61:4<364::AID-JNR2>3.0.CO;2-C).
 6. Авалиани Т.В., Федотова О.Р., Соколова И.Б., Цикунов С.Г. Коррекция моторного дефицита мезенхимными стволовыми клетками у крыс с травмой доминантного полушария // Сборник статей Всероссийской конференции «Современные направления в исследовании функциональной межполушарной асимметрии и пластичности мозга»; Москва, 2–3 декабря 2010 г. – М., 2010. – С. 3–6. [Avaliani TV, Fedotova OR, Sokolova IB, Tsikunov SG Korrektsiya motornogo defitsita mezenkhimnymi stvolovymi kletkami u kryis s travmoy dominantnogo polushariya. In: *Proceedings of the All-Russian conference "Sovremennye napravleniya v issledovanii funktsional'noy mezhpolusharnoy asimmetrii i plastichnosti mozga"*; Moscow, 2–3 Dec 2010. Moscow, 2010. P. 3–6. (In Russ.)]
 7. Половников Е.В., Ступак В.В., Самохин А.Г., и др. Влияние мезенхимных стромальных клеток костного мозга и жировой ткани человека на эффективность восстановления неврологического дефицита в модели черепно-мозговой травмы у крыс // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 3-2. – С. 301–304. [Polovnikov EV, Stupak VV, Samokhin AG, et al. Human bone marrow and adipose tissue derived mesenchymal stromal cell influence on neurological deficit recovery in a model of severe traumatic brain injury in rats. *Bulletin of Eastern-Siberian Scientific Center*. 2012;(3-2):301–304. (In Russ.)]
 8. Григорян А.С., Гилерович Е.Г., Павличенко Н.Н., и др. Влияние трансплантации мезенхимальных стволовых клеток на сохранность нейронов и развитие глиального рубца в головном мозге крыс, перенесших тяжелую черепно-мозговую травму // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2010. – № 4. – С. 233–237. [Grigoryan AS, Gilerovich EG, Pavlichenko NN, et al. Vliyanie transplantatsii mezenkhimal'nykh stvolovykh kletok na sohrannost' neyronov i razvitiya glial'nogo rubtsa v golovnom mozge kryis, pereneshikh tyazheluyu cherepno-mozgovuyu travmu. *Kletchnye tekhnologii v biologii i meditsine*. 2010;4:233–237. (In Russ.)]
 9. Lu J, Mochhala S, Moore XL, et al. Adult bone marrow cells differentiate into neural phenotypes and improve functional recovery in rats following traumatic brain injury. *Neurosci Lett*. 2006;398(1-2):12–17. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.12.053>.
 10. Авалиани Т.В., Федотова О.Р., Лазаренко Н.С. Влияние измененной материнской среды на поведение потомства // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2005. – Т. 91. – № 11. – С. 1329–1337. [Avaliani TV, Fedotova OR, Lazarenko NS. Vliyanie izmenennoy materinskoy sredy na povedenie potomstva. *Russian journal of physiology*. 2005;91(11):1329–1337. (In Russ.)]
 11. Авалиани Т.В., Константинов К.В., Сизов В.В., Цикунов С.Г. Особенности пространственно-временной организации биоэлектрической активности мозга у потомства от крыс с латерализованной травмой мозга // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – Т. 99. – № 10. – С. 1149–1159. [Avaliani TV, Konstantinov KV, Sizov VV, Tsikunov SG. Features of an existential organization of a bioelectric activity of the brain at posterity from rats with a lateral injury of the brain. *Russian journal of physiology*. 2013;99(10):1149–1159. (In Russ.)]
 12. Огурцов Р.П., Авалиани Т.В., Пузырева В.П., и др. Унилатеральное повреждение сенсомоторной коры доминантного или субдоминантного полушария у самок крыс Вистар определяет неврологический и иммунный статус потомства // Доклады Академии наук. – 2004. – Т. 399. – № 4. – С. 563–566. [Ogurtsov RP, Avaliani TV, Puzyreva VP, et al. Unilateral injury of the sensorimotor cortex of the dominant or subdominant hemisphere in female Wistar rats determines the neurological and immune statuses of their offspring. *Dokl Akad Nauk*. 2004;399(4):563–566. (In Russ.)]
 13. Белошицкий В.В. Современные принципы моделирования черепно-мозговой травмы в эксперименте // Нейронауки: теоретические и клинические аспекты. – 2005. – Т. 1. – № 1. – С. 81–87. [Beloshiitskiy VV. Sovremennye printsipy modelirovaniya cherepno-mozgovoy travmy v eksperimente. *Neyronauki: teoreticheskie i klinicheskie aspekty*. 2005;1(1):81–87.
 14. Соколова И.Б., Зинькова Н.Н., Билибина А.А., и др. Возможности применения клеточной терапии при лечении ишемического инсульта в эксперименте // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – Т. 2. – № 4. – С. 54–62. [Sokolova IB, Zin'kova NN, Bilibina AA, et al Cellular therapy potential in the treatment of ischemic stroke in experiment. *Cellular transplantology and tissue engineering*. 2007;2(4):54–62. (In Russ.)]
 15. Петров Е.С. Изучение нейробиологических основ сложных безусловных рефлексов в Физиологическом отделе им. И.П. Павлова: итоги последних лет // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 1990. – Т. 76. – № 12. – С. 1669–1681. [Petrov ES. Izuchenie neyrobilogicheskikh osnov slozhnykh bezusloynykh refleksov v Fiziologicheskome otdelime im. I.P. Pavlova: itogi poslednykh let. *Russian journal of physiology*. 1990;76(12):1669–1681. (In Russ.)]

16. Цыб А.Ф., Рошаль Л.М., Конопляников А.Г., и др. Оценка психофизиологического состояния крыс после черепно-мозговой травмы и системной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток // Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2007. — № 2. — С. 104–108. [Tsyb AF, Roshal LM, Konoplyannikov AG, et al. Otsenka psikhofiziologicheskogo sostoyaniya krys posle cherepno-mozgovoy travmy i sistemnoy transplantatsii mezenkhimal'nykh stvolovykh kletok. *Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine*. 2007;(2):104-108. (In Russ.)]
17. Цыб А.Ф., Рошаль Л.М., Южаков В.В. и др. Морфофункциональное изучение терапевтического эффекта аутологичных мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной диффузной травме головного мозга крыс // Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2006. — № 3. — С. 157–165. [Tsyb AF, Roshal LM, Yuzhakov VV, et al. Morfofunktsional'noe izuchenie terapevticheskogo effekta autologichnykh mezenkhimal'nykh stvolovykh kletok pri eksperimental'noy diffuznoy travme golovnoy mozga krys. *Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine*. 2006;(3):157-165. (In Russ.)]
18. Соколова И.Б., Полянцев Д.Г. Эффективность применения мезенхимных стволовых клеток для улучшения микроциркуляции в коре головного мозга спонтанно гипертензивных крыс // Цитология. — 2017. — Т. 59. — № 4. — С. 279–284. [Sokolova IB, Polyntsev DG. Efficacy of mesenchymal stem cells used for the improvement cerebral microcirculation in spontaneously hypertensive rats. *Cell and tissue biology*. 2017;59(4):279-284. (In Russ.)]
19. Chen KH, Chen CH, Wallace CG, et al. Intravenous administration of xenogenic adipo-derived mesenchymal stem cells (ADMSC) and ADMSC-derived exosomes markedly reduced brain infarct volume and preserved neurological function in rat after acute ischemic stroke. *Oncotarget*. 2016;7(46):74537-74556. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12902>.
20. Zhang Y, Yao H. Potential therapeutic mechanism and tracking of transplanted stem cells: implications for stroke treatment. *Stem Cells Int*. 2017;2017:2707082. <https://doi.org/10.1155/2017/2707082>.
21. Cho YH, Kim HS, Lee KH, et al. The behavioral effect of human mesenchymal stem cell transplantation in cold brain injured rats. *Acta Neurochir Suppl*. 2006;99:125-132. https://doi.org/10.1007/978-3-211-35205-2_24.
22. Соколова И.Б., Федотова О.Р., Цикунов С.Г., Полянцев Д.Г. Восстановление ориентировочно-исследовательского поведения крыс после травмы головного мозга с помощью мезенхимных стволовых клеток // Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2011. — № 1. — С. 26–28. [Sokolova IB, Fedotova OR, Tsikunov SG, Polyntsev DG. Mesenchymal stem cells restore orientation and exploratory behavior of rats after brain injury. *Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine*. 2011;(1):26-28. (In Russ.)]
23. Плюснина И.З., Таранцев И.Г., Булушев Е.Д., и др. Анализ материнского поведения у ручных и агрессивных серых крыс // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. — 2013. — Т. 63. — № 3. — С. 375–383. [Plyusnina IZ, Tarantsev IG, Bulushev ED, et al. Analiz materinskogo povedeniya u ruchnykh i agressivnykh serykh krys. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 2013;63(3):375-383. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.7868/S004446771303009X>.
24. Абдаладзе Н.С. Моделирование и коррекция психомоторных расстройств новорожденных: Дис. ... канд. мед наук. — СПб., 2011. [Abdaladze NS. Modelirovanie i korrrektsiya psikhomotornykh rasstroystv novorozhdennykh. [dissertation] Saint Petersburg; 2011. (In Russ.)]

Сведения об авторах / Information about the authors

Татьяна Варламовна Авалиани — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории Психофизиологии эмоций Физиологического отдела им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-0342-3810>. SPIN-код: 3743-1169. E-mail: tanaavaleeani@mail.ru.

Ольга Ростиславовна Федотова — научный сотрудник лаборатории Психофизиологии эмоций Физиологического отдела им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-5894-8393>. SPIN-код: 8181-1830. E-mail: fedot2003@mail.ru.

Tatyana V. Avaliani — Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Psychophysiology of Emotion at the Physiological Department named after I.P. Pavlov, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-0342-3810>. SPIN-code: 3743-1169. E-mail: tanaavaleeani@mail.ru.

Olga R. Fedotova — Researcher at the Laboratory of Psychophysiology of Emotion at the Physiological Department named after I.P. Pavlov, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-5894-8393>. SPIN-code: 8181-1830. E-mail: fedot2003@mail.ru.

Сергей Георгиевич Цикунов — д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией Психофизиологии эмоций Физиологического отдела им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-7097-1940>. SPIN-код: 7771-1940. E-mail: secikunov@yandex.ru.

Sergey G. Tsikunov — Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Psychophysiology of Emotion at the Physiological Department named after I.P. Pavlov, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-7097-1940>. SPIN-code: 7771-1940. E-mail: secikunov@yandex.ru.

✉ **Контактное лицо / Corresponding author**

Татьяна Варламовна Авалиани / Tatyana V. Avaliani
E-mail: tanaavaleeani@mail.ru

УДК 577.218

<https://doi.org/10.17816/MAJ16437>

ДЕЙСТВИЕ ИНСУЛИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА АПОЛИПОПРОТЕИНА А-I В МАКРОФАГАХ ЧЕЛОВЕКА

Е.В. Некрасова¹, К.В. Данько², В.С. Шавва¹, Э.Б. Дижэ¹, Г.Н. Олейникова¹, С.В. Орлов^{1,2}¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

Для цитирования: Некрасова Е.В., Данько К.В., Шавва В.С., и др. Действие инсулина на экспрессию гена аполипопротеина А-I в макрофагах человека // Медицинский академический журнал. – 2020. – Т. 20. – № 1. – С. 65–74. <https://doi.org/10.17816/MAJ16437>

Поступила: 14.01.2020

Одобрена: 20.02.2020

Принята: 02.03.2020

Цель исследования — изучить влияние инсулина на уровень экспрессии гена аполипопротеина А-I (*apoA-I*) в макрофагах человека и выявить основные сигнальные каскады, ответственные за инсулин-опосредованную регуляцию.

Материалы и методы. Работа выполнена на макрофагах, дифференцированных из линии острой моноцитарной лейкемии ТНР-1, и на макрофагах, дифференцированных из моноцитов периферической крови человека. Анализ экспрессии гена *apoA-I* на уровне РНК проведен методом полимеразной цепной реакции в реальном времени, на уровне белка — методом проточной цитофлуориметрии. Для выявления сигнальных каскадов, ответственных за инсулин-опосредованную регуляцию гена *apoA-I* в макрофагах, использован ингибиторный анализ.

Результаты. Инсулин индуцирует транскрипцию гена *apoA-I* в макрофагах человека, но приводит к снижению уровня аполипопротеина А-I, связанного с наружной поверхностью мембраны. За индукцию транскрипции *apoA-I* в ответ на стимуляцию макрофагов инсулином отвечает сигнальный каскад PI3K — АКТ и факторы транскрипции NF-κB и LXRs.

Заключение. С учетом полученных ранее данных можно предположить, что стимуляция макрофагов инсулином повышает уровень мРНК аполипопротеина А-I и таким образом увеличивает амплитуду противовоспалительного ответа, заключающегося в резком возрастании уровня поверхностного аполипопротеина А-I в макрофагах при действии на них провоспалительных стимулов (фактора некроза опухоли альфа, липополисахаридов).

Ключевые слова: аполипопротеин А-I; инсулин; макрофаги человека; NF-κB; LXR; АКТ; PI3K.

EFFECT OF THE INSULIN ON THE APOLIPOPROTEIN A-I GENE EXPRESSION IN HUMAN MACROPHAGES

E.V. Nekrasova¹, K.V. Danko², V.S. Shavva¹, E.B. Dizhe¹, G.N. Oleinikova¹, S.V. Orlov^{1,2}¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;² Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

For citation: Nekrasova EV, Danko KV, Shavva VS, et al. Effect of the insulin on the apolipoprotein A-I gene expression in human macrophages. *Medical Academic Journal*. 2020;20(1):65-74. <https://doi.org/10.17816/MAJ16437>

Received: January 14, 2020

Revised: February 20, 2020

Accepted: March 2, 2020

The aim of the article — to study the effect of insulin on apolipoprotein A-I gene expression level in human macrophages and to reveal the main signal cascades which take part in the insulin-mediated regulation of apolipoprotein A-I gene.

Materials and methods. The experiments were carried out on the macrophages differentiated from acute monocytic leukemia cell line THP-1 and on the macrophages differentiated from the monocytes isolated from peripheral human blood. The analysis of *apoA-I* gene expression was performed by RealTime RT-PCR (on the mRNA level)

Список сокращений

ЛПВП — липопротеины высокой плотности; ЛПНП — липопротеины низкой плотности; ЛПС — липополисахариды; ПЦР — полимеразная цепная реакция; ПЦР в реальном времени (англ. RealTime PCR) — полимеразная цепная реакция в режиме реального времени; ABCA1 — АТФ-связанный касетный транспортер подсемейства А1; apoA-I — аполипопротеин А-I; BSA — бычий сывороточный альбумин; FCS — телячья эмбриональная сыворотка; PBS — натрий-фосфатный буфер; PI3K — фосфатидилинозитол-3-киназа; TNFα — фактор некроза опухоли альфа.

and by flow cytofluorometry. To study the signalling cascades which take part in the insulin-mediated regulation of *apoA-I* gene the inhibitory analysis was used.

Results. Insulin induces the human *apoA-I* gene transcription in macrophages, but decreases the level of the ApoA-I protein which binds to outer cytoplasmic membrane of macrophages. The insulin-mediated transcription of *apoA-I* gene depends on PI3K-AKT signal cascade and transcription factors NF- κ B and LXRs.

Conclusions. Taking into account our previous data it is plausible to conclude that the elevation of ApoA-I mRNA in human macrophages after insulin treatment leads to an increase of the amplitude of macrophages anti-inflammatory response, which consists in a sharp rise in the level of surface ApoA-I in macrophages under the some proinflammatory stimuli (TNF α , LPS).

Keywords: apolipoprotein A-I; insulin; human macrophages; NF- κ B; LXR; AKT; PI3K.

Введение

Циркуляция липидов в плазме крови млекопитающих — важнейший процесс, обеспечивающий жизнедеятельность организма. Нарушения липидного обмена у человека (дислипидотеинемии) приводят к развитию ряда серьезных заболеваний, включая атеросклероз. При этом снижение уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), принимающих участие в обратном транспорте холестерина из периферических тканей в печень, в плазме крови является одним из факторов риска развития атеросклероза [1]. Помимо участия в обратном транспорте холестерина, аполипопротеин А-I (ApoA-I) функционирует в качестве кофактора лецитинхолестеринацилтрансферазы [2], проявляет антиоксидантные свойства [3], а также способен ограничивать воспалительные реакции. В частности, показана способность ApoA-I блокировать активацию макрофагов Т-лимфоцитами и ограничивать продукцию фактора некроза опухоли альфа (TNF α) и интерлейкина 1 бета [4, 5]. ApoA-I угнетает и другой провоспалительный фактор — С-реактивный белок [6]. С другой стороны, ApoA-I служит негативным показателем острой фазы воспалительного ответа — при развитии воспаления экспрессия гена *apoA-I* в печени и тонкой кишке резко снижается [7–9], а циркулирующий в плазме крови белок ApoA-I вытесняется из ЛПВП сывороточным амилоидом и разрушается сывороточными протеазами [4]. Установлено, что главными транспортерами холестерина к местам синтеза стероидных гормонов в стероидогенных тканях и органах млекопитающих (включая человека) являются ЛПВП, а белок, контролирующий этот процесс, — ApoA-I [10]. Основной белковый компонент ЛПВП млекопитающих — ApoA-I (более 70 % общего содержания белка ЛПВП у человека) [11]. У человека ApoA-I в основном синтезируется в печени и тонкой кишке [12]. В предыдущих исследованиях мы показали экспрессию гена *apoA-I* человека на уровне мРНК и белка в клетках моноцитарно-макрофагального

ряда [13–15]. Дифференцировка моноцитов в макрофаги приводит к разделению единой по уровню ApoA-I популяции моноцитов на ApoA-I-бедные и ApoA-I-богатые макрофаги [13, 14]. Уровень эндогенного ApoA-I коррелирует с уровнем АТФ-связанного кассетного транспортера подсемейства A1 (ABCA1). Более того, эндогенный ApoA-I способен стабилизировать ABCA1 [13]. В отличие от гепатоцитов, в которых секреция ApoA-I приводит к формированию ЛПВП в плазме крови, в макрофагах секретруемый ApoA-I связан с внешней поверхностью цитоплазматической мембраны (поверхностный ApoA-I макрофагов). Это в значительной степени обусловлено взаимодействием ApoA-I с кассетным транспортером ABCA1 [13]. Подавление синтеза ApoA-I в макрофагах человека способствует усилению их провоспалительной активности, в частности, повышается базовая продукция провоспалительного цитокина TNF α , рецептора липополисахаридов (ЛПС) — толл-подобного рецептора 4 (TLR4) (может также взаимодействовать с модифицированными липопротеинами низкой плотности — ЛПНП), а также повышается уровень воспалительного ответа на ЛПС [13]. В свою очередь, уровень экспрессии *apoA-I* в моноцитах и макрофагах повышается (как на уровне мРНК, так и на уровне белка) при стимуляции макрофагов TNF α [14] или в условиях гипоксии [15]. Полученные данные позволяют рассматривать эндогенный ApoA-I как важный модулятор функционального состояния макрофагов.

Регуляция экспрессии гена *apoA-I* в макрофагах человека носит зеркальный характер относительно регуляции в основных местах синтеза данного белка — гепатоцитах и энтероцитах тонкой кишки. В частности, стимуляция клеток провоспалительным цитокином TNF α приводит к подавлению активности гена *apoA-I* в клетках HepG2 (модель гепатоцитов) и клетках Caco-2 (модель энтероцитов) [7–9], но активирует экспрессию гена *apoA-I* в моноцитах и макрофагах человека [13, 14]. Более того, факторы транскрипции LXR α и LXR β , являющиеся лиганд-зависи-

мыми репрессорами гена *apoA-I* в гепатоцитах [8, 16], в моноцитах и макрофагах активируют ген *apoA-I* [14]. Причинами подобной зеркальной регуляции могут быть белок-белковые взаимодействия между ядерными рецепторами LXR α и факторами транскрипции FOXO1 и FOXA2 (специфичен для гепатоцитов и эритроцитов, отсутствует в моноцитах и макрофагах) [17, 18].

Инсулин играет центральную роль в поддержании гомеостаза углеводов и липидов в организме [19]. Нарушения инсулинового сигналинга приводят к развитию сахарного диабета 2-го типа и вносят существенный вклад в развитие метаболического синдрома [20–22]. Роль инсулина в воспалительном процессе довольно противоречива. С одной стороны, известно, что инсулин блокирует ряд провоспалительных сигнальных путей и подавляет экспрессию провоспалительных генов [23–25]. С другой стороны, инсулин может проявлять провоспалительные свойства. Так, например, инсулин усиливает секрецию TNF α и IL-6 в макрофагах, дифференцированных из клеток ТНР-1 (острая моноцитарная лейкемия человека), индуцированных с помощью ЛПС [26]. Инсулин усиливает захват макрофагами модифицированных ЛПНП через индукцию экспрессии одного из сквенджер-рецепторов (CD36) и ограничивает отток холестерина из макрофагов на ЛПВП, снижая уровень ABCA1 в макрофагах [27]. В гепатоцитах инсулин подавляет синтез ApoA-I через факторы транскрипции FOXO1 и LXR α [17]. Ничего не известно о возможной регуляции экспрессии гена *apoA-I* инсулином в макрофагах человека.

Цель данной работы заключалась в изучении действия инсулина на экспрессию гена *apoA-I* в макрофагах человека и выявлении основных сигнальных каскадов, принимающих участие в такой регуляции.

Материалы и методы

Реактивы для работы были получены от зарубежных (Sigma-Aldrich, ThermoFisher, R&D Systems) и российских производителей. Агонист LXR α (TO901317), ингибиторы сигнальных путей (ингибитор фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) LY2940023, ингибитор NF- κ B QNZ) и инсулин были получены от фирмы Sigma-Aldrich. Моноклональные мышинные антитела к ApoA-I человека приобретены у компании Bio-Rad (кат. номер 0650-0050). В качестве вторых антител использовали ослиные антитела против иммуноглобулинов мыши, меченные DyLight-649 (Abcam, кат. номер ab6669-1).

Клеточные культуры и макрофаги, дифференцированные из моноцитов периферической крови человека

В работе использовали линию клеток ТНР-1, полученную из банка клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург, Россия). Клетки ТНР-1 культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением 10 % телячьей эмбриональной сыворотки (FCS) (HyClone), в атмосфере 5 % CO $_2$ при 37 °С. Дифференцировку моноцитов ТНР-1 в макрофаги проводили, инкубируя моноциты с фобол-12-миристат-13-ацетатом (англ. phorbol 12-myristate 13-acetate — PMA) (50 нг/мл) по протоколу, описанному ранее [28].

Консервированную донорскую кровь, непригодную для переливания, закупали на станции переливания крови (Московский пр., 104), перевозили в здание отдела биохимии Института экспериментальной медицины в охлажденном виде. Доноры подписывали информированное добровольное согласие. Для получения первичных макрофагов выделяли мононуклеары из крови человека с помощью центрифугирования в градиенте плотности фикола, как описано в [29]. Для этого в 50-миллилитровые пробирки наливали 15 мл фикола и сверху наслаивали 35 мл крови, центрифугировали 30 мин (2000 об/мин (1500 g), 18 °С). Затем отбирали слой, содержащий мононуклеарные клетки, и дважды отмывали раствором Хенкса. Осадок ресуспендировали в культуральной среде RPMI-1640, содержащей 10 % FCS, разливали по лункам планшетов и инкубировали при 37 °С в атмосфере 5 % CO $_2$ в течение 2 ч для адгезии моноцитов. После этого моноциты отмывали от не прикрепившихся к субстрату клеток (лимфоциты) в растворе Хенкса, к отмывым моноцитам добавляли свежую культуральную среду RPMI-1640, содержащую 10 % FCS, и дифференцировали моноциты в макрофаги при 37 °С в атмосфере 5 % CO $_2$ в течение 5 сут.

Выделение РНК, реакции обратной транскрипции и полимеразная цепная реакция в реальном времени

Выделение РНК, постановка реакций обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (англ. RealTime PCR) описаны ранее [8]. Тотальную РНК из культивируемых клеток выделяли с использованием реагента RNA STAT-60 (Tel-Test) в соответствии с инструкциями изготовителя. Остатки геномной ДНК удаляли обработкой ДНКазой I, свободной от РНКаз (Roche Applied Science) в течение 30 мин при 37 °С. Реакцию останавливали добавлением натриевой соли

этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) до конечной концентрации 2 мМ с последующей инактивацией ДНКазы I прогреванием при 70 °С в течение 15 мин. Концентрацию и чистоту РНК определяли с помощью планшетного спектрофотометра Synergy 2 (BioTek). Отношение оптических плотностей при длинах волн 260 и 280 нм было выше 2, и отношение оптических плотностей при 260 и 230 нм было выше 1,7. Отсутствие деградации РНК проверяли электрофорезом в 1 % агарозном геле по сохранению целостности рибосомных РНК. Для проведения реакции обратной транскрипции брали равное количество РНК для всех точек. Реакцию обратной транскрипции (с 1 мкг тотальной РНК) проводили с помощью праймеров oligo-dT и специфических 3'-праймеров к гену *apoA-I* и реактивов компании Promega.

Полимеразную цепную реакцию в реальном времени осуществляли по технологии Taqman или по интеркаляции SYBRGreen с применением амплификатора CFX-96 производства компании Bio-Rad. Компоненты реакционной смеси были приобретены у компании Синтол (Москва, Россия). Праймеры и флуоресцентные пробы для *apoA-I* и референсных генов, кодирующих 60S кислый рибосомальный белок P0 (RPLP0), циклофилин А и β-актин, были описаны ранее [8, 13, 17, 30]. Относительный уровень мРНК гена *apoA-I* оценивали совместно с детекцией референсных генов в той же реакции (мультиплексная ПЦР). Нормализацию результатов выполняли по геометрическому среднему из трех референсных генов, как описано ранее [31]. Число циклов ПЦР для каждого гена, при котором уровень флуоресценции превышал в 10 раз значения стандартного отклонения флуоресценции в фоновой флуоресценции, определяли с помощью CFX-96 RealTime PCR System and automated software (Bio-Rad). Относительные значения уровня мРНК *apoA-I* (в процентах относительно контрольного образца) вычисляли по формуле

$$2^{(Ct(\text{control}) - Ct(\text{опыт}))} \cdot 100.$$

Проточная цитофлуориметрия

Макрофаги фиксировали в 4 % формальдегиде в течение 10 мин при 22 °С, отмывали 3 раза в натрий-фосфатном буфере (PBS) с 0,1 М глицина и инкубировали 40 мин при 22 °С с блокирующим буфером (PBS, 1 % бычий сывороточный альбумин (BSA), 3 % FCS, неспецифические человеческие иммуноглобулины G (1 мкг/мл) и 0,02 % Tween-20). Клетки ТНР-1 обрабатывали мышинными моноклональными антителами против человеческого

ApoA-I (Bio-Rad, кат. номер 0650-0050), разведение 1/250 (PBS, 1 % BSA и 0,02 % Tween-20), в течение 2 ч при 22 °С, отмывали 3 раза в PBS и инкубировали со вторыми ослиными поликлональными антителами против мышинных белков иммуноглобулинов G, конъюгированных с красителем DyLight 649 (Abcam, кат. номер ab6669-1), разведение 1/1000 (PBS, 1 % BSA и 0,02 % Tween-20), в течение часа при 22 °С. Затем клетки отмывали 3 раза в PBS и фиксировали в PBS с 1 % формальдегидом для проточной цитофлуориметрии. Клетки ТНР-1, обработанные вторичными антителами, но не инкубированные с антителами против ApoA-I, использовали в качестве контроля специфичности иммуноокраски (изотип-контроль). Проточная цитофлуориметрия и клеточный сортинг были проведены с применением Epics Altra flow cytometer (Beckman Coulter, США) и программы FCSalyzer (<https://sourceforge.net/projects/fcsalyzer/>).

Статистический анализ

Результаты представляли как среднее арифметическое ± стандартная ошибка среднего. Статистический анализ различий между сравниваемыми группами выполняли путем проверки по критерию Стьюдента (non-paired *t*-test) и Даннета. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Все статистические анализы выполняли в программе Statistica 5.0 (StatSoft, Inc., США).

Результаты и обсуждение

В предыдущих исследованиях мы показали дозозависимое действие инсулина на активность гена *apoA-I* в гепатоцитах [17]. При концентрации 0,7 нМ экспрессия *apoA-I* усиливалась через 24 ч, через 48 ч эффект исчезал. Добавление к гепатоцитам инсулина в концентрации 100 нМ не оказывало эффекта на уровень мРНК *apoA-I* через 24 ч инкубации, но приводило к подавлению экспрессии гена через 48 ч инкубации. Возможное влияние инсулина на синтез *apoA-I* в макрофагах человека оценивали методом ПЦР в реальном времени, используя две концентрации инсулина — 0,7 и 100 нМ. Первая концентрация соответствует физиологическому уровню инсулина в крови после приема пищи. Инсулин в концентрации 100 нМ применяют в экспериментах *in vitro* стандартно. В качестве положительного контроля использовали TNFα (20 нг/мл), который стимулирует экспрессию гена *apoA-I* в макрофагах человека [14]. Во всех точках время инкубации клеток (либо макрофагов, дифференцированных из моноцитов перифе-

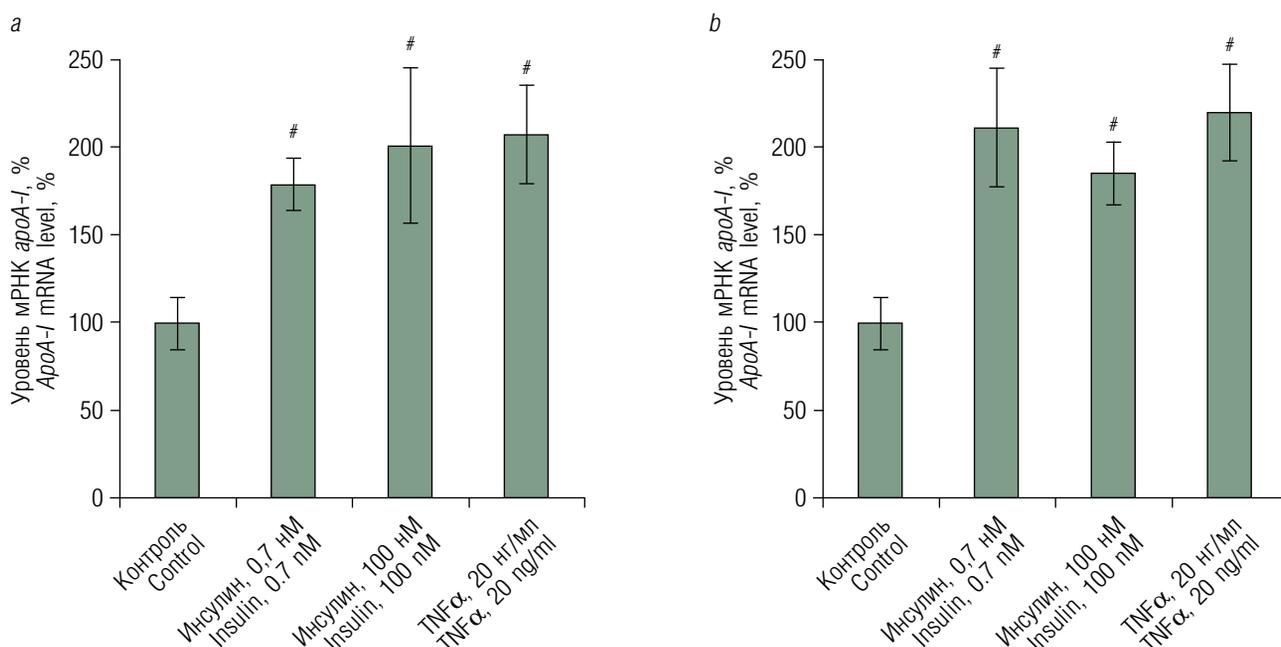


Рис. 1. Повышение уровня матричной РНК *apoA-I* в макрофагах под действием инсулина. Макрофаги, дифференцированные из моноцитов периферической крови человека в течение 5 сут (а), макрофаги ТНР-1 (б). Указан относительный уровень экспрессии мРНК *apoA-I*, где за 100 % принят уровень мРНК в нестимулированных макрофагах. На диаграммах представлены средние значения \pm ошибка среднего. # $p < 0,01$ (t -критерий)

Fig. 1. The elevation of *ApoA-I* mRNA level in human macrophages after insulin treatment. The macrophages differentiated for 5 days from human monocytes isolated from peripheral blood (a), THP-1 macrophages (b). The diagrams show the relative *apoA-I* gene expression level (100% in the unstimulated macrophages). The diagrams show the mean values \pm the standard error of mean. # $p < 0.01$ (t -test)

рической крови человека в течение 5 суток, либо макрофагов ТНР-1) с инсулином составляло 24 ч. Усредненные результаты четырех экспериментов представлены на рис. 1.

Обе концентрации инсулина приводили к существенной стимуляции экспрессии гена *apoA-I* как в макрофагах, дифференцированных из клеток ТНР-1, так и в макрофагах, дифференцированных из моноцитов периферической крови человека. Уровень стимуляции оказался сопоставим с уровнем стимуляции при действии TNF α . Синтез белка ApoA-I контролируется не только через транскрипцию, но и на посттранскрипционном уровне. Кроме того, для этого гена характерна разнонаправленная регуляция на уровне мРНК и белка. Так, например, стимуляция клеток гепатомы человека НерG2 грамоксеном (индуктор оксидативного стресса) приводила к одновременной индукции транскрипции гена *apoA-I* и ускорению деградации мРНК *apoA-I* [32]. В наших исследованиях было установлено, что инкубация клеток НерG2 с инсулином (100 нМ) в течение 24 ч не вызывает заметных изменений в уровне мРНК *apoA-I*, но существенно повышает количество внутриклеточного белка ApoA-1 [17]. В отличие от гепатоцитов и энтероцитов, где подавляющая часть всего ApoA-I секретирует-

ся в составе насцентных ЛПВП, в макрофагах в норме полноценной секреции не происходит. Вместо этого ApoA-I остается в мембраносвязанном состоянии, образуя комплекс с ABCA1 и/или с рафтами цитоплазматической мембраны [13]. Более того, предварительные результаты позволяют утверждать, что функциональное значение в макрофагах имеет именно мембраносвязанная форма ApoA-I, так как существуют сильные корреляции между количеством мембраносвязанного ApoA-I и функциональной активностью макрофагов (воспалительная активность, захват модифицированных ЛПНП, миграционная активность) (Некрасова и др., неопубликованные данные). Действие инсулина на уровень поверхностного белка ApoA-I проверяли методом проточной цитофлуорометрии. Макрофаги, дифференцированные из моноцитов периферической крови человека в течение 5 сут, инкубировали с инсулином в концентрации 100 нМ в течение 24 ч, затем окрашивали антителами к ApoA-I (см. «Материалы и методы»). Результаты представлены на рис. 2. Установлено, что обработка первичных макрофагов инсулином (100 нМ, 24 ч) приводит к снижению содержания поверхностного ApoA-I, несмотря на то что в тех же условиях эксперимента наблюдается повышение уровня

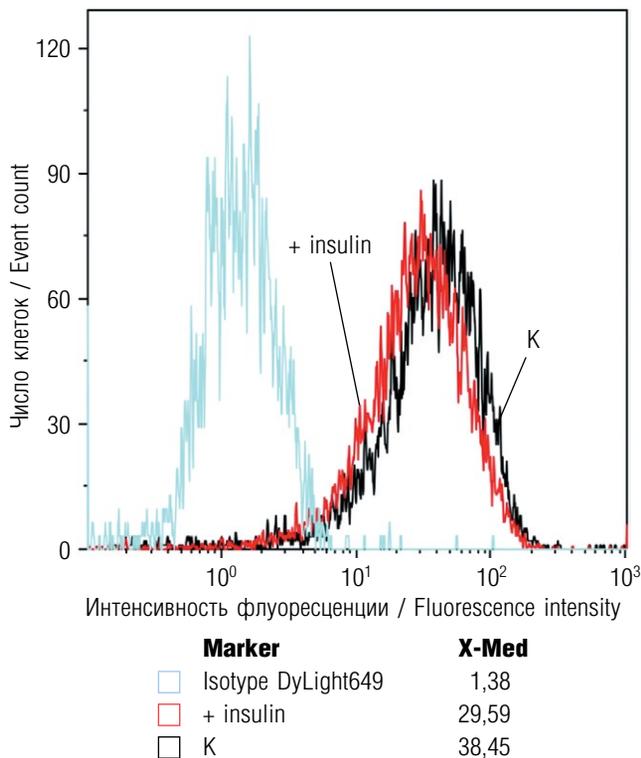


Рис. 2. Уменьшение уровня поверхностного белка ApoA-I в макрофагах под действием инсулина. К — контрольные, не обработанные инсулином макрофаги; + insulin — макрофаги, инкубированные с инсулином; X-Med — медиана интенсивности флуоресценции

Fig. 2. The ApoA-I surface level on human macrophages decreases by insulin treatment. K — control macrophages without treatment with insulin; + insulin — macrophages, treated by insulin; X-Med — median fluorescence intensity

мРНК этого гена. Полученные результаты еще раз подтверждают сложный и многоуровневый характер регуляции экспрессии гена *apoA-I*, не исчерпывающийся регуляцией инициации

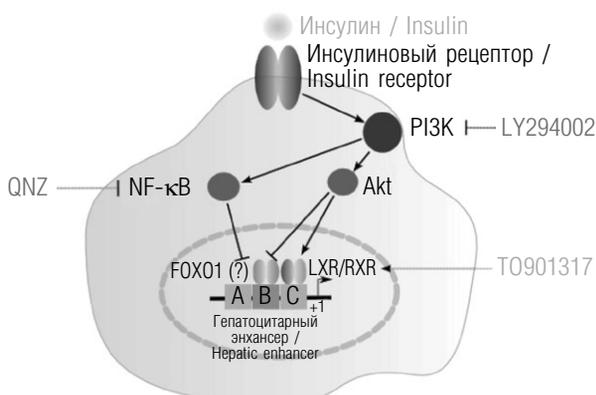


Рис. 3. Схема сигнальных каскадов, инициируемых инсулином: QNZ — ингибитор NF-κB; LY294002 — ингибитор PI3K; TO901317 — агонист LXRα

Fig. 3. The scheme of signal cascades initiated by insulin: QNZ — the inhibitor of NF-κB; LY294002 — the inhibitor of PI3K; TO901317 — the agonist of nuclear receptors LXRα and LXRβ

транскрипции. Для детального анализа этих механизмов регуляции необходимы дополнительные исследования.

Инсулин, взаимодействуя со своим мембранным тирозинкиназным рецептором, инициирует ряд сигнальных каскадов (рис. 3). Для выяснения возможного участия данных каскадов в инсулин-зависимой активации гена *apoA-I* в макрофагах человека мы применили ингибиторный анализ. Макрофаги, дифференцированные из моноцитов периферической крови человека в течение 5 сут, обрабатывали ингибитором NF-κB QNZ с концентрацией 10 нМ, агонистом LXR TO901317 с концентрацией 5 мкМ, ингибитором PI3K LY2940023 с концентрацией 10 мкМ в течение часа. Затем к клеткам добавляли инсулин 100 нМ, инкубировали 24 ч. Потом из клеток выделяли РНК и измеряли уровень экспрессии *apoA-I*, используя метод ПЦР в реальном времени. Усредненные результаты четырех экспериментов представлены на рис. 4.

Установлено, что блокирование любого из протестированных сигнальных путей — фактора транскрипции NF-κB, PI3K или активация факторов транскрипции LXRs — приводит к отмене стимулирующего эффекта инсулина на уровень мРНК *apoA-I*. Следовательно, индукция транскрипции *apoA-I* в присутствии инсулина зависит от совместного действия минимум двух сигнальных каскадов, завершающихся на факторах транскрипции NF-κB и LXRs. Кроме того, нельзя исключать возможное участие в этом процессе фактора транскрипции FOXO1, который способен образовывать комплекс с LXRβ. Более того, инсулин-индуцированное удаление такого комплекса с промотора гена *apoA-I* в гепатоцитах объясняет репрессорное действие инсулина (100 нМ) на активность данного гена [17]. Роль FOXO1 в инсулин-опосредованной стимуляции экспрессии гена *apoA-I* в макрофагах человека еще предстоит изучить. Исходя из результатов наших предыдущих работ и литературных данных, в гепатоцитах инсулин может регулировать экспрессию *apoA-I* через фосфатидилинозитол-3-киназу, протеинкиназы B и C и фактор транскрипции Sp1 [17, 33]. Вместе с тем протеинкиназа B в макрофагах фосфорилирует IκB-киназу и активирует фактор транскрипции NF-κB. Обработка макрофагов ингибитором NF-κB не только отменяет эффект инсулина, но и снимает стимулирующее действие TNFα [14]. Более того, в гепатоцитах фактор транскрипции NF-κB играет ключевую роль в подавлении активности гена *apoA-I* под действием ЛПС [34] или TNFα [8]. Интересно, что промотор гена *apoA-I* не содержит сай-

тов связывания для фактора транскрипции NF-κB [34]. По-видимому, основным механизмом действия NF-κB является трансрепрессия со стороны ядерных рецепторов, вовлеченных в регуляцию активности гена *aroA-I*. Фактор транскрипции NF-κB способен образовывать комплексы с такими ядерными рецепторами, как HNF4α, PPARα, причем образование таких комплексов ведет к взаимной инактивации обоих факторов транскрипции [34, 35]. Зеркальный характер регуляции гена *aroA-I* в гепатоцитах и макрофагах обуславливает обратный характер действия NF-κB в макрофагах по сравнению с гепатоцитами: если в гепатоцитах NF-κB принимает участие в передаче репрессивных сигналов на промотор *aroA-I* (от ЛПС [34], TNFα [8, 9]), то в макрофагах те же воздействия (ЛПС, TNFα) ведут к активации экспрессии *aroA-I*. При этом ядерный рецептор PPARα, через который действует NF-κB при передаче сигнала от ЛПС и TNFα, в гепатоцитах выступает в качестве активатора *aroA-I* [8, 9, 34], тогда как в макрофагах — в качестве репрессора *aroA-I* [14].

Остается открытым вопрос о функциональной роли инсулина в регуляции гена *aroA-I*. Можно ли считать незначимой индукцию транскрипции гена *aroA-I* в макрофагах, если параллельно уровень поверхностного AroA-I не растет, а снижается? Мы отвечаем на данный вопрос отрицательно. В предыдущих исследованиях при анализе уровня мРНК *aroA-I* в AroA-I-бедных и в AroA-I-богатых макрофагах было установлено, что количество мРНК *aroA-I* больше в AroA-I-бедных макрофагах [13]. Более того, именно AroA-I-бедные макрофаги сохраняли способность синтезировать AroA-I в ответ на такие воспалительные стимулы, как TNFα, тогда как AroA-I-богатые макрофаги утрачивали эту способность [13]. Следовательно, можно предположить, что действие инсулина усиливает будущий противовоспалительный ответ макрофагов, заключающийся в резком повышении уровня поверхностного AroA-I в качестве реакции на провоспалительные стимулы. Дальнейшие исследования, как ожидается, позволят окончательно прояснить данный вопрос.

Таким образом, в данной работе впервые показана регуляция гена *aroA-I* инсулином в макрофагах человека. Установлено, что в индукции транскрипции гена *aroA-I* под действием инсулина ключевую роль играет сигнальный каскад PI3K – АКТ и факторы транскрипции NF-κB и LXR. Повышение уровня мРНК *aroA-I* в присутствии инсулина сопровождается снижением уровня поверхностного AroA-I.

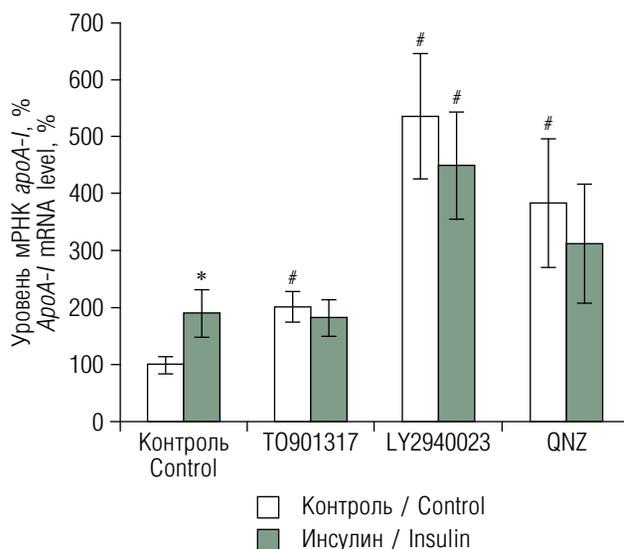


Рис. 4. Влияние инсулина на уровень мРНК *aroA-I*: роль ядерных рецепторов LXR, PI3K и фактора транскрипции NF-κB. Указан относительный уровень экспрессии мРНК *aroA-I*, где за 100 % принят уровень мРНК в нестимулированных макрофагах. На диаграмме представлены средние значения уровня мРНК *aroA-I* ± ошибка среднего. Критерий Стьюдента — * $p < 0,05$. Критерий Даннета — # $p < 0,01$. Столбцы белого цвета отображают интенсивность транскрипции в контрольных клетках, столбцы черного цвета — интенсивность транскрипции в клетках, обработанных инсулином

Fig. 4. The influence of insulin on *AroA-I* mRNA level: the role of nuclear receptors LXR, PI3K and transcription factor NF-κB. The diagram shows the relative *aroA-I* gene expression level (100% in the unstimulated macrophages). The diagram shows the mean values ± the standard error of mean. * $p < 0,05$ (t -test); # $p < 0,01$ (Dunnet's test). White columns correspond to the unstimulated cells; black columns correspond to the cells treated by insulin

Выводы

1. Инсулин индуцирует транскрипцию гена *AroA-I* в макрофагах человека.
2. Несмотря на повышение количества мРНК *aroA-I* в стимулированных инсулином макрофагах, уровень поверхностного AroA-I в таких клетках снижен.
3. Активация транскрипции гена *aroA-I* под действием инсулина зависит от сигнального каскада PI3K – АКТ и от факторов транскрипции NF-κB и LXR.

Дополнительная информация

Соблюдение этических норм. Все международные, национальные и/или институциональные принципы работы с донорской кровью были соблюдены.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

- Hopkins PN. Molecular biology of atherosclerosis. *Physiol Rev.* 2013;93(3):1317-1542. <https://doi.org/10.1152/physrev.00004.2012>.
- Никифорова А.А., Хейфиц Г.М., Алкснис Е.Г., и др. Акцепция холестерина из мембран эритроцитов подфракцией ЛПВП2b и роль лецитин-холестерин-ацилтрансферазы в этом процессе // Биохимия. — 1988. — Т. 53. — № 7-12. — С. 1334–1338. [Nikiforova AA, Kheifits GM, Alksnis EG, Parfenova NS, Klimov AN. Aktseptsiya kholesterina iz membran eritrotsitov podfraksiesy LPVP2b i rol' letsitin-kholesterin-atsiltransferazy v etom protsesse. *Biokhimiia.* 1988;53(7-12):1334-1338. (In Russ.)]
- Shah PK, Kaul S, Nilsson J, Cercek B. Exploiting the vascular protective effects of high-density lipoprotein and its apolipoproteins: an idea whose time for testing is coming, part II. *Circulation.* 2001;104(20):2498-2502. <https://doi.org/10.1161/hc4501.098468>.
- Hyka N, Dayer JM, Modoux C, et al. Apolipoprotein A-I inhibits the production of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha by blocking contact-mediated activation of monocytes by T lymphocytes. *Blood.* 2001;97(8):2381-2389. <https://doi.org/10.1182/blood.v97.8.2381>.
- Burger D, Dayer J-M. High-density lipoprotein-associated apolipoprotein A-I: the missing link between infection and chronic inflammation? *Autoimmun Rev.* 2002;1(1-2):111-117. [https://doi.org/10.1016/s1568-9972\(01\)00018-0](https://doi.org/10.1016/s1568-9972(01)00018-0).
- Wadham C, Albanese N, Roberts J, et al. High-density lipoproteins neutralize C-reactive protein proinflammatory activity. *Circulation.* 2004;109(17):2116-2122. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000127419.45975.26>.
- Haas MJ, Horani M, Mreyoud A, et al. Suppression of apolipoprotein AI gene expression in HepG2 cells by TNF alpha and IL-1beta. *Biochim Biophys Acta.* 2003;1623(2-3):120-128. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2003.08.004>.
- Mogilenko DA, Dizhe EB, Shavva VS, et al. Role of the nuclear receptors HNF4 alpha, PPAR alpha, and LXRs in the TNF alpha-mediated inhibition of human apolipoprotein A-I gene expression in HepG2 cells. *Biochemistry.* 2009;48(50):11950-11960. <https://doi.org/10.1021/bi9015742>.
- Orlov SV, Mogilenko DA, Shavva VS, et al. Effect of TNFalpha on activities of different promoters of human apolipoprotein A-I gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;398(2):224-230. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.06.064>.
- Connelly MA, Williams DL. SR-BI and HDL cholesteryl ester metabolism. *Endocr Res.* 2004;30(4):697-703. <https://doi.org/10.1081/erc-200043979>.
- Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res.* 2005;96(12):1221-1232. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000170946.56981.5c>.
- Higuchi K, Law SW, Hoeg JM, et al. Tissue-specific expression of apolipoprotein A-I (apoA-I) is regulated by the 5'-flanking region of the human apoA-I gene. *J Biol Chem.* 1988;263(34):18530-18536.
- Mogilenko DA, Orlov SV, Trulioff AS, et al. Endogenous apolipoprotein A-I stabilizes ATP-binding cassette transporter A1 and modulates Toll-like receptor 4 signaling in human macrophages. *FASEB J.* 2012;26(5):2019-2030. <https://doi.org/10.1096/fj.11-193946>.
- Shavva VS, Mogilenko DA, Nekrasova EV, et al. Tumor necrosis factor alpha stimulates endogenous apolipoprotein A-I expression and secretion by human monocytes and macrophages: role of MAP-kinases, NF-kappaB, and nuclear receptors PPARalpha and LXRs. *Mol Cell Biochem.* 2018;448(1-2):211-223. <https://doi.org/10.1007/s11010-018-3327-7>.
- Богомолова А.М., Шавва В.С., Никитин А.А., и др. Гипоксия как фактор регуляции экспрессии генов *apoA-1*, *ABCA1* и компонента комплемента *C3* в макрофагах человека // Биохимия. — 2019. — Т. 84. — № 5. — С. 692–703. [Bogomolova AM, Shavva VS, Nikitin AA, et al. Hypoxia as a factor involved in the regulation of the *apoA-1*, *ABCA1*, and complement *C3* gene expression in human macrophages. *Biokhimiia.* 2019;84(5):692-703. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.1134/S0320972519050075>.
- Huuskonen J, Vishnu M, Chau P, et al. Liver X receptor inhibits the synthesis and secretion of apolipoprotein A1 by human liver-derived cells. *Biochemistry.* 2006;45(50):15068-15074. <https://doi.org/10.1021/bi061378y>.
- Shavva VS, Bogomolova AM, Nikitin AA, et al. Insulin-mediated downregulation of apolipoprotein A-I gene in human hepatoma cell line HepG2: the role of interaction between FOXO1 and LXRbeta transcription factors. *J Cell Biochem.* 2017;118(2):382-396. <https://doi.org/10.1002/jcb.25651>.
- Shavva VS, Bogomolova AM, Nikitin AA, et al. FOXO1 and LXRalpha downregulate the apolipoprotein A-I gene expression during hydrogen peroxide-induced oxidative stress in HepG2 cells. *Cell Stress Chaperones.* 2017;22(1):123-134. <https://doi.org/10.1007/s12192-016-0749-6>.
- Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(2):98-107. <https://doi.org/10.1038/nri2925>.
- Bansilal S, Farkouh ME, Fuster V. Role of insulin resistance and hyperglycemia in the development of atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 2007;99(4A):6B-14B. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.11.002>.
- Fuentes L, Roszer T, Ricote M. Inflammatory mediators and insulin resistance in obesity: role of nuclear receptor signaling in macrophages. *Mediators Inflamm.* 2010;2010:219583. <https://doi.org/10.1155/2010/219583>.
- Olefsky JM, Glass CK. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu Rev Physiol.* 2010;72:219-246. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135846>.
- Fan W, Morinaga H, Kim JJ, et al. FoxO1 regulates Tlr4 inflammatory pathway signalling in macrophages. *EMBO J.* 2010;29(24):4223-4236. <https://doi.org/10.1038/emboj.2010.268>.
- Miao H, Zhang Y, Lu Z, et al. FOXO1 involvement in insulin resistance-related pro-inflammatory cytokine production in hepatocytes. *Inflamm Res.* 2012;61(4):349-358. <https://doi.org/10.1007/s00011-011-0417-3>.
- Su D, Coudriet GM, Hyun Kim D, et al. FoxO1 links insulin resistance to proinflammatory cytokine IL-1beta production

- in macrophages. *Diabetes*. 2009;58(11):2624-2633. <https://doi.org/10.2337/db09-0232>.
26. Iida KT, Shimano H, Kawakami Y, et al. Insulin up-regulates tumor necrosis factor-alpha production in macrophages through an extracellular-regulated kinase-dependent pathway. *J Biol Chem*. 2001;276(35):32531-32537. <https://doi.org/10.1074/jbc.M009894200>.
 27. Park YM, S RK, J AM, Silverstein RL. Insulin promotes macrophage foam cell formation: potential implications in diabetes-related atherosclerosis. *Lab Invest*. 2012;92(8):1171-1180. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2012.74>.
 28. Tedla N, Glaros EN, Brunk UT, et al. Heterogeneous expression of apolipoprotein-E by human macrophages. *Immunology*. 2004;113(3):338-347. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2004.01972.x>.
 29. Bennett S, Breit SN. Variables in the isolation and culture of human monocytes that are of particular relevance to studies of HIV. *J Leukoc Biol*. 1994;56(3):236-240. <https://doi.org/10.1002/jlb.56.3.236>.
 30. Shavva VS, Mogilenko DA, Bogomolova AM, et al. PPARgamma represses apolipoprotein A-I gene but impedes TNFalpha-mediated ApoA-I downregulation in HepG2 Cells. *J Cell Biochem*. 2016;117(9):2010-2022. <https://doi.org/10.1002/jcb.25498>.
 31. Mogilenko DA, Kudriavtsev IV, Shavva VS, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha positively regulates complement C3 expression but inhibits tumor necrosis factor alpha-mediated activation of C3 gene in mammalian hepatic-derived cells. *J Biol Chem*. 2013;288(3):1726-1738. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.437525>.
 32. Cuthbert C, Wang Z, Zhang X, Tam SP. Regulation of human apolipoprotein A-I gene expression by gramoxone. *J Biol Chem*. 1997;272(23):14954-14960. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.23.14954>.
 33. Haas MJ, Horani MH, Wong NC, Mooradian AD. Induction of the apolipoprotein AI promoter by Sp1 is repressed by saturated fatty acids. *Metabolism*. 2004;53(10):1342-1348. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2004.05.011>.
 34. Morishima A, Ohkubo N, Maeda N, et al. NFkappaB regulates plasma apolipoprotein A-I and high density lipoprotein cholesterol through inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *J Biol Chem*. 2003;278(40):38188-38193. <https://doi.org/10.1074/jbc.M306336200>.
 35. Nikolaidou-Neokosmidou V, Zannis VI, Kardassis D. Inhibition of hepatocyte nuclear factor 4 transcriptional activity by the nuclear factor kappaB pathway. *Biochem J*. 2006;398(3):439-450. <https://doi.org/10.1042/BJ20060169>.

Сведения об авторах / Information about the authors

Екатерина Викторовна Некрасова — научный сотрудник лаборатории регуляции липидного обмена отдела биохимии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: nekrasova@iem.sp.ru.

Катерина Владимировна Данько — студент кафедры биохимии биологического факультета, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. E-mail: danko@iem.sp.ru.

Владимир Станиславович Шавва — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории регуляции липидного обмена отдела биохимии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. SPIN-код: 5428-6800. E-mail: shavva@iem.sp.ru.

Ekaterina V. Nekrasova — scientist, Department of Biochemistry, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: nekrasova@iem.sp.ru.

Katerina V. Danko — student, Department of Biochemistry, Biological faculty, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: danko@iem.sp.ru.

Vladimir S. Shavva — PhD, senior scientist, Department of Biochemistry, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg. SPIN-code: 5428-6800. E-mail: shavva@iem.sp.ru.

Элла Борисовна Дижэ — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции липидного обмена отдела биохимии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. SPIN-код: 1625-0496. E-mail: dizhe@iem.sp.ru.

Галина Николаевна Олейникова — лаборант-исследователь лаборатории регуляции липидного обмена отдела биохимии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: galina@iem.sp.ru.

Сергей Владимирович Орлов — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории регуляции липидного обмена отдела биохимии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-3134-1989>. SPIN-код: 1690-8110. E-mail: serge@iem.sp.ru.

Ella B. Dizhe — PhD, leading scientist, Department of Biochemistry, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg. SPIN-code: 1625-096. E-mail: dizhe@iem.sp.ru.

Galina N. Oleinikova — technical assistant, Department of Biochemistry, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg. E-mail: galina@iem.sp.ru.

Sergey V. Orlov — PhD, senior scientist, Department of Biochemistry, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg. <https://orcid.org/0000-0002-3134-1989>. SPIN-code: 1690-8110. E-mail: serge@iem.sp.ru.

✉ **Контактное лицо / Corresponding author**

Сергей Владимирович Орлов / Sergey V. Orlov
E-mail: serge@iem.sp.ru

УДК 616-006:602.6
<https://doi.org/10.17816/MAJ34107>

ЭФФЕКТ ВНУТРИОПУХОЛЕВОГО ИМПЛАНТИРОВАНИЯ ГЕКСАФЕРРИТА БАРИЯ, МАГНЕТИТА, ГЕМАТИТА, ОКИСИ АЛЮМИНИЯ И КРЕМНЕЗЕМА НА ДИНАМИКУ РОСТА ОПУХОЛИ ЭРЛИХА И ВЫЖИВАЕМОСТЬ МЫШЕЙ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ

С.Ф. Вершинина, В.И. Евтушенко

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Для цитирования: Вершинина С.Ф., Евтушенко В.И. Эффект внутриопухолевого имплантирования гексаферрита бария, магнетита, гематита, окиси алюминия и кремнезема на динамику роста опухоли Эрлиха и выживаемость мышей-опухоленосителей // Медицинский академический журнал. – 2020. – Т. 20. – № 1. – С. 75–82. <https://doi.org/10.17816/MAJ34107>

Поступила: 30.10.2019

Одобрена: 09.12.2019

Принята: 02.03.2020

Введение. Ранее нами был показан противоопухолевый эффект имплантата гексаферрита бария ($\text{BaO} \cdot 6\text{Fe}_2\text{O}_3$) на модели двух внутримышечно перевиваемых солидных опухолей мышей — ЛИО-1 и Эрлиха (объем опухолей — 2 см^3). В данной работе на модели солидной опухоли Эрлиха достаточно большого размера (3 см^3) изучен сравнительный противоопухолевый эффект после имплантации частиц гексаферрита бария с остаточным магнитным полем около 150 мГс относительно частиц оксидов железа с остаточным магнитным полем, близким к нулю, — гематита (Fe_2O_3) и магнетита (Fe_3O_4), а также в качестве контроля — окиси алюминия (Al_2O_3) и кремнезема ($n\text{SiO}_2 \cdot m\text{H}_2\text{O}$).

Материал и методы. Эксперименты проведены на 70 белых мышах-самках массой 23–24 г. Злокачественную эпителиальную опухоль Эрлиха перевивали внутримышечно в правую заднюю конечность. Когда опухоль достигла размера 3 см^3 , мышей разделили на шесть групп в зависимости от имплантированного вещества — гексаферрит бария, магнетит, гематит, окись алюминия, кремнезем или изотонический раствор натрия хлорида.

Результаты. Обнаружено, что гексаферрит бария, имплантируемый в опухоль больших размеров (3 см^3), оказывает умеренный противоопухолевый эффект на всех сроках исследования. Частицы оксидов железа — магнетита и гематита — с магнитным полем, близким к нулю, не обладали противоопухолевым эффектом. К концу опыта (29-й день) во всех группах, в том числе в контрольной, наблюдалась гибель от 20 до 50 % животных, а опухоли были в существенной мере некротизированы. Исключение составила группа с имплантацией в опухоль кремнезема, в которой выжили все мыши, а сами опухоли не содержали некрозов и имели равномерную розовую окраску.

Ключевые слова: опухоль Эрлиха; имплантат; гексаферрит бария; магнетит; гематит; окись алюминия; кремнезем.

EFFECT OF INTRATUMORAL IMPLANTATION OF BARIUM HEXAFERRITE, MAGNETITE, HEMATITE, ALUMINIUM OXIDE AND SILICA ON THE DYNAMICS OF ERLICH TUMOR GROWTH AND SURVIVAL VALUE OF TUMOR-CARRYING MICE

S.F. Verzhinina, V.I. Evtushenko

Federal State Budget Institution Acad. A.M. Granov Russian Research Centre of Radiology and Surgical Technologies Ministry of Healthcare of Russia, Saint Petersburg, Russia

For citation: Verzhinina SF, Evtushenko VI. Effect of intratumoral implantation of barium hexaferrite, magnetite, hematite, aluminium oxide and silica on the dynamics of Erlich tumor growth and survival value of tumor-carrying mice. *Medical Academic Journal*. 2020;20(1):75-82. <https://doi.org/10.17816/MAJ34107>

Received: October 30, 2019

Revised: December 9, 2019

Accepted: March 2, 2020

Introduction. We have earlier shown antitumoral effect of barium hexaferrite implant BHF for models of two intratumoral transplantable solid tumor of mice — LIO-1 and Erlich (2 см^3 tumors). In the mentioned work on the model of a rather big sized solid Erlich tumor (3 см^3) we have studied a comparative antitumoral effect after the implantation of BHF particles with a residual magnetic field of 150 mGsm referring to particles of iron oxides with residual magnetic field that was nearing to the zerohematite (Fe_2O_3) and magne — tite (Fe_3O_4), and as well as for the control — aluminium oxide (Al_2O_3) and silica ($n\text{SiO}_2 \cdot m\text{H}_2\text{O}$).

Список сокращений

ГФБ ($\text{BaO} \cdot 6\text{Fe}_2\text{O}_3$) — гексаферрит бария; $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ — магнетит; Fe_2O_3 — гематит; Al_2O_3 — окись алюминия; $n\text{SiO}_2 \cdot m\text{H}_2\text{O}$ — синтетический кремнезем; V — объем опухолевого узла; $T\%$ — торможение роста опухоли.

Material and methods. Trials have been conducted with 70 white mice — female mice with a mass of 23–24 g. Malignant epithelial tumor of Erlich was intramuscularly transplanted into the right hind extremity. When tumors reached a size of 3 cm³, mice were divided into 6 groups whom BHF, magnetite, hematite, aluminium oxide, silica or physiologic saline were implanted, correspondingly.

Results. As a result of the conducted studies it was found that BHF being implanted into a big-sized tumor (3 cm³) has a mild antitumoral effect for all the studies periods. Particles of iron oxides — magnetite and hematite — with a magnetic field nearing the zero did not possess the antitumor effect. By the end of experiment (29 days) in all groups including a control group, death of mice at 20 to 50 percent have been seen, and tumors were significantly necrotized, whereas in a group with implantation of silica into the tumor 100 percent of mice have survived and tumors itself did not have necrosis and had even pink colouring.

Keywords: Erlich tumor; implant; barium hexaferrite; magnetite; hematite; aluminium oxide; silica.

Памяти академика РАН Анатолия Михайловича Гранова

Введение

Анализ литературных данных свидетельствует, что заболеваемость в России злокачественными новообразованиями и смертность от них неуклонно растут [1, 2].

Несмотря на интенсификацию химиотерапии и использование для лечения новых таргетных и иммуноонкологических препаратов, применение различных методов лучевой терапии и хирургическое удаление опухоли, ни монотерапия, ни комбинированное лечение, прежде всего солидных опухолей, не привели к значимому увеличению медианы времени до прогрессирования, существенному увеличению общей выживаемости большинства онкологических больных и качества их жизни [3].

В связи с вышесказанным актуальным является поиск новых подходов к лечению злокачественных опухолей, в первую очередь изучение противоопухолевых воздействий на экспериментальных моделях злокачественных новообразований.

В наших предыдущих исследованиях было показано, что имплантирование в экспериментальные опухоли (объем опухолей — 2 см³) разного гистогенеза магнитожесткого ферромагнетика — гексаферрита бария, BaO · 6Fe₂O₃ (ГФБ) — тормозило рост первичной опухоли, блокировало метастазирование и рецидивы после оперативного удаления опухолевого узла, а также способствовало увеличению средней продолжительности жизни мышей с опухолями. Мы установили, что остаточное магнитное поле имплантата ГФБ является постоянным и убывает от центра опухоли (имплантата ГФБ) к периферии [4–7]. Входящее в состав ГФБ железо с магнитным полем, близким к нулю, привлекло наше внимание из-за низкой токсичности частиц, содержащих оксиды железа [8].

В данной работе была оценена противоопухолевая активность оксидов железа и ГФБ при имплантировании во внутримышечные опухоли Эрлиха большего размера (3 см³). В опухоль Эрлиха имплантировали как частицы со сла-

бым остаточным магнитным полем — ГФБ, так и оксиды железа с магнитным полем, близким к нулю, — магнетит (FeO · Fe₂O₃) и гематит (Fe₂O₃), а в качестве контроля — не содержащие железо оксид алюминия (Al₂O₃) и кремнезем (nSiO₂ · mH₂O).

Материал и методы исследования

Эксперименты проведены на 70 белых мышак-самках массой 23–24 г из питомника «Рапполово», содержащихся в стандартных условиях клиники лабораторных животных «РНЦРХТ им. акад. А.М. Гранова» при свободном доступе к воде и пище.

Для перевивки использовали злокачественную эпителиальную опухоль Эрлиха, характеристика которой дана в практическом руководстве «Экспериментальные опухоли» [9]. В камере Горяева подсчитывали общее число опухолевых клеток в 0,2 мл. В объеме 0,2 мл содержалось 5 · 10⁶ опухолевых клеток. Взвесь опухолевых клеток Эрлиха в объеме 0,2 мл вводили внутримышечно в правую заднюю конечность 70 животным (первая серия состояла из 30 мышей, вторая — из 40).

В первой серии опытов на 9-е сутки после перевивки опухоли (объем опухоли в среднем составлял 3 см³) мышак-опухоленосители были разделены на три группы по 10 животных в группе. Мышакм контрольной группы внутритопухолево вводили изотонический раствор натрия хлорида в объеме 0,1 мл. Мышакм первой подопытной группы имплантировали в опухоль ферромагнетик — ГФБ, предварительно обработанный ультразвуком для разрушения механических агрегатов порошка. Размер частиц составлял от 0,5 до 10 мкм. Доза ГФБ — 2240 мг/кг, объем — 0,1 мл. Животным второй подопытной группы имплантировали в опухоль суспензию кремнезема с размером частиц 6–10 мкм в объеме 0,1 мл на мышак. Во второй серии опытов, когда объем опухоли на 7-е сутки после перевивки достиг

в среднем 3 см^3 , мышей разделили на четыре группы по 10 животных в группе. Мышам контрольной группы вводили внутрь опухоли изотонический раствор натрия хлорида в объеме $0,1 \text{ мл}$. Животным первой опытной группы имплантировали в опухоль частицы магнетита по $0,1 \text{ мл}$ на мыш, второй группы — частицы гематита в объеме $0,1 \text{ мл}$ на мыш, третьей группы — частицы окиси алюминия нейтрального в объеме $0,1 \text{ мл}$ на мыш. У животных первой и второй серий опытов опухоли измеряли в динамике.

Объем опухолевого узла (V) определяли по формуле эллипсоида: $V = A \cdot B^2 \cdot \pi/6 = A \cdot B^2/2$, где A — наибольший диаметр опухолевого узла, B — перпендикулярный ему диаметр. Противоопухолевую активность оценивали по торможению роста опухоли (в процентах), а также по площади под кинетической кривой роста опухоли и индексу роста опухоли [10].

Торможение роста опухоли ($T\%$) рассчитывали по формуле $T\% = V_k - V_3/V_k \cdot 100$, где V_k — средний объем опухолей в контроле, V_3 — средний объем опухолей в подопытной группе. Для измерения площади под кинетической кривой роста опухоли использовали метод трапеций, базирующийся на формуле

$$S = \sum_{i=1}^{n-1} V_i + V_{i+1}/2 \cdot t_i = \\ = V_1 + V_2/2 \cdot t_1 + V_2 + V_3/2 \cdot t_2 + V_{n-1} + V_n \cdot t_{n-1},$$

где S — площадь под кинетической кривой роста опухоли; V_i — объем опухоли в соответствующем измерении под номером i ; n — число измерений; t_1 — время в днях между первым и вторым измерениями; t_2 — время между вторым и третьим измерениями и т. д.; t_{n-1} — время между предпоследним и последним измерениями.

Определяли количество выживших мышей через 4 нед. после перевивки опухоли. На 28-й день от момента перевивки опухоли в первой серии опытов и на 29-й день во второй серии опытов все выжившие к этому сроку животные были умерщвлены золетилом и подвергнуты патологоанатомическому вскрытию. Для оценки токсического эффекта изученных средств были взвешены следующие органы мышей: сердце, легкие, почки, надпочечники, селезенка, поджелудочная железа, печень, гипофиз, головной мозг, регионарные лимфатические узлы, опухоль и определены весовые коэффициенты по формуле: весовой коэффициент = вес органа (мг) / масса тела мыши (г). Материал был подвергнут статистической обработке с использованием критериев Фишера и Стьюдента.

Величину остаточного магнитного поля имплантов определяли с помощью высокочувствительного миллигауссметра со щупом DC Milligauss Meter (AlphaLab, Inc., США).

Результаты и обсуждение

Размер используемых для имплантации частиц в среднем составил несколько микрон, при этом сами частицы были достаточно однородны по размеру (рис. 1). Гексаферрит бария и в меньшей степени магнетит проявляли тенденцию к образованию цепочек и агрегатов, что скорее всего связано со статическим электричеством на поверхности пластиковых плашек, применяемых для фотографирования.

На рис. 2 представлены результаты первой серии опытов по влиянию однократного имплантирования в опухоль ГФБ и кремнезема на динамику роста опухоли Эрлиха, достигшей у белых мышей-самок к моменту имплантирования размера 3 см^3 (условно соответствует III стадии рака у людей).

Как видно из рис. 2, после однократного имплантирования ГФБ в конечность с опухолью объемом 3 см^3 (9-й день после перевивки) наблюдалось умеренное достоверное торможение роста опухоли Эрлиха во все последующие сроки наблюдения. Аналогичные данные были получены нами ранее, когда после имплантирования ГФБ в опухоль меньшего размера (2 см^3) на 6-й день после перевивки зафиксировано более выраженное торможение роста опухоли (на 31 %) [5]. При имплантировании суспензии кремнезема, взятого в качестве контрольного вещества, заведомо не обладающего магнитными или парамагнитными свойствами, противоопухолевого эффекта выявлено не было на протяжении всего исследования. Выраженность и продолжительность эффекта ГФБ и кремнезема на рост бластомы оценивали по площади под кинетической кривой роста опухоли Эрлиха и индексу роста опухоли. Эти данные представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, ГФБ достоверно уменьшает площадь опухоли под кинетической кривой. При стопроцентном росте опухоли у контрольных животных индекс роста опухоли под влиянием ГФБ уменьшился до 81 %. Это свидетельствует, что ферромагнетик на 19 % тормозит рост злокачественной опухоли Эрлиха. Напротив, кремнезем, имплантируемый в опухоль, проявлял тенденцию к некоторой стимуляции (статистически недостоверной) роста опухоли Эрлиха. К моменту окончания опыта (28-е сутки после перевивки опухоли) в контроле погибло 20 % мышей, в группе с имплантацией в опухоль ГФБ — 30 %. Удивительно,

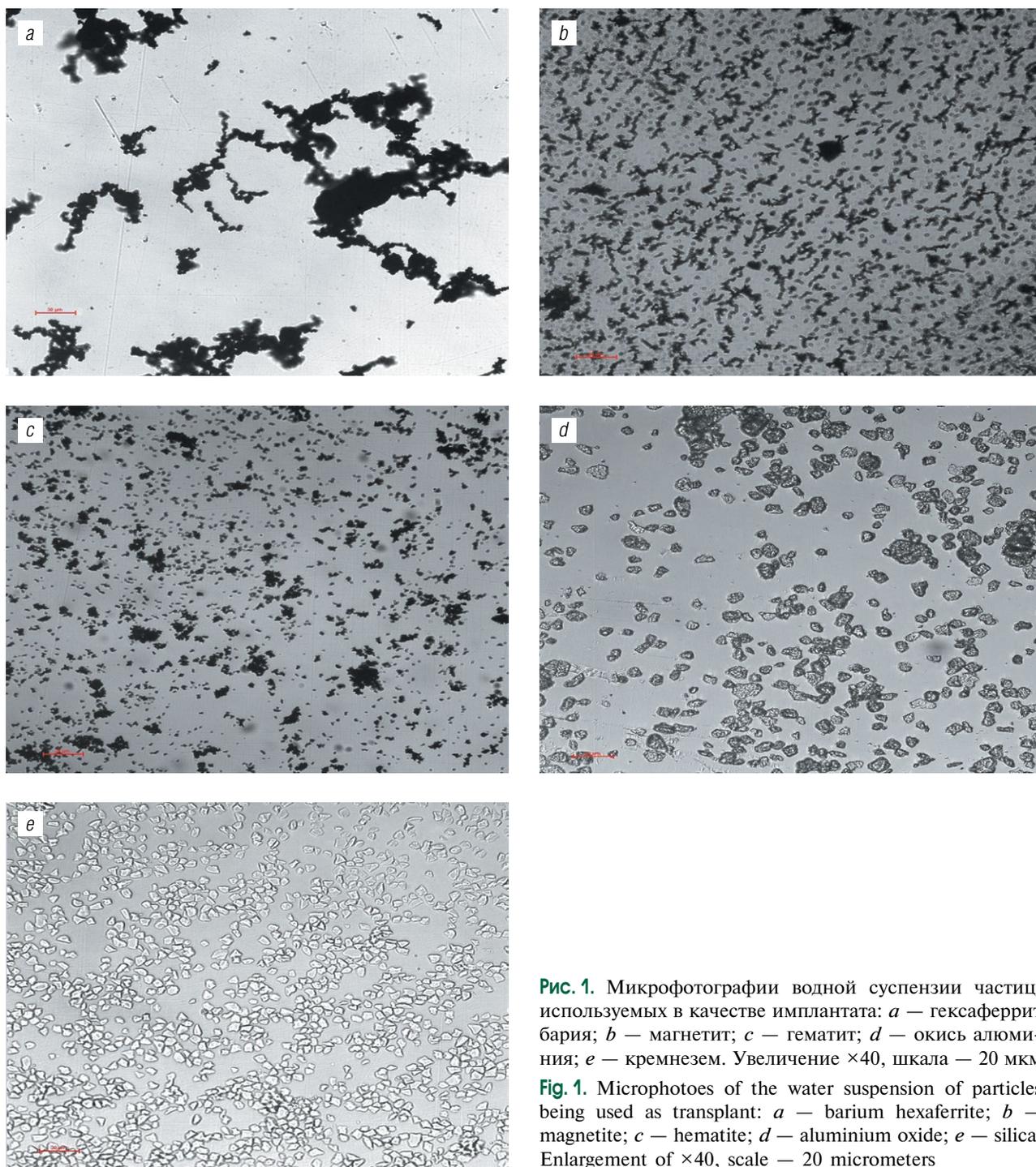


Рис. 1. Микрофотографии водной суспензии частиц, используемых в качестве имплантата: *a* — гексаферрит бария; *b* — магнетит; *c* — гематит; *d* — окись алюминия; *e* — кремнезем. Увеличение $\times 40$, шкала — 20 мкм

Fig. 1. Microphotos of the water suspension of particles being used as transplant: *a* — barium hexaferrite; *b* — magnetite; *c* — hematite; *d* — aluminium oxide; *e* — silica. Enlargement of $\times 40$, scale — 20 micrometers

что в группе животных с имплантированным в опухоль кремнеземом ни одно не погибло, при этом мыши были подвижны, бегали по клетке, несмотря на большие опухоли, волосяной покров был блестящим, отсутствовали явления поноса или выпадения шерсти, что наблюдалось в контрольной группе. При патологоанатомическом вскрытии обращало внимание следующее: у животных контрольной группы и группы мышей, которым внутриопухолево имплантировали ГФБ, в центре опухолевого узла располагались участки не-

кроза, в то время как в группе мышей, которым в опухоль имплантировали кремнезем, у всех животных опухоли оказались без видимых участков некроза, ткань была как бы «живая», равномерно розовой окраски. При взвешивании опухолевых узлов на 28-е сутки после перевивки опухоли (конечная точка наблюдения) средний вес опухоли в контрольной группе составил $11,5 \pm 1$ г, в группе с имплантацией в опухоль ГФБ — $10,1 \pm 0,9$ г, а в группе с имплантированным кремнеземом — $14,0 \pm 1$ г. В группе мышей, которым

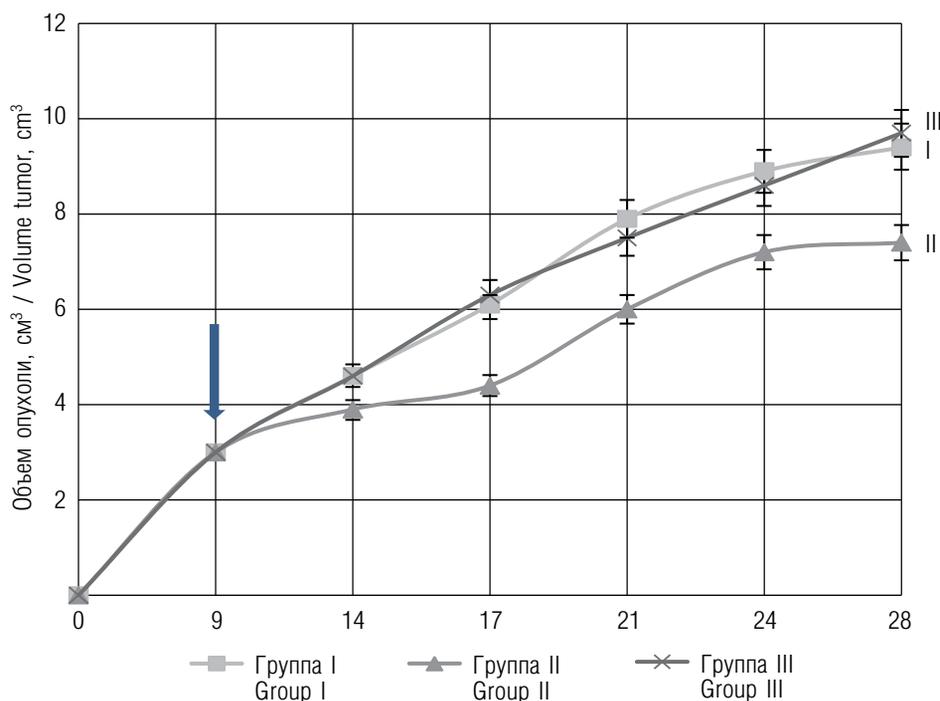


Рис. 2. Влияние гексаферрита бария и кремнезема на динамику роста (объем) солидной опухоли Эрлиха у белых мышей-самок при имплантировании в центр опухолевого узла. 0 — день перевивки опухоли Эрлиха. По оси абсцисс — дни после перевивки опухоли. Стрелкой указан день имплантирования гексаферрита бария или кремнезема в центр опухоли. I — контрольные мыши (инъекция изотонического раствора натрия хлорида); II — гексаферрит бария; III — кремнезем

Fig. 2. Influence of BHF and silica on the dynamics of the growth (volume) of solid Erlich tumor in white female mice at implanting in the centre of the tumor node. 0 — a day of the transplantation of Erlich tumor. On the axis abscissa — days after transplantation of the tumor. The arrow shows the day of implanting BHF or silica in the tumor centre. I — control mice (injection of isotonic sodium chloride solution); II — BHF; III — silica

Таблица 1 / Table 1

Влияние гексаферрита бария или кремнезема на площадь под кинетической кривой и индекс роста опухоли Эрлиха у белых мышей-самок

Influence of barium hexaferriite or silica on the square under the kinetics curve and index of the Erlich tumor growth in white female mice

Экспериментальная группа	Число мышей в группе	Площадь под кинетической кривой, см ² · сут	Индекс роста опухоли, %	Критерий достоверности, p
Контроль I: однократное внутриопухолевое введение изотонического раствора натрия хлорида	10	123,5 ± 5,1	100	
Опыт II: однократное внутриопухолевое имплантирование гексаферрита бария в дозе 2240 мг/кг	10	101,1 ± 3,2	81	<0,05
Опыт III: однократное внутриопухолевое имплантирование кремнезема	10	134,1 ± 6,1	108	>0,05

имплантировали в опухоль ГФБ, отмечалось торможение роста новообразования на 13 %, тогда как в группе животных, которым в опухоль имплантировали кремнезем, напротив, наблюдалась стимуляция роста опухоли на 24 %. При этом, как было указано выше, в группе с имплантацией кремнезема опухоли были без признаков некроза, равномерной розовой окраски, мыши не выглядели угнетенными, гибели животных в группе не было.

Для определения токсического эффекта имплантатов на органы животных с опухолями рассчитывали весовые коэффициенты. В табл. 2 представлены средние значения весовых коэффициентов различных органов мышей-опухоленосителей, которым в опухоль имплантировали ГФБ или кремнезем.

Исходя из табл. 2 можно заключить, что изученные имплантаты не оказывают токсического эффекта на большинство изученных органов.

Таблица 2 / Table 2

Весовые коэффициенты (средние данные) органов мышей-опухоленосителей с однократной имплантацией в опухоль гексаферрита бария или кремнезема
Weight rate (average data) of organs of tumor-carrying mice with a single implantation of BHF or silica in the tumor

Орган	Контрольная группа с опухолью	Имплантация гексаферрита бария	Имплантация кремнезема
Сердце	4,01 ± 0,5	4,16 ± 0,4	4,08 ± 0,4
Легкие	7,64 ± 0,6	7,14 ± 0,5	7,1 ± 0,4
Печень	76,1 ± 7,0	59,8 ± 8	78,09 ± 6,0
Селезенка	11,2 ± 0,2	10,5 ± 0,5	12,12 ± 0,3
Поджелудочная железа	3,77 ± 0,3	3,37 ± 0,4	3,44 ± 0,3
Почки	13,17 ± 0,6	13,17 ± 0,6	14,13 ± 1,0
Надпочечники	0,42 ± 0,11	0,458 ± 0,15	0,72 ± 0,12
Головной мозг	9,07 ± 1,1	10,0 ± 0,8	8,23 ± 0,7
Опухоль	221,7 ± 12,0	300,1 ± 15,0	407,54 ± 1,13
Лимфатические узлы	6,68 ± 0,18	2,2 ± 0,3*	9,47 ± 0,4
Гипофиз	0,049 ± 0,01	0,089 ± 0,02	0,16 ± 0,01

Примечание. *разница статистически достоверна.

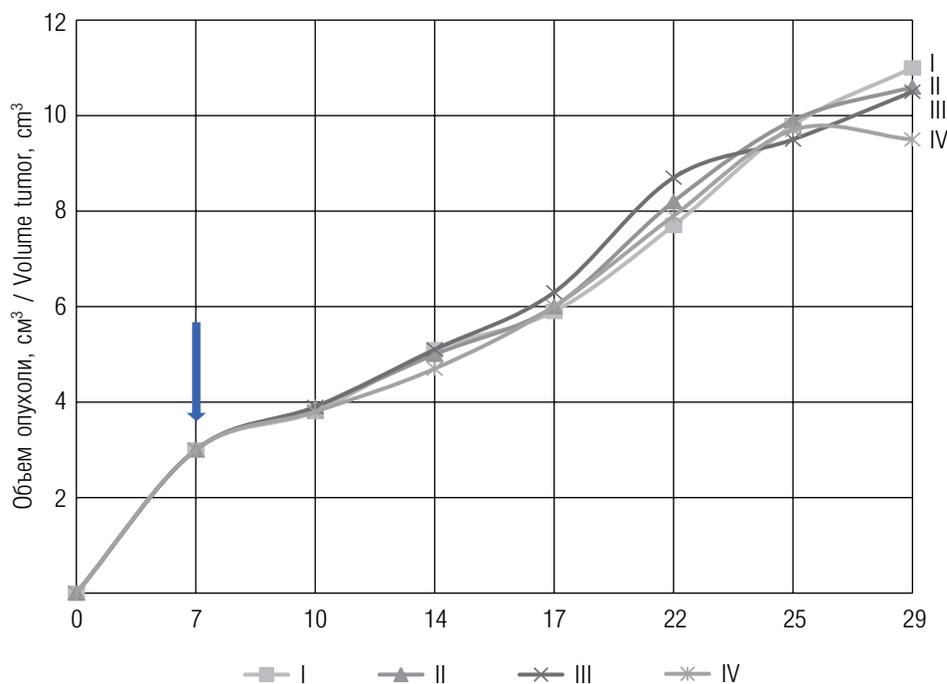


Рис. 3. Влияние имплантатов магнетита, гематита и окиси алюминия на динамику роста солидной опухоли Эрлиха у белых мышей-самок. 0 — начальная точка эксперимента — перевивка опухоли Эрлиха. По оси абсцисс — дни после перевивки опухоли. Вертикальная стрелка — день имплантирования магнетита, гематита или окиси алюминия в центр опухоли. I — контрольные мыши (изотонический раствор натрия хлорида); II — магнетит; III — гематит; IV — окись алюминия. Разница между контрольной и опытными группами на всех сроках исследования статистически недостоверна

Fig. 3. Influence of implants of magnetite, hematite and aluminium oxide on the dynamics of the growth of Erlich solid tumor in white female mice. 0 — initial point of the trial — transplantation of Erlich tumor. On the axis abscissa — days after transplantation of the tumor. Vertical arrow — a day of implanting magnetite, hematite or aluminium oxide in the centre of tumor. I — control mice (isotonic sodium chloride solution); II — magnetite; III — hematite; IV — aluminium oxide. The difference between control and experienced groups for all the duration of the study is statistically unreliable

Исключение составляют лимфатические узлы (под влиянием ГФБ весовой коэффициент достоверно уменьшался), а также печень (весовой коэффициент тоже уменьшался), в связи с чем необходимы дальнейшие исследования. Уменьшение веса лимфатических узлов у животных с опухолью Эрлиха под влиянием ГФБ в какой-то мере объясняет ранее описанный нами эффект полного подавления региональных метастазов в аналогичных экспериментах, проведенных на опухоли ЛИО-1 [4]. Видимо, ГФБ предотвращает распространение опухолевых клеток в регионарные лимфатические узлы.

Во второй серии опытов на модели опухоли Эрлиха были изучены эффекты других имплантатов на рост бластомы. На рис. 3 показаны результаты опыта по влиянию магнетита, гематита и окиси алюминия на динамику роста солидной опухоли Эрлиха у мышей-самок при имплантировании суспензии вещества на 7-е сутки, когда опухоль достигала размера 3 см^3 .

Как следует из рис. 3, ни магнетит, ни гематит, ни окись алюминия не оказывали противоопухолевого эффекта в течение всего срока наблюдения. К концу опыта (29-е сутки после перевивки опухоли) в контрольной группе погибло 50 % мышей, такая же гибель наблюдалась в группе животных, которым имплантировали в опухоль окись алюминия (50 %). В группе мышей, которым в опухоль имплантировали магнетит, погибло 30 % животных, а при имплантации в опухоль гематита — 20 %.

При обследовании опухолевых узлов было выявлено, что центральная часть опухоли (около половины) представляет некротическую массу.

При патологоанатомическом обследовании оставшихся в живых к 29-му дню мышей-опухоленосителей не было обнаружено изменений в весовых коэффициентах. Вес опухолей в контрольной группе составил $11,4 \pm 0,9 \text{ г}$, в группе мышей, которым в опухоль имплантировали магнетит, — $9,4 \pm 1,0 \text{ г}$, в группе животных с имплантацией в опухоль гематита — $10,9 \pm 1,0 \text{ г}$ и в группе с имплантацией в опухоль окиси алюминия — $10,8 \pm 0,9 \text{ г}$.

Следует отметить, что кристаллы магнетита ($\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$), как и ГФБ ($\text{BaO} \cdot 6\text{Fe}_2\text{O}_3$), имеют структуру шпинели, обладают магнитными свойствами и во многих отношениях схожи. Тем не менее антибластомный эффект проявляет только ГФБ, что продемонстрировано в данной работе на примере опухоли Эрлиха достаточно большого размера ($\sim 3 \text{ см}^3$ на момент инъекции ГФБ) и ранее в еще более выраженной форме на модели опухоли Эрлиха меньшего размера ($\sim 2 \text{ см}^3$) — торможение роста бластомы на 66 % и увеличение продолжительности жизни на 65 % [4–6]. Проведенные

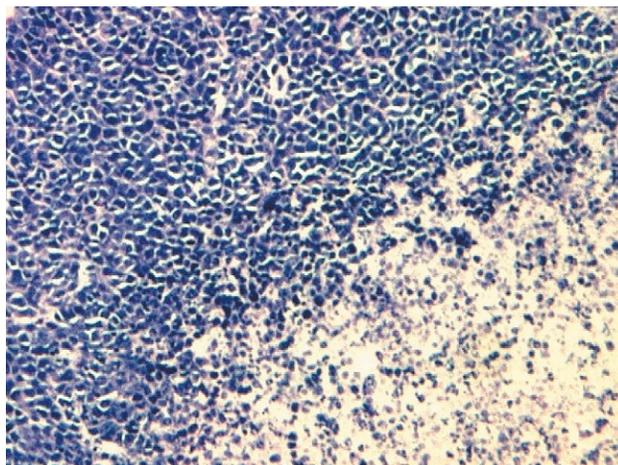


Рис. 4. Опухоль Эрлиха. 29-е сутки после перевивки. Слева — опухолевые клетки, справа — некротическая масса. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 50$

Fig. 4. Tumor of Erlich. 29th days after transplantatio tumoris. On the left are tumor cages. On the right are tumor nekroz. Colouring by hematoxylin and eosin, $\times 50$

нами ранее детальные исследования мембранного и дзета-потенциалов [6] показали, что в опухолевых клетках они снижаются после инъекции ГФБ с остаточным магнитным полем имплантата около 100–150 мГс (за вычетом магнитного поля Земли), то есть его действие ограничено размером опухоли. Это позволило предположить, что в основе противоопухолевого действия ГФБ лежат изменения мембран опухолевых клеток под действием слабого постоянного магнитного поля.

Выводы

1. Гексаферрит бария, имплантируемый в опухоль Эрлиха большого размера (3 см^3 на момент инъекции ГФБ), оказывал умеренный противоопухолевый эффект на всех сроках исследования (до 28-го дня). Остаточное магнитное поле имплантата ГФБ составляло около 150 мГс (после вычета магнитного поля Земли).
2. Окислы железа с остаточным магнитным полем, близким к нулю, — магнетит и гематит — не оказывали противоопухолевого действия.
3. Окись алюминия и кремнезем также не проявляли противоопухолевого эффекта на всех сроках исследования. Напротив, в отношении кремнезема наблюдалась даже некоторая тенденция к стимуляции роста бластомы.
4. В то время как во всех группах к 28–29-му дню после перевивки опухоли погибло от 20 до 50 % мышей-опухоленосителей, в группе с имплантацией в опухоль кремнезема выжили все животные, а сами опухоли были без признаков некроза.

Дополнительная информация

Финансирование. Работа выполнена в рамках госконтракта с Министерством здравоохранения РФ «Разработка инновационных технологий и набора реагентов для высокоэффективного выделения свободно циркулирующей ДНК крови на основе бифункционального ДНК-связывающего наноконструкта».

Соблюдение этических норм. Выполнение исследования одобрено протоколом Комитета по этике № 08-19 от 22.11.2019.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Заридзе Д.Г., Каприн А.Д., Стилиди И.С. Динамика заболеваемости злокачественными новообразованиями и смертности от них в России // Вопросы онкологии. – 2018. – Т. 64. – № 5. – С. 578–591. [Zaridze DG, Kaprin AD, Stilidi IS. Dynamics of morbidity and mortality from malignant tumors in Russia. *Vopr Onkol.* 2018;64(5):578-591. (In Russ.)]
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность). – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2018. – 250 с. [Kaprin AD, Starinskiy VV, Petrova GV. Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2016 godu (zabolevaemost' i smertnost'). Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena; 2018. 250 p. (In Russ.)]
3. Гершанович М.Л., Филов В.А., Акимов М.А., Акимов А.А. Введение в фармакотерапию злокачественных опухолей. – СПб.: СОТИС, 1999. – 152 с. [Gershanovich ML, Filov VA, Akimov MA, Akimov AA. Vvedenie v farmakoterapiyu zlokachestvennykh opukholey. Saint Petersburg: SOTIS; 1999. 152 p. (In Russ.)]
4. Евтушенко В.И., Вершинина С.Ф., Гранов А.М. Подавление роста и метастазирования злокачественных новообразований с помощью внутриопухолевой имплантации гексаферрита бария // Сибирский онкологический журнал. – 2009. – № S2. – С. 68. [Evtushenko VI, Vershinina SF, Granov AM. Podavlenie rosta i metastazirovaniya zlokachestvennykh novoobrazovaniy s pomoshch'yu vnutriopukholevoy implantatsii geksaferrita bariya. *Sibirskii onkologicheskii zhurnal.* 2009;(S2):68. (In Russ.)]
5. Гранов А.М., Вершинина С.Ф., Маркочев А.Б., и др. Оценка противоопухолевого эффекта ферромагнитного имплантата в эксперименте // Медицинский академический журнал. – 2011. – Т. 11. – № 4. – С. 51–57. [Granov AM, Vershinina SF, Markochev AB, et al. Evaluation of antitumoral effect of ferromagnetic implant in the experiment. *Med Akad Z.* 2011;11(4):51-57. (In Russ.)]
6. Гранов А.М., Карелин М.И., Гранов Д.А., и др. Магнито-жесткий ферромагнетик в экспериментальной онкологии и клинике / под ред. А.М. Гранова. – СПб.: Фолиант, 2015. – 120 с. [Granov AM, Karelin MI, Granov DA, et al. Magnitozhestkiy ferromagnetik v eksperimental'noy onkologii i klinike. Ed. by A.M. Granov. Saint Petersburg: Foliant; 2015. 120 p. (In Russ.)]
7. Гранов А.М., Вершинина С.Ф., Самсонов Р.Б., и др. Противоопухолевый эффект имплантации гексаферрита бария мышам SHR с односторонней и билатеральной лимфосаркомой ЛИО-1 // Медицинский академический журнал. – 2017. – Т. 17. – № 1. – С. 82–87. [Granov AM, Vershinina SF, Samsonov RB, et al. Antineoplastic effect of implantation of barium hexaferrite to shr mice suffering with unilateral and bilateral lymphosarcoma LIO-1. *Med Akad Z.* 2017;17(1):82-87. (In Russ.)]
8. Kim JS, Yoon TJ, Yu KN, et al. Toxicity and tissue distribution of magnetic nanoparticles in mice. *Toxicol Sci.* 2006;89(1):338-347. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfj027>.
9. Вершинина С.Ф., Стуков А.Н. Экспериментальные опухоли: практическое руководство. – СПб.: Галаника, 2018. – 68 с. [Vershinina SF, Stukov AN. Eksperimental'nye opukholi. Prakticheskoe rukovodstvo. Saint Petersburg: Galanika; 2018. 68 p. (In Russ.)]
10. Стуков А.Н., Иванова М.А., Никитин А.К., и др. Индекс роста опухоли как интегральный критерий эффективности противоопухолевой терапии в эксперименте // Вопросы онкологии. – 2001. – Т. 47. – № 5. – С. 616–618. [Stukov AN, Ivanova MA, Nikitin AK, et al. Indeks rosta opukholi kak integral'nyy kriteriy effektivnosti protivopukholevoy terapii v eksperimente. *Vopr Onkol.* 2001;47(5):616-618. (In Russ.)]

Сведения об авторах / Information about the authors

София Фатхутдиновна Вершинина — д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-8751-9168>. SPIN-код: 5864-5627. E-mail: sofia.vershinina2010@mail.ru.

Владимир Иванович Евтушенко — д-р биол. наук, главный научный сотрудник, ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-1577-4178>. SPIN-код: 6167-0141.

Sofia F. Vershinina — leading researcher, Federal State Budget Institution Acad. A.M. Granov Russian Research Centre of Radiology and Surgical Technologies Ministry of Healthcare of Russia, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-8751-9168>. SPIN-code: 5864-5627. E-mail: sofia.vershinina2010@mail.ru.

Vladimir I. Evtushenko — head researcher, Federal State Budget Institution Acad. A.M. Granov Russian Research Centre of Radiology and Surgical Technologies Ministry of Healthcare of Russia, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-1577-4178>. SPIN-code: 6167-0141.

✉ Контактное лицо / Corresponding author

София Фатхутдиновна Вершинина / Sofia F. Vershinina
E-mail: sofia.vershinina2010@mail.ru

УДК 612.663/616.69-008.8:616.697:616.699+57.087
<https://doi.org/10.17816/MAJ19286>

СРАВНЕНИЕ ЦИТОМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ НАТИВНЫХ И КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ ЧЕЛОВЕКА

А.А. Доценко, М.К. Серебрякова, И.В. Кудрявцев, А.Н. Сухачев, А.В. Полевщиков

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Для цитирования: Доценко А.А., Серебрякова М.К., Кудрявцев И.В., и др. Сравнение цитометрических методов оценки жизнеспособности нативных и криоконсервированных сперматозоидов человека // Медицинский академический журнал. – 2020. – Т. 20. – № 1. – С. 83–92. <https://doi.org/10.17816/MAJ19286>

Поступила: 05.02.2020

Одобрена: 27.02.2020

Принята: 02.03.2020

Цель исследования заключалась в сопоставлении с использованием метода проточной цитометрии способности различных сред для криоконсервации сперматозоидов обеспечивать их жизнеспособность после размораживания и оценке возможности использования лектина лукович нарцисса ложного (*Narcissus pseudonarcissus*) для определения жизнеспособности нативных и криоконсервированных сперматозоидов человека.

Материалы и методы. Исследовали эякулят 54 мужчин в возрасте от 26 до 47 лет, проходивших лечение по поводу бесплодия. Контролем служил нативный эякулят, который также использовали для процедуры экстракорпорального оплодотворения. Четыре параллельных образца замораживали с применением различных коммерческих сред. После хранения и размораживания жизнеспособность сперматозоидов оценивали методом проточной цитометрии с помощью трех витальных красителей и меченого лектина лукович нарцисса ложного.

Результаты. Все красители показали, что криоконсервация приводит к двукратному снижению жизнеспособности сперматозоидов, причиной которого является изменение состава и свойств поверхностного аппарата клетки, снижение потенциала ее митохондрии, повреждение акросомального комплекса и ядра. Наименьшее снижение жизнеспособности сперматозоидов было отмечено для усовершенствованной для заморозки спермы среды Квина.

Заключение. Проточная цитометрия позволяет с высокой эффективностью оценить жизнеспособность сперматозоидов в рамках проведения экстракорпорального оплодотворения. Результаты оценки жизнеспособности, полученные с применением лектина нарцисса, позволяют наиболее точно предсказать результат экстракорпорального оплодотворения.

Ключевые слова: сперматозоиды; криоконсервация; оценка жизнеспособности; проточная цитометрия; лектин нарцисса.

COMPARISON OF FLOW CYTOMETRY-BASED APOPTOSIS DETECTION METHODS FOR MEASURING OF HUMAN NATIVE AND CRYOPRESERVED SPERMATOZOIDS VIABILITY

A.A. Dotsenko, M.K. Serebriakova, I.V. Kudryavtsev, A.N. Sukhachev, A.V. Polevshchikov

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: Dotsenko AA, Serebriakova MK, Kudryavtsev IV, et al. Comparison of flow cytometry-based apoptosis detection methods for measuring of human native and cryopreserved spermatozoids viability. *Medical Academic Journal*. 2020;20(1):83-92. <https://doi.org/10.17816/MAJ19286>

Received: February 5, 2020

Revised: February 27, 2020

Accepted: March 2, 2020

The aim of the study was to compare the ability of various media for cryopreservation of sperm to ensure their viability after thawing and to assess the possibility of using *Narcissus pseudonarcissus* lectin to determine the viability of native and cryopreserved human sperm by flow cytometry.

Materials and methods. Used ejaculate 54 men aged 26 to 47 years, undergoing treatment for infertility. The control was a native ejaculate, which was also used for the *in vitro* fertilization procedure. Four parallel samples were frozen using various commercial media. After storage and thawing, spermatozoa viability was assessed by flow cytometry using three dyes and *Narcissus pseudonarcissus* lectin.

Список сокращений

ХГЧ — хорионический гонадотропин человека; ЭКО (англ. *In Vitro* Fertilization — IVF) — экстракорпоральное оплодотворение; DiOC₆(3) — йодид 3,3'-дигексилосакарбонцианина; ICSI (от англ. — IntraCytoplasmic Sperm Injection) — технология интрацитоплазматического введения сперматозоида; NPA — лектин нарцисса ложного (*Narcissus pseudonarcissus*); Rh123 — родамин-123.

Results. All assays showed that cryopreservation led to a twofold decrease of sperm viability, due to the changes in the composition and properties of cell membrane, decrease in mitochondrial membrane potential, as well as the damages of acrosomal complex and nucleus. The lowest decrease in sperm viability was shown for Quinn's advantage sperm freezing medium for cryopreservation.

Conclusion. Flow cytometry makes it possible to evaluate with high efficiency sperm viability as the part of *in vitro* fertilization. The results of viability assessment using daffodil lectin make the prediction of *in vitro* fertilization outcome more accurate.

Keywords: spermatozoa; cryopreservation; viability assessment; flow cytometry; *Narcissus pseudonarcissus* lectin.

Введение

Проблема бесплодного брака становится все более актуальной в России и во всем мире. Доля мужского фактора в бесплодном браке на сегодняшний день составляет не менее 40 %. Причинами мужского бесплодия могут быть нарушения морфологии, подвижности и, как результат, оплодотворяющей способности сперматозоидов. Период жизнеспособности сперматозоидов в женском репродуктивном тракте, по разным оценкам, может достигать 3–5 дней, но оплодотворяющая способность сохраняется от нескольких часов до 1–2 дней [1]. Тем не менее именно жизнеспособность сперматозоидов зачастую определяет выбор тактики лечения мужского фактора бесплодия. Ее определение представляется наиболее значимым в случае пациентов, у которых доля прогрессивно-подвижных форм составляет менее 32 %, а также при тяжелых формах бесплодия и необходимости криоконсервации биоматериала. Важность криоконсервации обусловлена как протоколом процедуры экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), так и возрастом, состоянием здоровья пациентов, отсутствием гарантий оплодотворения и имплантации бластоцисты и другими возможными рисками, что приводит к необходимости подбора оптимальной среды для криоконсервации сперматозоидов. В свою очередь, криоконсервация сопровождается заметным снижением жизнеспособности и оплодотворяющей способности мужских гамет, что актуализирует задачу оценки жизнеспособности сперматозоидов.

В клинической практике для оценки жизнеспособности сперматозоидов человека принято придерживаться методов, рекомендуемых Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) и основанных на оценке целостности мембраны сперматозоида [2].

Чаще других используют методы, предусматривающие окрашивание внутриклеточных структур водорастворимыми красителями, либо учитывающие изменение формы и объема клетки вследствие проникновения в нее воды. Водорастворимые красители плохо проникают через мембраны неповрежденных клеток, поэтому слабо окрашивают внутриклеточные

структуры. Повышение проницаемости плазмалеммы приводит к усилению окрашивания и указывает на возможное повреждение сперматозоидов. На этом феномене основаны методы определения жизнеспособности клеток с помощью эозина, нейтрального синего и других водорастворимых красителей [2]. Этот простой и быстрый подход допускает различные модификации. Так, при одношаговом окрашивании эозин – нигрозином для окрашивания цитоплазмы используют эозин, а для увеличения контрастности между основным фоном и головками сперматозоидов – нигрозин. Это помогает визуализировать отдельные клетки. Метод также позволяет хранить предметные стекла для повторной оценки и контроля качества [3]. При этом некоторые коммерческие растворы эозина являются водными (гипотоническими) растворами, что негативно влияет на сперматозоиды, приводит к быстрому снижению жизнеспособности клеток и ложным результатам [4].

Альтернативу методам окрашивания водорастворимыми красителями для определения жизнеспособности сперматозоидов составляет тест гипосмотического набухания клеток (HOS-тест) [5]. Этот метод основан на том, что сперматозоиды с неповрежденными мембранами набухают в течение 5 мин в гипосмотическом растворе NaCl, а жгутики стабилизируются (выпрямляются) через 30 мин инкубации [6]. Данный подход полезен, когда необходимо избежать окрашивания, например, в ходе отбора сперматозоидов для проведения интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов в ооцит (процедура ICSI). При данном подходе степень набухания клетки оценивают субъективно, влажные препараты не могут храниться, что делает невозможным сравнение результатов даже для одного пациента.

Недостаток обоих методов заключается в визуальной оценке препарата и подсчете доли жизнеспособных сперматозоидов, что вносит субъективность в интерпретацию результатов и указывает на необходимость разработки современных автоматизированных и воспроизводимых методов.

Принципиально иным подходом представляется использование проточной цитометрии,

ставшей одним из наиболее распространенных методов работы с клетками как в фундаментальных, так и в прикладных исследованиях. Помимо высокой скорости исследования, преимуществами цитометрического анализа являются минимальный расход материала, возможность идентификации «чистой» (до 99,9 %) популяции, позитивной по тому или иному маркеру, одновременный анализ нескольких признаков и маркеров по любому числу событий, вплоть до единичных клеток. При определении жизнеспособности сперматозоидов с помощью проточной цитометрии можно одновременно учитывать как проницаемость плазмалеммы, так и состояние внутренних мембран, что позволяет параллельно оценивать митохондриальный потенциал, статус емкости и акросомальной реакции [7].

Повышение проницаемости плазмалеммы в любом случае сопряжено с изменением ее состава и частичной десикализацией, что открывает для анализа ранее скрытые детерминанты белковой и углеводной природы. Удобными инструментами для анализа углеводов гликокаликса являются лектины — углевод-связывающие белки с фиксированной лигандной специфичностью. Это определяет активное применение лектиногистохимии для изучения углеводных детерминант на поверхности клеток. Кроме того, возможно использование лектинов, конъюгированных с биотином и различными флуорохромами, в проточной цитометрии. Ранее лектины уже применяли для оценки апоптоза и связанных с ним изменений уровня различных углеводных детерминант на мембране на его разных стадиях [8, 9].

В предварительных исследованиях были выявлены важные свойства лектина луковиц нарцисса ложного (*Narcissus pseudonarcissus* — НРА), который связывает остатки маннозы в терминальном положении на поверхности клеток, что указывает на перспективность его использования для детекции апоптоза [9].

Цель данной работы заключалась в сопоставлении способности различных сред для криоконсервации сперматозоидов обеспечивать их жизнеспособность после размораживания и оценке возможности использования НРА для определения жизнеспособности нативных и криоконсервированных сперматозоидов человека методом проточной цитометрии.

Материалы и методы

Материал и его получение. В качестве материала использовали эякулят мужчин, прошедших лечение по поводу бесплодия в отделении вспомогательных репродуктивных тех-

нологий СПбГБУЗ «Городская Мариинская больница». В исследовании приняли участие 54 мужчины в возрасте от 26 до 47 лет, средний возраст составил $32,7 \pm 0,7$ года. От всех пациентов было получено осведомленное согласие. Стандартная подготовка перед получением материала включала 10-дневное исключение алкоголя, курения и тепловых процедур (бани, горячие ванны), а также 3-дневное половое воздержание. В исследование не включали пациентов, имевших эпизоды повышения температуры тела выше $37,3^\circ\text{C}$ в предшествующие 30 дней.

Материал собирали в стерильные пластиковые контейнеры и сразу после получения для всех образцов эякулята оценивали показатели спермограммы, в том числе объем материала, концентрацию сперматозоидов, долю активно-подвижных форм и другие стандартные параметры спермограммы, с использованием световой микроскопии согласно рекомендациям ВОЗ [2].

Полученный от каждого пациента материал разделяли на шесть аликвот. Нативный эякулят одной аликвоты (далее — «рабочая аликвота») подвергали стандартной обработке в рамках проведения процедуры ЭКО и использовали для оплодотворения ооцитов. После процедуры ЭКО эмбрионы переносили в полость матки женщины-реципиента, а о наступлении беременности судили по уровню хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) в крови женщины на 10-е сутки после имплантации. Уровень ХГЧ определяли методом иммуноферментного анализа по методике изготовителя наборов (НПО «Иммунотэкс», Россия). Успехом процедуры ЭКО (то есть достоверным наступлением беременности) считали повышение уровня ХГЧ более 25 мМЕ/мл на 10-е сутки после ЭКО, хотя иногда беременность наступала и при более низких сывороточных концентрациях ХГЧ на указанном сроке.

Материал аликвоты 1 (среда 1, контроль) также представлял собой нативный эякулят, который не подвергали процедуре замораживания, хранения и оттаивания, разбавляли равным объемом 0,14 М раствора натрия хлорида, забуференного фосфатами (рН 7,2–7,4, забуференный изотонический раствор натрия хлорида), и сперматозоиды отделяли от семенной плазмы путем центрифугирования при 200 g в течение 8 мин при комнатной температуре. Полученный осадок ресуспендировали в 200 мкл забуференного изотонического раствора натрия хлорида и использовали для цитометрического анализа.

Материал аликвот 2–5 (среды 2–5) замораживали в жидком азоте после добавления равного объема консервирующей среды к на-

тивному эякуляту с помощью коммерческих наборов для криоконсервации, процедуру которой осуществляли в соответствии с методикой изготовителей. Для аликвоты 2 использовали набор Sperm Freezing Medium, для аликвоты 3 — среду Квина, усовершенствованную для заморозки спермы, для аликвоты 4 — набор Freezing Medium, для аликвоты 5 — раствор Spermfreeze Solution. Замороженные порции эякулята хранили в жидком азоте от 1 до 30 сут, а после размораживания при комнатной температуре разбавляли равным объемом забуференного изотонического раствора натрия хлорида и готовили для цитометрического анализа аналогично среде 1.

Подготовка проб для проточной цитометрии и проведение анализа. Для всех образцов, находившихся в средах 1–5, параллельно применяли четыре метода оценки жизнеспособности сперматозоидов.

1. Для оценки мембранного потенциала митохондрий сперматозоидов, как самого раннего маркера апоптоза, использовали йодид 3,3'-дигексилоксакарбоцианина (DiOC₆(3), Invitrogen, США). Метод окрашивания описан в работе [10]. Докрашивание иодистым пропидием и цитометрический анализ вели по методике, описанной I. Mindukshiev et al. [11].
2. Для оценки целостности мембраны и ДНК митохондрии сперматозоида и плотности упаковки его ядерного хроматина, позволяющего различить ранние и поздние стадии апоптоза, использовали краситель SYTO16 green (Invitrogen, США). Окрашивание данным красителем с последующим докрашиванием иодистым пропидием проводили в соответствии с методом, изложенным D. Wlodkowic et al. [12].
3. Для дифференцировки раннего и позднего апоптоза сперматозоидов, а также окрашивания его митохондрий и акросомального аппарата применяли липофильный краситель родамин-123 (Rh123, Sigma-Aldrich, США) с последующим докрашиванием иодистым пропидием по методике И.В. Кудрявцева и др. [13].
4. Новый способ определения жизнеспособности сперматозоидов с помощью меченого флуоресцеинизотиоцианатом лектина нарцисса (НПК «Лектинотест», Украина) защищен патентом РФ [14].

Для всех красителей в ходе цитометрического исследования анализировали не менее 50 000 одиночных клеток. С целью разделения одиночных клеток и их агрегатов использовали сочетания сигналов по прямому (FS — величина, пропорциональная размеру клеток) и боко-

вому (SS — величина, характеризующая структуру клеток) светорассеянию — интенсивность пикового против интенсивности интегрального сигналов по FS или SS, а также время прохождения через точку детекции против интенсивности интегрального сигнала FS или SS. Из-за неправильной формы сперматозоидов и возможного искажения результатов вследствие их случайной ориентации относительно лазерного луча в проточной ячейке в анализе использовали только одинаково ориентированные сперматозоиды, выделенные путем гейтирования. Результаты анализировали при помощи программного обеспечения Kaluza™ (Beckman Coulter, США).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью методов параметрического и непараметрического анализа в соответствии с результатами проверки сравнимых совокупностей на нормальность распределения [15–18]. Накопление, корректировку, систематизацию исходной информации и визуализацию полученных результатов осуществляли с применением таблиц Microsoft Office Excel 2010. Статистический анализ проводили в программе IBM SPSS Statistics 20. В рамках параметрического анализа вычисляли средние арифметические и их ошибки ($M \pm m$), а две выборки сравнивали с использованием t -критерия Стьюдента. В ходе непараметрического анализа в качестве показателя устойчивости результатов, выраженных количественными данными для сравниваемых объектов при различных условиях, рассчитывали коэффициент конкордации (множественной ранговой корреляции) W Кендалла, значения которого интерпретировали в соответствии со шкалой Чеддока [19]. Статистическую значимость полученного коэффициента конкордации W оценивали при помощи критерия χ^2 . Любые различия в рамках параметрического и непараметрического анализа считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты анализа параметров спермограммы приведены в табл. 1. Они указывают на умеренные отклонения от нормы у всех обследованных пациентов по большинству показателей. Обращает на себя внимание снижение концентрации клеток менее 20 млн/мл у 14,9 % пациентов, а также недостаток прогрессивно-подвижных сперматозоидов у 21,3 % пациентов, что не является препятствием для успешного проведения процедуры ЭКО.

Однако результаты спермограммы не дают представления о жизнеспособности сперматозоидов, которая может быть критическим

Таблица 1 / Table 1

Основные показатели спермограммы пациентов, проходивших лечение по поводу бесплодия, $n = 54$
 Clinical indicators of semen analysis, $n = 54$

Показатель	Норма (2)	Значения показателя		Отклонения от нормы, %
		min – max	$M \pm m$	
Объем эякулята, мл	$\geq 1,5$	2–9	$3,6 \pm 0,2$	0,0
Концентрация клеток, млн/мл	≥ 15	3–150	$53,7 \pm 5,3$	14,9
Доля прогрессивно-подвижных форм (тип А), %	≥ 32	0–82	$42,7 \pm 3,2$	21,3
Нормальная морфология, %	≥ 4	0–20	$6,3 \pm 0,7$	36,2
Округлые клетки, млн/мл	≤ 5	0–16	$2,3 \pm 0,6$	7,3

Таблица 2 / Table 2

Результаты оценки жизнеспособности нативных и криоконсервированных сперматозоидов по результатам цитометрического исследования, доля жизнеспособных сперматозоидов от общего числа клеток в % ($M \pm m$, $n \geq 50$) по каждой точке

Effects of cryopreservation on sperm viability (the quantitative data (% with total cells) are represented as Mean \pm SEM)

Среда	Краситель				W'	$p_{W'}$
	DiOC ₆ (3)	SYTO16	Rh123	NPA		
1	$53,6 \pm 2,1$	$54,4 \pm 2,3$	$53,1 \pm 2,4$	$51,5 \pm 2,7$	0,234	<0,001
2	$22,5 \pm 1,6$	$20,8 \pm 1,7$	$19,9 \pm 1,7$	$19,6 \pm 1,7$	0,086	<0,01
3	$24,9 \pm 1,7$	$24,5 \pm 1,9$	$24,2 \pm 1,9$	$23,4 \pm 1,9$	0,072	<0,01
4	$15,0 \pm 1,6$	$12,2 \pm 1,4$	$11,6 \pm 1,4$	$12,2 \pm 1,4$	0,103	<0,001
5	$23,5 \pm 1,6$	$21,9 \pm 1,6$	$21,0 \pm 1,7$	$21,4 \pm 1,6$	0,075	<0,01
W'	0,722	0,755	0,752	0,790	–	–
$p_{W'}$	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	–	–

Примечание. Значения коэффициента конкордации Кендалла: W' — для красителя (столбец таблицы), $p_{W'}$ — его достоверность; W'' — для среды (строка таблицы), $p_{W''}$ — его достоверность.

фактором для оплодотворения. На жизнеспособность клеток может существенно влиять процедура криоконсервации материала. Для оценки жизнеспособности нативных сперматозоидов и клеток после криоконсервации использовали метод проточной цитометрии с окрашиванием материала тремя разными флуоресцентными красителями — DiOC₆(3), SYTO16, Rh123 и меченным флуоресцеинизотиоцианатом NPA. Результаты оценки приведены в табл. 2.

Согласно приведенным в табл. 2 результатам лишь половину сперматозоидов в эякуляте пациентов с мужским бесплодием можно рассматривать как полноценные живые клетки даже в случае нативного материала (контрольная среда 1), у остальных клеток отмечаются признаки апоптоза. Этот результат получен при использовании всех красителей, что подтверждает его надежность. Снижение жизнеспособности затрагивает энергетический аппарат клетки (краситель DiOC₆(3), на 46,4 %), плотность упаковки хроматина в ядре (краситель SYTO16, на 45,6 %), акросомальный комплекс (краситель

Rh123, снижение на 46,9 %) и состояние поверхностного аппарата сперматозоида, включая его распознающий аппарат (краситель NPA, на 48,5 %). Сходство показателей, полученных с применением разных красителей, подтверждается высокой однородностью значений, что отражает достоверность показателя W' , равного 0,234 ($p < 0,001$).

Данные таблицы также свидетельствуют, что при любой схеме консервации сперматозоидов их жизнеспособность после размораживания снижается в 2–4 раза. При использовании среды 3 жизнеспособность сперматозоидов снижается в 2 раза, при использовании среды 4 — практически в 4 раза. В случае применения сред 2 и 5 получен промежуточный показатель снижения жизнеспособности мужских гамет относительно сред 3 и 4. Согласно показателю конкордации Кендалла W'' эти результаты также носят высокодостоверный характер для каждой криоконсервирующей среды ($p < 0,01$ и менее).

Снижение жизнеспособности в ходе криоконсервации не связано напрямую ни с одним

из рассматриваемых признаков раннего апоптоза, выявляемых с помощью набора описанных выше красителей, на что указывают равномерно высокий показатель W Кендалла для всех красителей, высокая плотность и достоверность значений (для всех красителей $p < 0,001$). При этом следует учитывать, что столь большие значения W (от 0,722 для DiOC₆(3) до 0,790 для NPA) являются следствием прямого сопоставления результатов для нативного контроля (среда 1) и клеток, прошедших процедуру криоконсервации (среды 2–5). Это обуславливает группировку данных вокруг их средних значений и обеспечивает высокую достоверность распределения.

Как отмечено выше, рабочая аликвота была использована в ходе процедуры ЭКО, что позволило ретроспективно сопоставить результаты оценки жизнеспособности нативных сперматозоидов (среда 1) с результатами процедуры ЭКО (без применения технологии ICSI). Результаты анализа с применением панели красителей приведены в табл. 3. Однозначным критерием наступления беременности считали повышение уровня ХГЧ в сыворотке крови женщины более 25 мМЕ/мл через 10 сут после проведения ЭКО, хотя в ряде случаев беременность наступала и при более низких сывороточных уровнях ХГЧ.

Результаты, приведенные в табл. 3, показывают, что достоверное наступление беременности после ЭКО связано с относительно высокой (более 65 % по всем методам оценки) жизнеспособностью сперматозоидов. При этом наивысший уровень жизнеспособности гамет (в среднем $70,0 \pm 2,4$ % при максимальном индивидуальном значении 80,4 % живых клеток) зафиксирован при окрашивании NPA; показатель достоверно отличался от

уровней жизнеспособности клеток, выявленных при помощи других красителей (согласно t -критерию Стьюдента). Таким образом, можно заключить, что NPA позволяет оценить не только жизнеспособность сперматозоидов, но и их оплодотворяющую способность. Высокая эффективность оплодотворения также связана с выраженным окрашиванием красителем DiOC₆(3) ($66,3 \pm 3,1$ % живых клеток). При этом доля живых клеток, выявленная с помощью Rh123 и SYTO16, несколько ниже, хотя достоверно не отличается от показателей жизнеспособности сперматозоидов, выявленных с помощью DiOC₆(3) (см. табл. 3).

Сывороточные уровни ХГЧ менее 25 мМЕ/мл в крови женщины через 10 сут после ЭКО не позволяют сделать однозначного заключения о наступлении беременности. Данные табл. 3 также свидетельствуют, что в этих случаях показатели жизнеспособности сперматозоидов были заметно ниже и ни один из методов оценки жизнеспособности сперматозоидов не обладал прогностическим значением в отношении их оплодотворяющей способности.

Результаты табл. 3 подтверждаются данными, полученными при применении технологии ICSI в ходе ЭКО (табл. 4). Технология ICSI предусматривает введение сперматозоида непосредственно в цитоплазму ооцита путем микроинъекции. В этом случае состояние поверхностного аппарата сперматозоида, его митохондрии, а также акросомального комплекса теряет решающее значение для процесса оплодотворения.

Из табл. 4 видно, что при любом способе оценки жизнеспособности сперматозоида она ниже аналогичного показателя, представленного в табл. 3. Более того, между показателями, полученными с применением разных

Таблица 3 / Table 3

Сопоставление уровней жизнеспособности нативных сперматозоидов (по результатам использования различных красителей) с наступлением беременности после процедуры экстракорпорального оплодотворения
Comparison of the viability levels of native sperm (according to the results of using various dyes) with the onset of pregnancy after the IVF procedure

Краситель	Уровень хорионического гонадотропина человека в сыворотке женщины				p
	менее 25 мМЕ/мл, n = 14		25 мМЕ/мл и более, n = 5		
	$M \pm m$	$M \pm \sigma$	$M \pm m$	$M \pm \sigma$	
DiOC ₆ (3)	$62,3 \pm 2,8$	56,3–68,3	$66,3 \pm 3,1$	57,6–75,0	$\gg 0,05$
SYTO16	$64,7 \pm 2,7$	59,0–70,4	$65,0 \pm 2,9$	51,4–78,6	$\gg 0,05$
Rh123	$65,1 \pm 2,6$	59,6–70,6	$65,4 \pm 2,3$	53,3–77,5	$\gg 0,05$
NPA	$62,4 \pm 2,8$	56,3–68,5	$70,0 \pm 2,4$	59,6–80,4	$< 0,05$

Примечание. $M \pm \sigma$ — 95 % доверительный интервал, где σ — среднее квадратичное отклонение; достоверность различий между распределениями образцов (относительно 95 % интервала) по жизнеспособности сперматозоидов при уровнях хорионического гонадотропина человека выше и ниже 25 мМЕ/мл сравнивали по критерию χ^2 .

Сопоставление уровней жизнеспособности нативных сперматозоидов (по результатам использования различных красителей) с наступлением беременности после процедуры экстракорпорального оплодотворения по технологии ICSI
Comparison of the viability levels of native sperm (according to the results of using various dyes) with the onset of pregnancy after an IVF procedure using ICSI technology

Краситель	Уровень хорионического гонадотропина человека в сыворотке женщины				p
	менее 25 мМЕ/мл, n = 14		25 мМЕ/мл и более, n = 12		
	M ± m	M ± σ	M ± m	M ± σ	
DiOC ₆ (3)	53,6 ± 3,4	46,3–61,0	43,9 ± 3,7	35,7–52,1	>0,05
SYTO16	54,2 ± 4,6	44,2–64,3	45,5 ± 3,6	37,7–53,3	>0,05
Rh123	51,8 ± 4,5	41,9–61,7	43,0 ± 4,3	33,5–52,5	>0,05
NPA	50,4 ± 5,0	39,4–61,3	41,0 ± 5,4	28,7–53,2	>0,05

Примечание. См. табл. 3.

красителей, не существует достоверных различий ни в одном случае. Еще одним заметным отличием результатов, полученных при применении технологии ICSI, является высокая вероятность наступления беременности (и сопутствующий ей высокий уровень ХГЧ в крови женщины) при более низкой (в среднем на 10 %) жизнеспособности сперматозоидов.

Обсуждение

Проточную цитометрию широко используют для изучения сперматозоидов млекопитающих в области клинической андрологии, репродуктивной токсикологии и ветеринарии. Ее преимущество заключается не только в объективности автоматизированного учета и его высочайшей скорости, но и в множественности параметров, определяемых в ходе анализа. Такой комплексный подход может способствовать повышению предсказательной силы статуса фертильности и улучшению качества как криорезистентности, так и всей процедуры ЭКО.

С помощью всех приведенных способов оценки жизнеспособности сперматозоидов человека в рамках метода проточной цитометрии получены сходные результаты. При этом нельзя не обратить внимания, что при окрашивании меченым NPA зафиксирован самый низкий уровень жизнеспособности по сравнению с тремя другими красителями (DiOC₆(3), SYTO16 и Rh123) (см. табл. 2). Тем не менее именно с использованием NPA для оценки жизнеспособности нативных клеток (среда 1) было достигнуто самое высокое совпадение результатов по уровню оплодотворяющей способности сперматозоидов и наступлению беременности (см. табл. 2 и 3). По-видимому, это объясняется разным функциональным значением для жизнеспособности и фертильности сперматозоидов

тех структур, которые связываются с различными красителями. Так, NPA, специфичный к αD-маннозе, определяет состояние поверхностного аппарата клетки, что применительно к сперматозоидам указывает на состояние распознающего аппарата гаметы, который играет центральную роль в оплодотворении в физиологических условиях и в ходе процедуры ЭКО (без модификации ICSI).

Почти одинаковое значение для фертильности клеток имеет состояние митохондрии и акросомального аппарата сперматозоида (красители DiOC₆(3) и Rh123) и наименьшее значение — состояние мембраны ядерной оболочки и ДНК (краситель SYTO16). Именно в такой последовательности можно выстроить разные способы цитометрической оценки жизнеспособности нативных сперматозоидов по их прогностическому значению для успеха оплодотворения (см. табл. 2 и 3), которое полностью совпадает с последовательностью событий в ходе физиологического слияния гамет [20].

Это заключение подтверждается данными табл. 4. Поскольку по технологии ICSI спермий вводится путем микроинъекции непосредственно в цитоплазму ооцита, состояние его поверхностного распознающего аппарата, равно как и полноценность работы акросомы и митохондрии в шейке, теряет свое критическое значение. В пользу именно этого заключения свидетельствуют результаты оценки жизнеспособности сперматозоидов, использованных для ICSI: все красители указывают на одинаково низкий уровень жизнеспособности сперматозоидов. Однако низкая жизнеспособность сперматозоидов слабо связана с успехом ЭКО методом ICSI и наступлением беременности. Тем не менее, оценка жизнеспособности сперматозоидов актуальна и в этом случае.

Криоконсервирование сперматозоидов составляет неотъемлемую часть вспомогательных

репродуктивных технологий, и прогнозирования результатов криоконсервации необходимо при лечении мужского фактора бесплодия и создании донорских банков спермы. В настоящее время стандартным обследованием перед замораживанием материала является оценка подвижности, концентрации и морфологии сперматозоидов [2], хотя данные параметры не имеют прогностического значения в отношении успеха криорезистентности и сохранения жизнеспособности после замораживания, так как не позволяют оценить степень функционально значимых изменений в плазматической мембране, акросоме, митохондриях или ДНК. Предполагают, что результат процедуры криоконсервации во многом зависит от первоначальной лабильности мембраны нативного сперматозоида, то есть от состояния его поверхностного аппарата [21, 22]. Повреждение плазматической мембраны в ходе криоконсервации происходит достаточно часто по сравнению с повреждением акросомы, но одновременно может повреждаться и митохондриальная мембрана, что приводит к уменьшению синтеза АТФ. Все это приводит к снижению доли прогрессивно-подвижных сперматозоидов после криоконсервации, которая в норме составляет около 50 %.

В ходе исследования для криоконсервации сперматозоидов использовали четыре коммерческие среды (среда 2 — Sperm Freezing Medium, среда 3 — усовершенствованная для заморозки спермы среда Квина, среда 4 — набор Freezing Medium и среда 5 — раствор Spermfreeze Solution). На основании приведенных данных видно, что в любом случае процедура криоконсервации снижает жизнеспособность мужских гамет в среднем в 2 раза по сравнению с нативными клетками. Приведенные в табл. 2 результаты позволяют утверждать, что усовершенствованная для заморозки среда Квина обеспечивает несколько лучшую сохранность клеток, в то время как максимально травматичным для сперматозоидов было использование набора Freezing Medium. Однако не только при использовании различных консервирующих сред, но вообще после процедуры криоконсервации необходимо оценивать жизнеспособность сперматозоидов, при этом NPA обеспечивает получение результатов, наилучшим образом коррелирующих с высокой фертильностью клеток.

В любом случае результаты исследования не указывают на причины развития мужского бесплодия у конкретного пациента. Эти причины могут быть следствием множества внешних (инфекционно-воспалительные заболевания, механические травмы, токсические воздействия и др.) и внутренних (нарушения развития

пациента, многочисленные физиологические, в том числе гормональные, иммунологические, обменные сдвиги, окислительный стресс) факторов. Однако цитометрическая оценка жизнеспособности сперматозоидов способна существенно повысить эффективность лечения мужского бесплодия в рамках применения ЭКО.

Выводы

1. Цитометрическая оценка жизнеспособности сперматозоидов превосходит традиционные микроскопические методы как по информативности, так и по скорости анализа.
2. Разные способы цитометрической оценки жизнеспособности сперматозоидов по уровню апоптоза с использованием красителей DiOC₆(3), SYTO16, Rh123 и меченного флуоресцеинизотиоцианатом NPA дают сходные результаты. Однако показатели, полученные с использованием NPA, лучше всего соответствуют оплодотворяющей способности клеток и частоте наступления беременности в случае ЭКО без применения технологии ICSI.
3. В ходе криоконсервации жизнеспособность сперматозоидов снижается примерно в 2 раза. Усовершенствованная для заморозки спермы среда Квина оказывает наименьшее повреждающее действие на сперматозоиды по сравнению с тремя другими средами.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Suarez SS, Pacey AA. Sperm transport in the female reproductive tract. *Hum Reprod Update*. 2006;12(1):23-37. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmi047>.
2. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: WHO; 2010. 287 p.
3. Björndahl L, Söderlund I, Kvist U. Evaluation of the one-step eosin-nigrosin staining technique for human sperm vitality assessment. *Hum Reprod*. 2003;18(4):813-816. <https://doi.org/10.1093/humrep/deg199>.
4. Björndahl L, Söderlund I, Johansson S, et al. Why the WHO recommendations for eosin-nigrosin staining techniques for human sperm vitality assessment must change. *J Androl*. 2004;25(5):671-678. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2004.tb02839.x>
5. Jeyendran RS, Van der Ven HH, Perez-Pelaez M, et al. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J Reprod Fertil*. 1984;70(1):219-228. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0700219>.

6. Hossain AM, Rizk B, Barik S, et al. Time course of hypo-osmotic swellings of human spermatozoa: evidence of ordered transition between swelling subtypes. *Hum Reprod.* 1998;13(6):1578-1583. <https://doi.org/10.1093/humrep/13.6.1578>.
7. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. — Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2018. [Zurochka AV, Khaydukov SV, Kudryavtsev IV, Chereshev VA. Protophnaya tsitometriya v biomeditsinskikh issledovaniyakh. Ekaterinburg: RIO UrO RAN; 2018. (In Russ.)]
8. Batisse C, Marquet J, Greffard A, et al. Lectin-based three-color flow cytometric approach for studying cell surface glycosylation changes that occur during apoptosis. *Cytometry A.* 2004;62(2):81-88. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20094>.
9. Серебрякова М.К., Доценко А.А., Кудрявцев И.В., Полевщиков А.В. Скрининг панели лектинов для оценки стадий апоптоза тимоцитов мыши // Медицинский академический журнал. — 2019. — Т. 19. — № 3. — С. 57–70. [Serebriakova MK, Dotsenko AA, Kudryavtsev IV, Polevshchikov AV. Lectin panel screening for evaluating of murine thymocytes apoptosis stages. *Medical academic journal.* 2019;19(3):57-70. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/MAJ19357-70>.
10. Castedo M, Ferri K, Roumier T, et al. Quantitation of mitochondrial alterations associated with apoptosis. *J Immunol Methods.* 2002;265(1-2):39-47. [https://doi.org/10.1016/S0022-1759\(02\)00069-8](https://doi.org/10.1016/S0022-1759(02)00069-8).
11. Mindukshev I, Kudryavtsev I, Serebriakova M, et al. Chapter 24 – Flow cytometry and light scattering technique in evaluation of nutraceuticals. In: *Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity.* Elsevier; 2016. P. 319-332. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-802147-7.00024-3>.
12. Wlodkowic D, Skommer J, Darzynkiewicz Z. SYTO probes in the cytometry of tumor cell death. *Cytometry A.* 2008;73(6):496-507. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20535>.
13. Кудрявцев И.В., Головкин А.С., Зурочка А.В., Хайдуков С.В. Современные методы и подходы к изучению апоптоза в экспериментальной биологии // Медицинская иммунология. — 2012. — Т. 14. — № 6. — С. 461–482. [Kudryavtsev IV, Golovkin AS, Zurochka AV, Khaidukov SV. Modern technologies and approaches to apoptosis studies in experimental biology. *Medical Immunology (Russia).* 2012;14(6):461-482. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2012-6-461-482>.
14. Патент РФ на изобретение № 2689791/ 29.05.18. Доценко А.А., Кудрявцев И.В., Серебрякова М.В., Полевщиков А.В. Способ определения жизнеспособности сперматозоидов человека. [Patent RUS No 2689791/ 29.05.18. Dotsenko AA, Kudryavtsev IV, Serebryakova MV, Polevshchikov AV. Sposob opredeleniya zhiznesposobnosti spermatozoidov cheloveka. (In Russ.)]
15. Glantz SA. *Primer of Biostatistics.* 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2011.
16. Petri A, Sabin C. *Medical statistics at a glance* 3rd ed. London: Wiley-Blackwell; 2013.
17. Плавинский С.Л. Биостатистика: планирование, обработка и представление результатов биомедицинских исследований при помощи системы SAS. — СПб.: СПбМАПО, 2005. [Plavinskiy SL. Biostatistika: planirovanie, obrabotka i predstavlenie rezul'tatov biomeditsinskikh issledovaniy pri pomoshchi sistemy SAS. Saint Petersburg: SPbMAPO; 2005. (In Russ.)]
18. Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В.И. Прикладная медицинская статистика. — М.: Фолиант, 2006. [Zaytsev VM, Lifyandskiy VG, Marinkin VI. Prikladnaya meditsinskaya statistika. Moscow: Foliant, 2006. (In Russ.)]
19. Наследов А.Д. SPSS 19: профессиональный статистический анализ данных. — СПб.: Питер, 2011. [Nasledov AD. SPSS 19: professional'nyy statisticheskiy analiz dannykh. Saint Petersburg: Piter; 2011. (In Russ.)]
20. Aitken RJ, Gibb Z, Mitchell LA, et al. Sperm motility is lost in vitro as a consequence of mitochondrial free radical production and the generation of electrophilic aldehydes but can be significantly rescued by the presence of nucleophilic thiols. *Biol Reprod.* 2012;87(5):110. <https://doi.org/10.1095/biol-reprod.112.102020>.
21. Castro LS, Hamilton TRS, Mendes CM, et al. Sperm cryo-damage occurs after rapid freezing phase: flow cytometry approach and antioxidant enzymes activity at different stages of cryopreservation. *J Anim Sci Biotechnol.* 2016;7:17. <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0076-x>.
22. Duru NK, Morshedi M, Schuffner A, Oehninger S. Cryopreservation-thawing of fractionated human spermatozoa and plasma membrane translocation of phosphatidylserine. *Fertil Steril.* 2001;75(2):263-268. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(00\)01694-0](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(00)01694-0).

Сведения об авторах / Information about the authors

Анна Андреевна Доценко — соискатель отдела иммунологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; руководитель лаборатории клинической эмбриологии Отделения вспомогательных репродуктивных технологий, СПбГБУЗ «Городская Мариинская больница», Санкт-Петербург, Россия. E-mail: annadotsenkoem@gmail.com.

Мария Константиновна Серебрякова — научный сотрудник отдела иммунологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-2596-4220>. SPIN-code: 3332-8732. E-mail: m-serebryakova@yandex.ru.

Anna A. Dotsenko — applicant, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine; Head of the Clinical Embryology Laboratory, Department of Assisted Reproductive Technologies, City Mariinsky Hospital, Saint Petersburg, Russia. E-mail: annadotsenkoem@gmail.com.

Maria K. Serebriakova — Researcher, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-2596-4220>. SPIN-code: 3332-8732. E-mail: m-serebryakova@yandex.ru.

Игорь Владимирович Кудрявцев — канд. биол. наук, заведующий лабораторией иммунорегуляции, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-7204-7850>. SPIN-код: 4903-7636. E-mail: igorek1981@yandex.ru.

Александр Николаевич Сухачев — канд. биол. наук, научный сотрудник отдела иммунологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-3458-2331>. SPIN-код: 8704-3466. E-mail: 3606940@mail.ru.

Александр Витальевич Полевщиков — д-р биол. наук, профессор, заведующий отделом иммунологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-3342-178X>. SPIN-код: 9627-6694. E-mail: ALEXPOL512@yandex.ru.

Igor V. Kudryavtsev — PhD, Head of Immunoregulation Laboratory, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-7204-7850>. SPIN-code: 4903-7636. E-mail: igorek1981@yandex.ru.

Alexander N. Sukhachev — PhD, Researcher, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-3458-2331>. SPIN-code: 8704-3466. E-mail: 3606940@mail.ru.

Alexander V. Polevshchikov — PhD, D.Sci.Biol., Professor, Head of the Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-3342-178X>. SPIN-code: 9627-6694. E-mail: ALEXPOL512@yandex.ru.

✉ **Контактное лицо / Corresponding author**

Александр Витальевич Полевщиков / Alexander V. Polevshchikov
E-mail: ALEXPOL512@yandex.ru

УДК 616.89-02:616.391+616.831
<https://doi.org/10.17816/MAJ19225>

ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ ВИТАМИНА D₃ (ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛА) НА РАЗВИТИЕ КОГНИТИВНЫХ И ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ У ПАЦИЕНТОВ С ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНОЙ БОЛЕЗНЬЮ

С.В. Лобзин, Г.И. Шварцман, Е.М. Первова, И.В. Чистова, Е.А. Юркина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Для цитирования: Лобзин С.В., Шварцман Г.И., Первова Е.М., и др. Влияние уровня витамина D₃ (холекальциферола) на развитие когнитивных и психоэмоциональных расстройств у пациентов с цереброваскулярной болезнью // Медицинский академический журнал. – 2020. – Т. 20. – № 1. – С. 93–100. <https://doi.org/10.17816/MAJ19225>

Поступила: 21.01.2020

Одобрена: 25.02.2020

Принята: 02.03.2020

В последние годы проблема сосудистых когнитивных нарушений приобретает все большую значимость в связи с увеличением распространенности цереброваскулярной патологии. Цель настоящего исследования — определить зависимость между уровнем 25(ОН)D, высокочувствительного С-реактивного белка, интерлейкина-1β, интерлейкина-6 и когнитивными функциями у пациентов с цереброваскулярной болезнью и оценить их влияние на качество жизни.

Материалы и методы. Было обследовано 58 пациентов с цереброваскулярной болезнью в возрасте 31–81 год. Группу сравнения составили 24 пациента, сопоставимых по возрасту и полу, без изучаемой патологии. В ходе исследования у пациентов определяли уровень 25(ОН)D, интерлейкина-1β, интерлейкина-6, высокочувствительного С-реактивного белка в периферической крови. Всем пациентам проводили нейропсихологическое, психометрическое исследование и оценивали их качество жизни.

Результаты. У пациентов с цереброваскулярной болезнью уровень 25(ОН)D был ниже по сравнению с пациентами без данной патологии. Концентрации интерлейкина-1β, интерлейкина-6, высокочувствительного С-реактивного белка у пациентов в основной группе были статистически значимо выше, чем у пациентов в группе сравнения. У пациентов с низкой обеспеченностью витамином D отмечены более высокие концентрации высокочувствительного С-реактивного белка, интерлейкина-1β и интерлейкина-6. В ходе исследования были выявлены прямая корреляционная связь между уровнем 25(ОН)D в периферической крови и результатами нейропсихологического тестирования (шкалы MMSE, MoCA, FAB, таблицы Шульце (эффективность работы), тест «Рисование часов») и обратная связь со степенью вработываемости (таблицы Шульце). Между результатами психометрического тестирования и уровнем 25(ОН)D в периферической крови наблюдалась обратная корреляционная связь средней силы. Была подтверждена взаимосвязь между уровнем 25(ОН)D в периферической крови и показателями качества жизни в виде прямой корреляционной связи.

Заключение. В результате исследования было установлено, что чем выше уровень 25(ОН)D и ниже уровень интерлейкина-1β, интерлейкина-6, высокочувствительного С-реактивного белка в периферической крови, тем меньше вероятность развития когнитивных и психоэмоциональных расстройств, а также показана взаимосвязь между содержанием 25(ОН)D и показателями качества жизни.

Ключевые слова: цереброваскулярная болезнь; витамин D; интерлейкин; высокочувствительный С-реактивный белок.

EFFECT OF VITAMIN D₃ (CHOLECALCIFEROL) LEVELS ON THE DEVELOPMENT OF COGNITIVE AND PSYCHOEMOTIONAL DISORDERS IN PATIENTS WITH CEREBROVASCULAR DISEASE

S.V. Lobzin, G.I. Shvartsman, E.M. Pervova, I.V. Chistova, E.A. Yurkina

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

For citation: Lobzin SV, Shvartsman GI, Pervova EM, et al. Effect of vitamin D₃ (cholecalciferol) levels on the development of cognitive and psychoemotional disorders in patients with cerebrovascular disease. *Medical Academic Journal*. 2020;20(1):93-100. <https://doi.org/10.17816/MAJ19225>

Received: January 21, 2020

Revised: February 25, 2020

Accepted: March 3, 2020

Список сокращений

ИЛ-1β — интерлейкин-1β; ИЛ-6 — интерлейкин-6; КЖ — качество жизни; ЦВБ — цереброваскулярная болезнь; FAB — тест «Батарея лобной дисфункции» (от англ. Frontal assessment battery); HADS — госпитальная шкала тревоги и депрессии (от англ. Hospital Anxiety and Depression scale); hs-CRP — высокочувствительный С-реактивный белок (от англ. high sensitivity C-reactive protein); MMSE — краткая шкала оценки психического статуса (от англ. Mini-Mental State Examination); MoCA — Монреальская шкала оценки когнитивных функций (от англ. Montreal Cognitive Assessment); SF-36 — Общий опросник здоровья (от англ. The Short Form-36).

In recent years, the problem of vascular cognitive impairment is becoming increasingly important due to the increasing prevalence of cerebrovascular disease. The aim of this study was to determine the relationship between 25(OH)D, highly sensitive CRP, interleukin-1 β , interleukin-6 and cognitive function in patients with cerebrovascular disease and to assess their impact on quality of life.

Materials and methods. 58 patients with cerebrovascular disease aged 31–81 years were examined. The comparison group consisted of 24 patients, comparable in age and sex, without the studied pathology. In the study, patients were determined by the level of 25(OH)D, interleukin-1 β , interleukin-6, highly sensitive CRP in peripheral blood. All patients underwent neuropsychological, psychometric examination and study of their quality of life.

Results. In the study, the level of 25(OH)D in patients with cerebrovascular disease was lower compared to the group without this pathology. Concentrations of interleukin-1 β , interleukin-6, and highly sensitive CRP in patients in the main group were statistically significantly higher than in those in the comparison group. Higher concentrations of highly sensitive CRP, interleukin-1 β , and interleukin-6 were found in patients with low vitamin D availability. The study obtained direct correlations between the level of 25(OH)D in peripheral blood and the results of neuropsychological testing (MMSE, MoCA, FAB, Schulte tables (performance), the “Drawing hours” test) and the inverse with the degree of workability (Schulte tables). An inverse correlation of average strength was observed between the results of psychometric testing and the level of 25(OH)D in peripheral blood. The study confirmed the relationship between the level of 25(OH)D in peripheral blood and quality of life indicators, in the form of a direct correlation.

Conclusion. The study found that the higher the concentration of 25 (OH)D and the lower the level of interleukin-1 β , interleukin-6, and highly sensitive CRP in the peripheral blood, the less likely it is to develop cognitive and psychoemotional disorders. The study confirmed the relationship between the level of 25(OH)D and quality of life indicators.

Keywords: cerebrovascular disease; vitamin D; interleukin; highly sensitive CRP.

В последние годы проблема сосудистых когнитивных нарушений приобретает все большую значимость в связи с увеличением распространенности цереброваскулярной патологии [1].

По данным Всемирной организации здравоохранения, по состоянию на март 2015 г. количество пациентов с деменцией составило 47,5 млн человек. Ежегодно диагностируют 7,7 млн новых случаев развития деменции, а к 2030 г. прогнозируют прирост числа таких пациентов почти вдвое, их количество достигнет 75,6 млн, а к 2050 г. — 136,5 млн. В 2015 г. зарегистрировано 9,9 млн новых случаев деменции [2].

Нарушение когнитивных функций возникает в результате нескольких патогенетических факторов, одним из которых, по мнению ряда авторов, является недостаточность витамина D [3, 4].

Известно, что витамин D вовлечен во множество процессов в организме человека, в том числе в регуляцию иммунных и воспалительных реакций [5].

В течение многих лет считали, что медиаторы иммунной системы при нормальных физиологических условиях практически не влияют на активность клеток мозга, однако в последние годы появились экспериментальные доказательства, что провоспалительные цитокины (интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β) и интерлейкин-6 (ИЛ-6)) участвуют в процессах обучения и памяти [6].

Результаты исследований показали, что даже незначительное увеличение содержания высокочувствительного С-реактивного белка (англ. high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP) повышает риск развития когнитивных нарушений [7].

Следует отметить, что изучение влияния витамина D на маркеры воспалительной реакции может открыть новые возможности в профилактике сосудистых когнитивных нарушений.

Цель настоящего исследования — определить зависимость между уровнем 25(OH)D, hs-CRP, ИЛ-1 β , ИЛ-6 и когнитивных функций у пациентов с цереброваскулярной болезнью (ЦВБ) и оценить их влияние на качество жизни (КЖ).

Материалы и методы

Обследовано 58 больных с ЦВБ на базе неврологического отделения № 1 ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова (Санкт-Петербург). Средний возраст больных составил $60,3 \pm 9,9$ года, женщин было 43 (74 %), мужчин — 15 (26 %). В группу сравнения вошли 24 пациента, сопоставимых по возрасту и полу, без изучаемой патологии.

Критериями исключения пациентов из исследования были отказ пациента от любой процедуры исследования на любом этапе; возраст менее 31 и более 81 года; выявление других возможных причин когнитивных нарушений, кроме ЦВБ и болезни Альцгеймера, таких как нейродегенеративные заболевания (деменция с тельцами Леви, фронтотемпоральная дегенерация, кортикобазальная дегенерация, болезнь Паркинсона, прогрессирующий надъядерный паралич, хорей Гентингтона и др.), дисметаболические энцефалопатии (почечная энцефалопатия, печеночная энцефалопатия, дистиреоидная (гипотиреоз, тиреотоксикоз) и др.), сахарный диабет 1-го и 2-го типов, эпилепсия,

демиелинизирующие заболевания, нейроинфекции, опухоли головного мозга (первичные и метастатические), наследственные заболевания (болезнь Вильсона – Коновалова и др.), нормотензивная гидроцефалия, черепно-мозговая травма (пациенты с сотрясением головного мозга в анамнезе, перенесенным более двух лет назад, могут быть включены в исследование), психические (эмоциональные, невротические, поведенческие) нарушения, способные имитировать когнитивные нарушения, инфаркт миокарда в анамнезе, заболевания системы крови (в том числе гемобластозы), системные васкулиты, анемия, иммунологические нарушения (антифосфолипидный синдром и др.); применение лекарственных препаратов, потенциально негативно влияющих на интеллектуально-мнестические функции (нейролептики, трициклические антидепрессанты, бензодиазепины, центральные холинолитики, барбитураты, противоэпилептические препараты); промышленные и бытовые интоксикации (солями металлов — алюминий, цинк, марганец); злоупотребление алкоголем; наличие на момент обследования острых и/или обострение хронических воспалительных заболеваний.

Критерии включения пациентов в исследование: наличие жалоб на нарушение памяти, внимания или других когнитивных функций; объективное подтверждение интеллектуально-мнестических расстройств по данным клинико-нейропсихологического исследования; соответствие пациентов критериям умеренных когнитивных расстройств или деменции; признаки цереброваскулярного повреждения головного мозга по данным клинических, лабораторных и нейровизуализационных методов диагностики.

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом, все участники дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Диагноз дисциркуляторной энцефалопатии ставили на основании результатов комплексного клинико-инструментального обследования и в соответствии с общепринятыми критериями [8].

По ишемической шкале Хачинского подтверждали сосудистый характер поражения [9].

Нейропсихологическое обследование включало тестирование с использованием краткой шкалы оценки психического статуса (MMSE — от англ. Mini-Mental State Examination), теста «Батарея лобной дисфункции» (FAB — от англ. Frontal Assessment Batter), Монреальской шкалы оценки когнитивных функций (MoCA — от англ. Montreal Cognitive Assessment), теста «Рисование часов», таблиц Шульце [9, 10].

Всем пациентам проводили психометрическое тестирование для выявления и оценки выраженности депрессивных нарушений и определения уровня ситуационной (реактивной) тревоги (госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS — от англ. Hospital Anxiety and Depression scale), шкалы тревоги и депрессии Гамильтона) [9, 10].

Качество жизни больных оценивали с помощью общего опросника здоровья SF-36 (от англ. The Short Form-36).

Всем участникам исследования определяли уровень 25(OH)D, ИЛ-1 β , ИЛ-6, hs-CRP в периферической крови.

Количественное определение 25(OH)D в сыворотке крови выполняли методом хемилюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах с помощью автоматического анализатора Liaison, DiaSorin (Италия). Согласно критериям Международного общества эндокринологов обеспеченность витамином D (рекомендуемый уровень) диагностируют при значении 25(OH)D 30–80 нг/мл, недостаточность — при 20–30 нг/мл, дефицит — при 10–19 нг/мл, тяжелый дефицит — при значении менее 10 нг/мл [11].

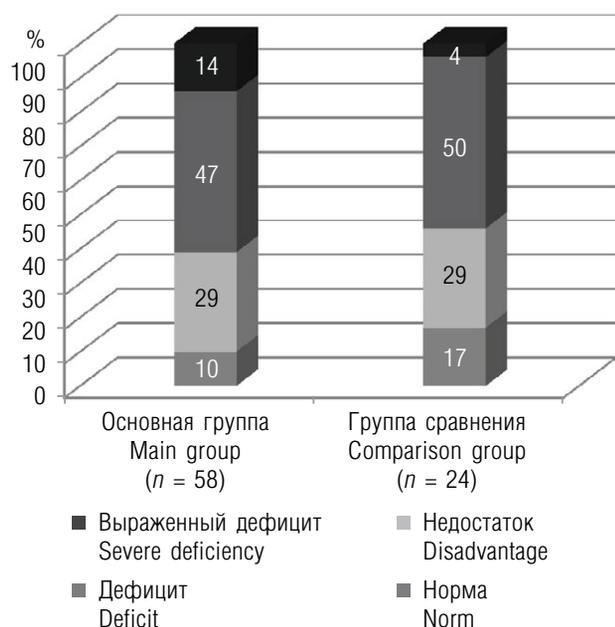
Уровень hs-CRP в сыворотке крови определяли методом иммунотурбидиметрии на биохимическом анализаторе AU5800 фирмы Beckman Coulter (США). При концентрациях hs-CRP 0,5–1 мг/л риск сосудистых осложнений был минимальным, при 1,1–1,9 мг/л — низким, при 2–2,9 мг/л — умеренным, выше 3 мг/л — высоким.

Содержание ИЛ-1 β оценивали путем хемилюминесцентного иммуноанализа на оборудовании IMMULITE One. Референтные значения — 0,0–5,0 пг/мл.

Содержание ИЛ-6 также оценивали путем хемилюминесцентного иммуноанализа на оборудовании IMMULITE 2000 XPI. Референтные значения — 0,0–7,0 пг/мл.

Полученные результаты обрабатывали с использованием программной системы Statistica 10.0 (StatSoft). Изучаемые количественные признаки представлены в виде $M \pm \sigma$ (M — среднее арифметическое значение, σ — стандартное отклонение) либо в виде медианы с указанием верхнего и нижнего квартилей ($Me [Q_{25}; Q_{75}]$), что зависело от вида распределения исследуемых переменных. Для проверки гипотезы о равенстве средних для двух групп применяли параметрические (t -критерий для независимых выборок) или непараметрические (Манна – Уитни, Краскела – Уоллиса) критерии. Выявление и оценку взаимосвязи двух выборочных совокупностей осуществляли путем расчета коэффициента ранговой корреляции

Спирмена (r): сильная — при $r = 0,7$ и более, средняя — при $r = 0,3–0,7$, слабая — при $r = 0,3$ и менее. Направленность связей оценивали по знаку коэффициентов корреляций. Уровень различий считали достоверным при $p < 0,05$. Достоверность гипотезы на нормальное распределение данных проверяли при помощи критерия Шапиро – Уилка. Для графического представления результатов исследования применяли объемную гистограмму с накоплением.



Концентрация 25(OH)D в сыворотке крови по группам
Concentration of 25(OH)D in blood serum by groups

Результаты и их обсуждение

При обследовании 58 пациентов с ЦВБ было выявлено снижение уровня 25(OH)D ($18,51 \pm 8,08$ нг/мл) по сравнению с аналогичным показателем в группе сравнения ($21,53 \pm 8,49$ нг/мл) ($p = 0,13$). Полученные нами данные согласуются с результатами исследований других авторов, которые показали, что риск развития сосудистых заболеваний достоверно выше при уровне витамина D менее 12–20 нг/мл [12].

Концентрации hs-CRP 2,1 мг/л [0,2; 7,0], ИЛ-1 β 3,3 \pm 1,3 пг/мл, ИЛ-6 4,0 \pm 2,0 пг/мл у пациентов с ЦВБ была статистически значимо выше, чем у пациентов в группе сравнения: hs-CRP — 0,9 мг/л [0,4; 1,9] ($p = 0,038$), ИЛ-1 β — 2,1 \pm 1,2 пг/мл ($p < 0,001$), ИЛ-6 — 2,5 \pm 1,2 пг/мл ($p < 0,001$), что совпадает с результатами ранее проведенных исследований [13].

Распределение уровня витамина D в группах отражено на рисунке.

В табл. 1 представлены параметры воспалительного ответа у пациентов с ЦВБ в зависимости от концентрации 25(OH)D в сыворотке крови.

Полученные нами результаты о более высокой концентрации hs-CRP, ИЛ-1 β и ИЛ-6 в основной группе с низкой обеспеченностью витамином D совпадают с литературными данными о влиянии уровня витамина D на интенсивность воспалительного ответа [5].

Взаимосвязь между уровнями 25(OH)D, hs-CRP, ИЛ-1 β , ИЛ-6 и результатами нейро-

Таблица 1 / Table 1

Параметры воспалительного ответа в сыворотке крови в зависимости от концентрации 25(OH)D
Parameters of inflammatory response depending on the concentration of 25(OH)D in serum

25(OH)D	hs-CRP	ИЛ-1 β	ИЛ-6
Основная группа (n = 58) (Me [Q ₂₅ ; Q ₇₅])			
Норма (n = 6)	4,3 [0,2; 2,6]	3,1 [2,2; 2,3]	3,8 [1,2; 0,0]
Недостаток (n = 17)	0,4 [0,2; 2,7]	3,0 [2,6; 2,3]	3,0 [1,9; 0,0]
Дефицит (n = 27)	7,5 [4,8; 3,6]	4,1 [3,7; 4,9]	5,9 [5,1; 0,0]
Выраженный дефицит (n = 8)	8,8 [8,0; 4,6]	5,0 [4,5; 6,2]	7,0 [6,6; 0,0]
<i>p</i>	<0,001	0,0024	<0,001
Группа сравнения (n = 24) (Me [Q ₂₅ ; Q ₇₅])			
Норма (n = 4)	2,4 [2,2; 3,4]	4,7 [3,5; 2,6]	3,3 [2,5; 0,0]
Недостаток (n = 7)	1,7 [0,6; 1,9]	2,8 [1,9; 2,4]	3,1 [2,6; 0,0]
Дефицит (n = 12)	1,7 [0,9; 1,8]	2,5 [1,9; 2,3]	3,3 [2,7; 0,0]
Выраженный дефицит (n = 1)	1,5	1,7	5,5
<i>p</i>	0,21	0,27	0,42

Таблица 2 / Table 2

Взаимосвязи между уровнями 25(OH)D, hs-CRP, ИЛ-1 β , ИЛ-6 и результатами нейропсихологического тестирования у пациентов с цереброваскулярной болезнью (r Спирмена, $p < 0,05$) ($n = 58$)

Relationship of 25(OH)D, hs-CRP, IL-1 β , IL-6 levels and neuropsychological testing results in patients with CVB (Spearman's r , $p < 0.05$) ($n = 58$)

Нейропсихологическое тестирование	25(OH)D	hs-CRP	ИЛ-1 β	ИЛ-6
MMSE	0,54	-0,68	-0,49	-0,62
MoCA	0,34	-0,49	-0,52	-0,4
FAB	0,36	-0,55	-0,55	-0,44
Тест «Рисование часов»	0,28	-0,35	—	-0,48
Таблица Шульте (эффективность работы)	0,39	-0,42	—	-0,55
Таблица Шульте (степень вработываемости)	-0,35	0,37	—	0,36
Таблица Шульте (психическая устойчивость)	—	—	—	—

Таблица 3 / Table 3

Взаимосвязь между уровнями 25(OH)D, маркеров воспалительной реакции и результатами психометрического тестирования у пациентов с цереброваскулярной болезнью (r Спирмена, $p < 0,05$) ($n = 58$)

Relationship of 25(OH)D levels, inflammatory response markers and psychometric test results in patients with CVB (Spearman's r , $p < 0.05$) ($n = 58$)

Шкала	25(OH)D	hs-CRP	ИЛ-1 β	ИЛ-6
Госпитальная шкала тревоги (HADS)	-0,36	0,44	0,36	0,36
Госпитальная шкала депрессии (HADS)	—	—	—	—
Шкала тревоги Гамильтона	-0,53	0,56	0,4	0,46
Шкала депрессии Гамильтона	-0,28	0,45	—	0,38

психологического тестирования у пациентов с ЦВБ оценивали путем расчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Перечень значимых корреляционных зависимостей представлен в табл. 2.

Были выявлены прямые корреляционные связи между уровнем 25(OH)D в периферической крови и результатами нейропсихологического тестирования: средней силы — по шкалам MMSE, MoCA, FAB, таблице Шульте (эффективность работы), слабой силы — по тесту «Рисование часов» и обратной средней силы связь со степенью вработываемости (по таблицам Шульте).

При анализе взаимосвязей между маркерами воспалительной реакции (hs-CRP и ИЛ-6) и результатами тестирования по нейропсихологическим шкалам (MMSE, MoCA, FAB, тест «Рисование часов», таблицы Шульте (эффективность работы)) была установлена обратная корреляционная связь средней силы, а между ИЛ-1 β и результатами тестирования такая связь наблюдалась только по шкалам MMSE, MoCA, FAB.

Прямая корреляционная связь средней силы отмечалась между уровнем hs-CRP, ИЛ-6, с одной стороны, и степенью вработываемости по таблицам Шульте — с другой.

Таким образом, чем выше уровень 25(OH)D и ниже концентрация ИЛ-1 β , ИЛ-6, hs-CRP в периферической крови, тем лучше результаты нейропсихологического тестирования.

Перед нейропсихологическим тестированием всем пациентам проводили психометрическое тестирование для выявления и оценки выраженности депрессивных нарушений и определения уровня тревоги. Значимые корреляционные зависимости представлены в табл. 3.

Как видно из табл. 3, обратная корреляционная связь наблюдается между результатами психометрического тестирования и уровнем 25(OH)D, а прямая — между результатами психометрического тестирования и концентрацией маркеров воспалительной реакции. Все значимые корреляционные взаимосвязи были средней силы.

Полученные нами данные согласуются с результатами исследований других авторов, которые выявили, что чем выше концентрация 25(OH)D и ниже концентрация маркеров воспалительной реакции в периферической крови, тем меньше вероятность развития тревоги, депрессии, когнитивных нарушений и наступления деменции [14–16].

Нами была проанализирована корреляционная связь между уровнем 25(OH)D в сыворотке

Таблица 4 / Table 4

Взаимосвязь уровня 25(ОН)D в сыворотке крови и показателей качества жизни по опроснику SF-36 у пациентов с цереброваскулярной болезнью (*r* Спирмена) (*n* = 58)

Correlation of serum 25(ОН)D level and quality of life indicators on the SF-36 questionnaire scale in patients with cerebrovascular disease (Spearman's *r*) (*n* = 58)

Шкалы опросника SF-36	25(ОН)D	<i>p</i>
Физическое функционирование	0,36	<0,05
Роль (физическое) функционирование	0,23	0,08
Боль	0,37	<0,05
Общее здоровье	0,19	0,16
Жизнеспособность	0,47	<0,05
Социальное функционирование	0,25	0,06
Эмоциональное функционирование	0,11	0,43
Психологическое здоровье	0,21	0,12

крови и показателями КЖ по опроснику SF-36 у пациентов с ЦВБ (табл. 4).

В исследовании подтверждена взаимосвязь уровня 25(ОН)D и показателей КЖ в виде прямой корреляционной связи, наиболее выраженной между показателями физического функционирования, боли, жизнеспособности и уровнем 25(ОН)D в периферической крови.

В соответствии с результатам нашего исследования, которые согласуются с данными других авторов, низкий уровень 25(ОН)D в сыворотке крови влияет на развитие когнитивных нарушений и наступление деменции [3, 14]. По мнению ряда авторов, наличие деменции существенно снижает КЖ пациента, в результате смертность среди пациентов с деменцией значительно превышает среднестатистическую смертность среди пожилых людей [10].

Закключение

1. В периферической крови у пациентов с ЦВБ уровень 25(ОН)D был достоверно ниже — $18,51 \pm 8,08$ нг/мл, а уровень маркеров воспалительной реакции (hs-CRP — $2,1$ мг/л [0,2; 7,0], ИЛ-1 β — $3,3 \pm 1,3$ пг/мл, ИЛ-6 — $4,0 \pm 2,0$) достоверно выше, чем в группе сравнения (25(ОН)D — $21,53 \pm 8,49$ нг/мл, hs-CRP — $0,9$ мг/л [0,4; 1,9], ИЛ-1 β — $2,1 \pm 1,2$ пг/мл, ИЛ-6 — $2,5 \pm 1,2$ пг/мл).
2. В ходе исследования были выявлены прямые корреляционные связи между уровнем 25(ОН)D в периферической крови и результатами нейропсихологического тестирования по шкалам MMSE ($r = 0,54$), MoCA ($r = 0,34$), FAB ($r = 0,36$), таблицам Шульте (эффективность работы) ($r = 0,39$), тесту «Рисование часов» ($r = 0,28$) и обратная

связь со степенью вработываемости по таблицам Шульте ($r = -0,35$).

3. Между результатами психометрического тестирования и уровнем 25(ОН)D в периферической крови наблюдалась обратная корреляционная связь средней силы по госпитальной шкале тревоги ($r = -0,36$), шкале тревоги Гамильтона ($r = -0,53$), шкале депрессии Гамильтона ($r = -0,28$).
4. В результате исследования была установлена прямая корреляционная связь между уровнем 25(ОН)D в периферической крови и показателями качества жизни.

Дополнительная информация

Соблюдение этических норм. Выполнение исследования одобрено протоколом этического комитета № 10 ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова от 07.11.2018.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Гусев Е.И., Боголепова А.Н. Когнитивные нарушения при цереброваскулярных заболеваниях. — М.: МЕДпресс-информ, 2013. [Gusev EI, Bogolepova AN. Kognitivnyye narusheniya pri tserebrovaskulyarnykh zabolevaniyakh. Moscow: MEDpress-inform, 2013. (In Russ.)]
2. Яхно Н.Н., Боголепова А.Н., Захаров В.В. Нарушение когнитивных функций // Неврология: национальное руководство / под ред. Е.И. Гусева, А.Н. Коновалова, В.И. Скворцовой. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. — С. 244–257. [Yakhno NN, Bogolepova AN, Zakharov VV. Narusheniye kognitivnykh funktsiy. In: Nevrologiya: natsional'noe rukovodstvo. Ed. by E.I. Gusev, A.N. Konovalov, V.I. Skvortsova. Moscow: GEOTAR-Media; 2018. P. 244-257 (In Russ.)]

3. Annweiler C, Dursun E, Feron F, et al. Vitamin D and cognition in older adults: updated international recommendations. *J Intern Med.* 2015;277(1):45-57. <https://doi.org/10.1111/joim.12279>.
4. Bartali B, Devore E, Grodstein F, Kang JH. Plasma vitamin D levels and cognitive function in aging women: the nurses' health study. *J Nutr Health Aging.* 2014;18(4):400-406. <https://doi.org/10.1007/s12603-013-0409-9>.
5. Снопов С.А. Механизмы действия витамина D на иммунную систему // Медицинская иммунология. — 2014. — Т. 16. — № 6. — С. 499–530. [Snopov SA. Mechanisms of vitamin D action on the immune system. *Medical Immunology (Russia).* 2014;16(6):499-530. (In Russ.).] <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2014-6-499-530>.
6. McAfoose J, Vaune BT. Evidence for a cytokine model of cognitive function. *Neurosci Biobehav Rev.* 2009;33(3):355-366. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.10.005>.
7. Захарова Н.И., Тихомирова О.В., Дрыгина Л.Б., и др. Значение повышения уровня высокочувствительного С-реактивного белка и гомоцистеина в развитии сосудистых когнитивных нарушений у мужчин // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. — 2010. — Т. 4. — № 1. — С. 63–66. [Zakharova NI, Tikhomirova OV, Drygina LB, et al. Consequences of elevated high sensitive C-reactive protein and homocysteine to vascular cognitive impairment in middle-aged men. *Medico-biological and socio-psychological problems of safety in emergency situations.* 2010;4(1):63-66. (In Russ.)]
8. Скворцова В.И., Стаховская Л.В., Гудкова В.В., Алевин А.В. Хроническая недостаточность мозгового кровообращения // Неврология: национальное руководство / под ред. Е.И. Гусева, А.Н. Коновалова, В.И. Скворцовой. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. — С. 338–349. [Skvortsova VI, Stakhovskaya LV, Gudkova VV, Alekhin AV. Khronicheskaya nedostatochnost' mozgovogo krovoobrashcheniya. In: *Nevrologiya: natsional'noe rukovodstvo.* Ed. by E.I. Gusev, A.N. Konovalov, V.I. Skvortsova. Moscow: GEOTAR-Media; 2018. P. 338-349. (In Russ.)]
9. Кадьков А.С., Манвелова Л.С. Тесты и шкалы в неврологии. — М.: МЕДпресс-информ, 2016. [Kadykov AS, Manvelova LS. Testy i shkaly v neurologii. Moscow: MEDpress-inform; 2016. (In Russ.)].
10. Захаров В.В., Вознесенская Т.Г. Нервно-психические нарушения: диагностические тесты. — М.: МЕДпресс-информ, 2018. [Zakharov VV, Voznesenskaya TG. Nervno-psikhicheskie narusheniya: diagnosticheskie testy. Moscow: MEDpress-inform; 2018. (In Russ.)]
11. Пигарова Е.А., Рожинская Л.Я., Белая Ж.Е., и др. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых // Проблемы эндокринологии. — 2016. — № 4. — С. 60–84. [Pigarova EA, Rozhinskaya LY, Belaya Zhe, et al. Russian Association of Endocrinologists recommendations for diagnosis, treatment and prevention of vitamin D deficiency in adults. *Problems of endocrinology.* 2016;(4):60-84. (In Russ.).] <https://doi.org/10.21320/2500-2139-2017-10-3-294-316>.
12. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation.* 2008;117(4):503-511. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.706127>.
13. Шульгинова А.А., Конопля А.И., Быстрова Н.А., и др. Коррекция иммунных нарушений при хронической ишемии головного мозга // Медицинская иммунология. — 2018. — Т. 20. — № 3. — С. 401–410. [Shul'ginova AA, Konoplya AI, Bystrova NA, et al. Correction of immune disturbances in chronic cerebral ischemia. *Meditsinskaya immunologiya.* 2018;20(3):401-410. (In Russ.).] <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-3-401-410>.
14. Bruyere O, Slomian J, Beaudart C, et al. Prevalence of vitamin D inadequacy in European women aged over 80 years. *Arch Gerontol Geriatr.* 2014;59(1):78-82. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2014.03.010>.
15. Каронова Т.Л., Андреева А.Т., Беляева О.Д., и др. Тревожно-депрессивные расстройства у лиц с разным уровнем обеспеченности витамином D // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 2015. — Т. 10. — № 2. — С. 55–58. [Karonova TL, Andreeva AT, Belyaeva OD, et al. Anxiety/depressive disorders and vitamin D status. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2015;10(2):55-58. (In Russ.).] <https://doi.org/10.17116/jnevro201511510255-58>.
16. Барбараш О.Л., Лебедева Н.Б., Каретникова В.Н., и др. Провоспалительные факторы и депрессия при инфаркте миокарда // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2011. — Т. 10. — № 2. — С. 53–59. [Barbarash OL, Lebedeva NB, Karetnikova VN, et al. Pro-inflammatory cytokines and depression in myocardial infarction. *Cardiovascular therapy and prevention.* 2011;10(2):53-59. (In Russ.).] <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2011-2-53-59>.

Сведения об авторах / Information about the authors

Сергей Владимирович Лобзин — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии им. акад. С.Н. Давиденкова, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-3272-7293>. SPIN-код: 7274-6327. E-mail: sergei.lobzin@szgmu.ru.

Sergey V. Lobzin — PhD, Professor, Head of the Department of Neurology named after Academician S.N. Davidenkov, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-3272-7293>. SPIN-code: 7274-6327. E-mail: sergei.lobzin@szgmu.ru.

Григорий Исаакович Шварцман — д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры неврологии им. акад. С.Н. Давиденкова, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-7657-8181>. SPIN-код: 9510-2049. E-mail: shvartsman@inbox.ru.

Евгения Михайловна Первова — аспирант кафедры неврологии им. акад. С.Н. Давиденкова, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург. SPIN-код: 5163-8761. E-mail: p01081981@yandex.ru.

Инга Викторовна Чистова — канд. мед. наук, ассистент кафедры неврологии им. акад. С.Н. Давиденкова, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: ingachistova@yandex.ru.

Екатерина Александровна Юркина — канд. мед. наук, ассистент кафедры неврологии им. акад. С.Н. Давиденкова, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург. SPIN-код: 9725-7246. E-mail: eayurkina@mail.ru.

Grigoriy I. Shvartsman — PhD, Professor, Professor of the Department of Neurology named after Academician S.N. Davidenkov, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-7657-8181>. SPIN-code: 9510-2049. E-mail: shvartsman@inbox.ru.

Evgenia M. Pervova — postgraduate student of the of the Department of Neurology named after Academician S.N. Davidenkov, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. SPIN-code: 5163-8761. E-mail: p01081981@yandex.ru.

Inga V. Chistova — Candidate of Medical Sciences, Assistant of the of the Department of Neurology named after Academician S.N. Davidenkov, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. E-mail: ingachistova@yandex.ru.

Ekaterina A. Yurkina — Candidate of Medical Sciences, Assistant of the of the Department of Neurology named after Academician S.N. Davidenkov, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. SPIN-code: 9725-7246. E-mail: eayurkina@mail.ru.

✉ **Контактное лицо / Corresponding author**

Евгения Михайловна Первова / Evgenia M. Pervova
E-mail: p01081981@yandex.ru

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ КАРДИОЛОГИИ И ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИИ

К.А. Шемеровский

Частное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», Санкт-Петербург

FUNDAMENTAL AND APPLIED ASPECTS OF CARDIOLOGY AND GASTROENTEROLOGY

K.A. Shemerovskii

Saint Petersburg Medico-Social Institute, Saint Petersburg, Russia

В Москве 28, 29 февраля и 1 марта 2020 г. состоялась 116-я Международная весенняя сессия Национальной школы гастроэнтерологии, гепатологии, организованная Российской гастроэнтерологической ассоциацией (РГА). Научным руководителем школы является академик РАН, профессор Владимир Трофимович Ивашкин, а исполнительным директором — член Американской гастроэнтерологической ассоциации (AGA) доктор медицинских наук профессор Елена Константиновна Баранская.

28 февраля заседания были посвящены теме «Сердце и желудочно-кишечный тракт».

29 февраля рассматривали болезнь Крона (тема «Болезнь Крона и язвенный колит: как улучшить прогноз»).

Заседание 1 марта было приурочено к 150-летию периодической системы химических элементов Д.И. Менделеева и проходило под названием «Элементы периодической системы Менделеева в организме человека».

Первый симпозиум «Микробиота кишечника здорового человека и при различных заболеваниях» открыл доктор микробиологии, руководитель научного исследовательского центра микробиоты «Селл Биотек Ко, Лтд.» профессор Лим Сангхюн (Сеул, Республика Корея) докладом «Новое поколение пробиотиков и их эффективность при различных заболеваниях».

Четыре учебных модуля были посвящены теме «Что скрывается за коморбидностью? Закономерности сочетания заболеваний». Первый учебный модуль — «Сердце и билиарный тракт», второй — «Сердце и пищевод», третий — «Сердце и злокачественные опухоли желудочно-кишечного тракта», четвертый — «Сердце, щитовидная железа и печень». Каждый учебный модуль сопровождался клиническим разбором реальных случаев из практической амбулаторной и стационарной медицинской практики, после которых академик

В.Т. Ивашкин делал заключение в виде практических выводов и рекомендаций.

На симпозиуме «Новости жирового гепатоза. Итоги 2019 года» был представлен академический мастер-класс в виде трех лекций. Первую лекцию «Стресс эндоплазматического ретикулума и патогенез неалкогольной жировой болезни печени» представил академик РАН В.Т. Ивашкин. Лекцию «Алкоголь и метаболический синдром: кофакторы прогрессирования стеатоза» прочитала Л.К. Пальгова. С лекцией «Терапия жирового гепатоза. Что нового?» выступила Е.Н. Широкова.

Симпозиум «Эффективные направления лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта» был приурочен к 100-летию Нижфарма по инициативе компании «Штада».

В конце первого дня школы было организовано пять лекций-элективов, получивших название «Встреча с профессором» и предназначенных для главных специалистов-гастроэнтерологов регионов России.

В субботу, 29 февраля 2020 г., обучение «школьников и школьниц» проходило по четырем учебным модулям.

Первый учебный модуль был посвящен одной из самых актуальных проблем гастроэнтерологии — болезни Крона («Болезнь Крона тяжелого течения. Внекишечные проявления. Три клинических разбора»). Были рассмотрены пенетрирующая (свищевая) форма болезни Крона, стенозирующая форма в сочетании с хронической герпетической инфекцией, а также ведение пациента с болезнью Крона до и после оперативного вмешательства.

Новой формой обучения стал хит школы «Гастро-баттл» на тему «Раннее оперативное лечение рефрактерного язвенного колита». В первом раунде этого баттла московский профессор О.С. Шифрин представил доклад о Российских клинических рекомендациях по лечению язвен-

ного колита, в соответствии с которыми к оперативному лечению прибегают при наличии жизненных показаний. Во втором раунде профессор из Санкт-Петербурга О.Б. Шукина рассказала о европейских и американских клинических рекомендациях по лечению язвенного колита, согласно которым оперативное лечение показано больным, не достигшим ремиссии за год консервативного лечения.

Во втором учебном модуле рассматривали тему «Известная и новая этиология язв желудка». Было доказано, что у пациентов с язвой желудка, ассоциированной с инфекцией *Helicobacter pylori*, возможно снижение частоты рецидивирования болезни и риска осложнений. Кроме того, были представлены клинический случай НПВП-ассоциированной язвы желудка и анкилозирующего спондилоартрита, инновационные эндоскопические возможности ранней диагностики и лечения язвы-рака желудка, а также два клинических случая первично-язвенной формы болезни Крона желудка.

Огромный интерес слушателей вызвал симпозиум «Зачем лечить стеатоз? Чем лечить стеатоз?». Симпозиум проходил под девизом «Здоровый образ жизни и долголетие». Профессор Е.Н. Широкова убедительно доказала, что пищевое поведение является фундаментальным фактором успешной терапии больных жировым гепатозом. Профессор М.В. Маянская разъяснила, что без достаточной физической активности трудно ожидать успеха при лечении больных стеатозом печени. Оптимальным уровнем физических упражнений является регулярная ежедневная ходьба на уровне не менее 7500 шагов в сутки. Профессор Л.К. Пальгова поделилась сведениями о рациональной фармакотерапии жирового гепатоза, причем доказательства эффективности такой терапии были основаны на экспериментальных данных и подтверждены клинической практикой.

Тема третьего учебного модуля — «Новое направление в гастроэнтерологии». Оно подразумевает усиление механизмов защиты и репарации слизистых оболочек пищеварительной системы. Механизмы повреждения и репарации желудочно-кишечного тракта были изложены в докладе академика В.Т. Ивашкина, а синдром повышенной проницаемости слизистой желудка и кишечника разъяснен профессором Е.А. Полуэктовой.

Направлением четвертого учебного модуля были рекомендации по лечению пациентов с частым сочетанием гастроинтестинальных симптомов. Председателем этого модуля был академик РАН В.Т. Ивашкин, а модераторами выступили профессор А.С. Трухманов, канди-

дат биологических наук А.И. Шестаков и доктор медицинских наук К.А. Шемеровский.

С лекцией «Микробиом и пробиотические продукты, позиция микробиолога» выступил Андрей Иннокентьевич Шестаков. Он разъяснил, что «микробиота — это совокупность микроорганизмов, населяющих определенную среду», а «микробиом — это совокупность генетического материала микробиоты». Докладчик рассказал, что микробиологические методы позволяют определять 300–400 видов микроорганизмов, а метод секвенирования — более 10 000 видов микроорганизмов. Если геном человека содержит примерно 22 тысячи генов, то геном микробиоты кишечника человека — более 8 млн генов.

Было названо девять основных функций микробиоты кишечника: первая — питание и пролиферация кишечного эпителия, вторая — энергетическая, третья — защитная, проявляющаяся стимуляцией иммунной системы и ингибированием роста и адгезии патогенов к эпителию, четвертая — поддержание водно-электролитного баланса в просвете кишечника, пятая — антиканцерогенная, шестая — детоксикация и выведение токсических соединений, разрушение мутагенов, седьмая — участие в метаболизме белков, регуляции желчных кислот, стероидов, восьмая — синтез и поставка организму витаминов группы В и других элементов, девятая — образование сигнальных молекул, в том числе нейротрансмиттеров.

Впервые слушатели узнали, что кроме пробиотиков в организме человека функционируют постбиотики и нейробиотики. Пробиотики — живые микроорганизмы, которые при применении в адекватных количествах способствуют улучшению здоровья организма-хозяина. Постбиотики — нежизнеспособные клетки бактерий, их лизаты и метаболиты положительно влияют на здоровье организма-хозяина. Психобиотики — пробиотические бактерии, которые благотворно воздействуют на психическое здоровье человека.

Были перечислены продукты микробной ферментации. К ним относят такие кисломолочные продукты, как сыр, творог, сметана, йогурт, кефир, мацони, айран, ряженка, простокваша, кумыс и другие, а также квашения, соления, вяления.

Профессор В.И. Симаненков представил подробные материалы о пациентах с синдромом раздраженного кишечника и с синдромом избыточного бактериального роста в тонкой кишке. Были представлены убедительные доказательства, что пробиотики, введенные *per os*, не адгезируют на слизистой кишечника, а проходят желудочно-кишечный тракт,

как правило, транзитом. Было обосновано, что самым эффективным подходом к восстановлению микробиотного пейзажа в кишечнике, по-видимому, является введение не чужеродных пробиотиков, а аутопробиотиков.

Лекцию на тему «Пациент с хроническим запором и пищевой непереносимостью» представил К.А. Шемеровский. Он показал, что один из основных факторов риска пищевой непереносимости — элементарное переедание. У пациентов, принимавших одновременно до 15 г фруктозы, симптомы пищевой непереносимости не развивались, у пациентов, употреблявших одновременно около 50 г фруктозы, почти у каждого второго возникал синдром пищевой непереносимости. Был разобран клинический случай пациентки, около 30 лет страдавшей хроническим запором, что привело к возникновению артериальной гипертензии (АД 180/110 мм рт. ст.), осложнившейся инфарктом миокарда. Установлено, что неадекватное и несвоевременное лечение такого функционального заболевания, как хронический запор (констипация), может приводить к коморбидности (8 заболеваний одновременно) и полифармации (до 12 лекарств одновременно). Докладчик подчеркнул значение выдвинутого Питером Мак-Нелли понятия «индукторы запора», к которым относится множество лекарств (нестероидные анальгетики, блокаторы кальциевых каналов, антациды, антихолинергические и другие средства).

Были приведены доказательства, что хронический запор служит одним из главных факторов риска колоректального рака, который является лидером онкологической заболеваемости в Санкт-Петербурге (более 3500 новых случаев в год).

По данным академика А.Н. Климова, в норме из кишечника ежедневно элиминируется около 1000 мг обработанного холестерина: около 500 мг в сутки с желчными кислотами и около 500 мг в сутки со стеринами фекалий. Однако и в настоящее время ежедневная элиминация токсических соединений из организма характерна лишь для 56 % медицинских работников, а 44 % медиков скрытно страдают хроническими запорами и принимают слабительные средства.

Актуальность проблемы регулярности циркадианного ритма кишечника подтверждают данные японских исследователей (Honkura K., 2016): минимальный уровень кардиоваскулярной смертности наблюдался только у лиц с ежедневной дефекацией. У пациентов с частотой стула один раз в два дня риск кардиоваскулярной смертности был повышен на 21 %, а при частоте дефекации один раз в четыре дня риск инсультов и инфарктов миокарда был повышен на 39 %.

С позиций хронофизиологии и хрономедицины была продемонстрирована закономерная зависимость нарушения регулярности циркадианного ритма кишечника от отсутствия утренней акрофазы этого ритма. Разъяснено, что профилактика запора состоит в восстановлении привычки (bowel habit) именно к утреннему опорожнению кишечника.

Профессор А.С. Трухманов представил клинический случай, когда пациент с билиарным болью одновременно страдал и дуоденогастральным рефлюксом, способным приводить к забросу желудочного содержимого в пищевод и провоцировать возникновение гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.

В конце обучения, 29 февраля, были представлены «Обновленные клинические рекомендации РГА по диагностике и лечению частых заболеваний органов пищеварения». Эти рекомендации были посвящены четырем основным видам патологии, наиболее часто встречающимся в гастроэнтерологии: хроническому панкреатиту, желчнокаменной болезни, синдрому раздраженного кишечника, дивертикулярной болезни толстой кишки.

Каждый слушатель 116-й Международной весенней сессии Национальной школы гастроэнтерологии, гепатологии РГА получил в дар великолепно изданный сборник презентаций в виде 288-страничного «Гастроэнтерологического компендиума».

Слушатели весенней сессии 116-й школы РГА смогли получить 12 зачетных единиц (кредитов) координационного совета по развитию непрерывного медицинского образования МЗ РФ, подтвержденных индивидуальным регистрационным кодом.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

**НАСТОЯЩИЕ ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ
ЯВЛЯЮТСЯ ИЗДАТЕЛЬСКИМ ДОГОВОРОМ**

Условия настоящего Договора (далее — «Договор») являются публичной офертой в соответствии с п. 2 ст. 437 Гражданского кодекса Российской Федерации. Данный Договор определяет взаимоотношения между редакцией журнала «Медицинский академический журнал» (далее по тексту — Журнал), зарегистрированного Федеральной службой по надзору в сфере связи и массовых коммуникаций (свидетельство о регистрации ПИ № 77-74760 от 29 декабря 2018 г., именуемой в дальнейшем «Редакция» и являющейся структурным подразделением ООО «Эко-Вектор», и автором и/или авторским коллективом (или иным правообладателем), именуемым в дальнейшем «Автор», принявшим публичное предложение (оферту) о заключении Договора.

Автор передает Редакции для издания авторский оригинал, или рукопись. Указанный авторский оригинал должен соответствовать требованиям, указанным в разделах «Представление рукописи в журнал», «Сопроводительные документы», «Формат и структура статей».

При рассмотрении полученных авторских материалов Журнал руководствуется «Рекомендациями к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» (<http://www.icmje.org/recommendations/>).

В Журнале печатаются ранее не опубликованные работы по профилю Журнала. Журнал не рассматривает работы, результаты которых по большей части уже были опубликованы или описаны в статьях, представленных или принятых для публикации в другие печатные или электронные средства массовой информации. Представляя статью, Автор всегда должен ставить Редакцию в известность обо всех направлениях этой статьи в печать и о предыдущих публикациях, которые могут рассматриваться как множественные или дублирующие публикации той же самой или очень близкой работы. Автор должен уведомить Редакцию о том, содержит ли статья уже опубликованные материалы. В таком случае в новой статье должны быть ссылки на предыдущую. Копии таких материалов должны прилагаться к представляемой статье, чтобы дать Редакции возможность принять решение, как поступить в данной ситуации.

Все рукописи в обязательном порядке проходят проверку на плагиат.

Не принимаются к печати статьи, представляющие собой отдельные этапы незавершенных исследований, а также статьи с нарушением Правил и норм гуманного обращения с биообъектами исследований (<https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>).

Размещение публикаций возможно только после получения положительной рецензии.

Все статьи, в том числе статьи аспирантов и докторантов, публикуются бесплатно.

Вопрос об оплате печати цветных иллюстраций решается в рабочем порядке. Онлайн-версия журнала предполагает цветные иллюстрации по умолчанию.

ПРЕДСТАВЛЕНИЕ РУКОПИСИ В ЖУРНАЛ

Авторский оригинал принимает Редакция. Рукопись должна быть отправлена в Редакцию через онлайн-форму <https://journals.eco-vector.com/index.php/MAJ>.

СОПРОВОДИТЕЛЬНЫЕ ДОКУМЕНТЫ

К авторскому оригиналу необходимо приложить: *экспертное заключение о возможности опубликования в открытой печати* (от учреждения, в котором выполнена работа, подписанное всеми авторами) и сопроводительные документы (их можно загрузить как «сопровождающие» файлы через онлайн-форму). Бланки сопроводительных документов можно получить по запросу на адрес nl@eco-vector.com.

Сопроводительное письмо должно содержать:

- 1) название статьи, которое должно быть кратким, но информативным;
- 2) название предполагаемой рубрики;
- 3) сведения об авторах: фамилия, имя и отчество каждого автора с указанием высшей из имеющихся у него ученых степеней (званий), адреса электронной почты всех авторов для публикации в журнале;
- 4) название отдела (отделения) и учреждения, в котором выполнена данная работа, с указанием почтового адреса;
- 5) информацию о предшествовавших или повторных публикациях или о представлении в другой журнал любой части этой работы;

6) заявление о финансовых или других взаимоотношениях, которые могут привести к конфликту интересов (см. ниже о декларации наличия/отсутствия конфликта интересов);

7) заявление о том, что статья прочитана и одобрена всеми авторами, что все требования к авторству соблюдены (см. «Единые требования...») и что все авторы уверены, что рукопись отражает действительно проделанную работу;

8) имя, адрес, номер телефона и e-mail автора, ответственного за корреспонденцию и за связь с другими авторами по вопросам, касающимся переработки, исправления и окончательного одобрения статьи для публикации;

9) в письме должна быть представлена любая другая информация, которая может быть полезна Редакции, например, к какому типу публикуемых в данном журнале статей относится представляемая рукопись (см. рубрику Журнала), согласен ли автор(ы) оплатить стоимость воспроизведения цветных иллюстраций;

10) к рукописи необходимо приложить все разрешения на воспроизведение уже опубликованного материала, использование иллюстраций или информацию, по которой можно установить личность людей, представленных на фотографиях, а также на указание фамилий лиц, внесших вклад в данную работу.

Рукопись считается поступившей в Редакцию, если она представлена комплектно и оформлена в соответствии с описанными требованиями. Предварительное рассмотрение рукописи, не заказанной Редакцией, не является фактом заключения между сторонами издательского Договора.

АВТОРСКОЕ ПРАВО

Редакция отбирает, готовит к публикации и публикует переданные Авторами материалы. Авторское право на конкретную статью принадлежит Авторам статьи. Авторский гонорар за публикации статей в Журнале не выплачивается. Автор передает, а Редакция принимает авторские материалы на следующих условиях:

1) Редакции передается право на оформление, издание, передачу Журнала с опубликованным материалом Автора для целей реферирования статей из него в реферативном журнале ВИНТИ, РИНЦ и базах данных, распространение Журнала/авторских материалов в печатных и электронных изданиях, включая размещение на выбранных либо созданных Редакцией сайтах в сети Интернет в целях доступа к публикации в интерактивном режиме

любого заинтересованного лица из любого места и в любое время, а также на распространение Журнала с опубликованным материалом Автора по подписке или через продажу;

2) территория, на которой разрешается использовать авторский материал, — Российская Федерация, страны СНГ и сеть Интернет;

3) срок действия Договора — 5 лет. По истечении указанного срока Редакция оставляет за собой, а Автор подтверждает бессрочное право Редакции на продолжение размещения авторского материала в сети Интернет;

4) Редакция вправе по своему усмотрению без каких-либо согласований с Автором заключать договоры и соглашения с третьими лицами, направленные на дополнительные меры по защите авторских и издательских прав;

5) Автор гарантирует, что использование Редакцией предоставленного им по настоящему Договору авторского материала не нарушит прав третьих лиц;

6) Редакция вправе издавать репринты статей (в том числе на платной основе), публикуемых в Журнале;

7) Редакция предоставляет Автору возможность безвозмездного получения одного авторского экземпляра из вышедшего тиража печатного издания с публикацией материалов Автора или получения справки с электронными адресами его официальной публикации в сети Интернет;

8) при перепечатке статьи или ее части ссылка на первую публикацию в Журнале обязательна;

9) Редакция вправе издавать Журнал любым тиражом.

ПОРЯДОК ЗАКЛЮЧЕНИЯ ДОГОВОРА И ИЗМЕНЕНИЯ ЕГО УСЛОВИЙ

Заключением Договора со стороны Редакции является опубликование рукописи данного Автора в журнале «Медицинский академический журнал», а также размещение ее текста в сети Интернет.

Заключением Договора со стороны Автора, то есть полным и безоговорочным принятием Автором условий Договора, является выполнение Автором нижеследующих действий:

1) осуществление Автором передачи авторского материала и сопроводительных документов Редакции лично или по каналам почтовой связи;

2) доработка Автором материала по предложению Редакции и/или рецензента и передача Редакции доработанного материала.

Редакция вправе в одностороннем порядке изменять условия Договора и корректировать его положения, публикуя уведомления об этом на сайте Издательства.

ФОРМАТ И СТРУКТУРА СТАТЕЙ

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), а также принципов и правил COPE (Committee on Publication Ethics), WAME (World Association of Medical Editors), ORI (the Office of Research Integrity), CSE (Council of Science Editors), EASE (European Association of Science Editors), указаний АНРИ (Ассоциация научных редакторов и издателей) и требований ВАК (Высшая аттестационная комиссия). Более подробную информацию для оформления статьи в соответствии с ГОСТом и международными правилами вы можете найти по электронному адресу <https://journals.eco-vector.com/index.php/MAJ>.

1. РУКОПИСЬ. Направляется в редакцию в электронном варианте через онлайн-форму <https://journals.eco-vector.com/index.php/MAJ>. Загружаемый в систему файл со статьей должен быть представлен в формате Microsoft Word (иметь расширение *.doc, *.docx, *.rtf). Статья загружается в два этапа. На первом этапе статья загружается целиком. На втором этапе файл необходимо разделить и загрузить тремя отдельными файлами: 1) русскоязычные и англоязычные метаданные; 2) текст статьи; 3) информация об авторах.

1.1. Объем полного текста рукописи (оригинальные исследования, лекции, обзоры), в том числе таблицы и список литературы, не должен превышать 7000 слов. Объем статей, посвященных описанию клинических случаев, — не более 5000 слов; краткие сообщения и письма в редакцию — в пределах 1500 слов. Количество слов в тексте можно узнать через меню Word (Главная — Редактирование — Статистика). В случае если превышающий нормативы объем статьи, по мнению автора, оправдан и не может быть уменьшен, решение о публикации принимается на заседании редколлегии по рекомендации рецензента.

1.2. Формат текста рукописи. Текст должен быть напечатан шрифтом Times New Roman, иметь размер 12 pt и межстрочный интервал 1,5 pt. Отступы с каждой стороны страницы — 2 см. Текст можно выделять **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 Microsoft Word «Найти и заменить»).

1.3. Файл с текстом статьи, загружаемый в форму для подачи рукописей, должен содержать всю информацию для публикации (в том числе рисунки и таблицы).

2. СТРУКТУРА РУКОПИСИ должна соответствовать приведенному ниже шаблону (в зависимости от типа работы).

2.1. Русскоязычные метаданные.

- **Название статьи.**
- **Авторы.** При написании авторов инициалы имени и отчества ставят перед фамилией (П.С. Иванов, С.И. Петров, И.П. Сидоров).
- **Учреждения.** Необходимо привести официальное ПОЛНОЕ название учреждения (без сокращений). После названия учреждения через запятую необходимо написать название города, страны. Если в написании рукописи принимали участие авторы из разных учреждений, необходимо соотнести названия учреждений и Ф. И. О. авторов путем добавления цифровых индексов в верхнем регистре перед названиями учреждений и фамилиями соответствующих авторов.

- **Резюме статьи** должно быть (если работа оригинальная) структурированным: актуальность, цель, материалы и методы, результаты, заключение. Резюме должно полностью соответствовать содержанию работы. Объем текста резюме должен содержать от 100 до 300 слов.

- **Ключевые слова.** Необходимо указать ключевые слова — от 3 до 10, они способствуют индексированию статьи в поисковых системах. Ключевые слова должны попарно соответствовать на русском и английском языке.

2.2. Англоязычные метаданные.

- **Article title.** Англоязычное название должно быть грамотно с точки зрения английского языка, при этом по смыслу полностью соответствовать русскоязычному названию.

- **Author names.** Ф. И. О. необходимо писать в соответствии с заграничным паспортом или так же, как в ранее опубликованных в зарубежных журналах статьях. Авторам, публикующимся впервые и не имеющим заграничного паспорта, следует воспользоваться стандартом транслитерации BGN/PCGN <http://ru.translit.ru/?account=bgn>.

- **Affiliation.** Необходимо указывать ОФИЦИАЛЬНОЕ АНГЛОЯЗЫЧНОЕ НАЗВАНИЕ УЧРЕЖДЕНИЯ. Наиболее полный список названий учреждений и их официальной англоязычной версии можно найти на сайте РУНЭБ (<https://elibrary.ru/orgs.asp>).

• **Abstract.** Англоязычная версия резюме статьи должна по смыслу и структуре (Aim, Materials and Methods, Results, Conclusions) полностью соответствовать русскоязычной и быть грамотной с точки зрения английского языка.

• **Keywords** (в подавляющем большинстве западных статей пишется слитно). Для выбора ключевых слов на английском следует использовать тезаурус Национальной медицинской библиотеки США — Medical Subject Headings (MeSH).

2.3. Основная часть статьи. Полный текст (на русском, английском или обоих языках) должен быть структурированным по разделам. Структура полного текста рукописи, посвященной описанию результатов оригинальных исследований, должна соответствовать общепринятому шаблону и содержать разделы: введение (актуальность), цель, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы.

В конце основной части статьи следует привести информацию о финансировании, соблюдении этических норм и о наличии/отсутствии конфликта интересов (декларирование конфликта интересов). Например:

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке ... фонда в рамках проекта № .../... в рамках темы государственного задания ...

Соблюдение этических норм. Выполнение исследования одобрено протоколом этического комитета ... (номер протокола, дата его утверждения).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. Описывается роль каждого автора в работе над публикацией (например, проведение эксперимента, описание, обработка результатов, подбор литературы).

Все термины на латинском языке выделяются курсивом (например, *in vivo*, *in vitro*, *rete venosus superficialis*), а также латинские буквы, которые используются для обозначения переменных и физических величин (например, $n = 20$, $p < 0,05$). Греческие буквы набираются прямым шрифтом.

2.4. Литература. В библиографии (приставленном списке литературы) каждый источник следует помещать с новой строки под порядковым номером. Подробные правила оформления библиографии можно найти в специальном разделе «Оформление библиографии». Наиболее важные из них следующие.

• В списке все работы перечисляются в порядке цитирования.

• Количество цитируемых работ: в оригинальных статьях и лекциях допускается до 60,

в обзорах — до 120 источников. Желательно цитировать произведения, опубликованные в течение последних 5–7 лет.

• В тексте статьи ссылки на источники приводятся в квадратных скобках арабскими цифрами.

• Авторы цитируемых источников в списке литературы должны быть указаны в том же порядке, что и в первоисточнике (в случае если у публикации более 4 авторов, то после 3-го автора необходимо поставить сокращение «... и др.» или «... , et al.»). Недопустимо сокращать название статьи. Название англоязычных журналов следует приводить в соответствии с каталогом названий базы данных MedLine (в названиях журнала точки в сокращениях не ставятся). Если журнал не индексируется в MedLine, необходимо указывать его полное название. Название англоязычного журнала должно быть выделено курсивом. Перед названием журнала, выходящего на русском языке, ставится знак //, который отделяет название статьи от названия журнала. Название отечественного журнала сокращать нельзя.

• **Оформление списка литературы** должно удовлетворять требованиям РИНЦ и международных баз данных. В связи с этим в ссылках на русскоязычные источники необходимо дополнительно указывать информацию для цитирования на латинице. Таким образом:

— англоязычные источники следует оформлять в формате Vancouver в версии AMA (AMA style, <http://www.amamanualofstyle.com>) — подробно на странице «Оформление библиографии»;

— русскоязычные источники необходимо оформлять в соответствии с правилами ГОСТ Р 7.0.5-2008; после указания ссылки на первоисточник на русском языке в квадратных скобках должно быть указано описание этого источника на латинице — подробно на странице «Оформление библиографии».

ПРАВИЛА ПОДГОТОВКИ ЛАТИНОЯЗЫЧНОЙ (АНГЛОЯЗЫЧНОЙ) ЧАСТИ БИБЛИОГРАФИЧЕСКИХ ОПИСАНИЙ НЕ АНГЛОЯЗЫЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ (В РОМАНСКОМ АЛФАВИТЕ)

Если статья написана на латинице (на английском, немецком, финском, датском, итальянском и т. д.), она должна быть процитирована в оригинальном виде:

• Ellingsen AE, Wilhelmsen I. Sykdomsangst blant medisiner og jusstudenter. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2002;122(8):785-787. (In Norwegian).

Если статья написана НЕ на латинице — на кириллице (в том числе на русском), иероглифами и т. д., если у статьи есть ОФИЦИАЛЬНЫЙ ПЕРЕВОД НАЗВАНИЯ, его нужно вставить

в квадратных скобках после оригинального написания библиографической ссылки на источник. Проще всего проверить наличие официального перевода названия статьи можно, на сайте eLibrary.ru. Например:

• Григорян О.Р., Шереметьева Е.В., Андреева Е.Н., Дедов И.И. Планирование беременности у женщин с сахарным диабетом // Вестник репродуктивного здоровья. — 2011. — № 1. — С. 23–31. [Grigoryan OR, Sheremet'eva EV, Andreeva EN, Dedov II. Planning of pregnancy in women with diabetes. *Vestnik reproductivnogo zdorov'ya*. 2011;(1):23-31. (In Russ.)]

Если у статьи нет **ОФИЦИАЛЬНОГО ПЕРЕВОДА**, то нужно **ПРИВЕСТИ ТРАНСЛИТЕРАЦИЮ** всей ссылки в квадратных скобках сразу после правильно оформленной ссылки в оригинальном написании. Англоязычная часть библиографического описания ссылки на русскоязычный источник должна находиться сразу после русскоязычной части в квадратных скобках ([...]).

Фамилии и инициалы всех авторов на латинице и название статьи на английском языке следует приводить так, как они даны в оригинальной публикации. Транслитерацию следует приводить в стандарте BGN (автоматически транслитерация в стандарте BGN производится на странице <https://translit.net/ru/bgn/>) с сохранением стилового оформления русскоязычного источника. Далее следует транслитерированное название русскоязычного журнала в стандарте BGN, далее — выходные данные: год;том(номер):страницы.

В самом конце англоязычной части библиографического описания в круглые скобки помещают указание на исходный язык публикации, например: (In Russ.). В конце библиографического описания (за квадратной скобкой) помещают doi статьи, если таковой имеется. Проверять наличие doi у статьи следует на сайтах <http://search.crossref.org/> или <https://www.citethisforme.com>. Например:

• Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med*. 2002;347(4):284-287. <https://doi.org/10.1056/nejmsb020632>.

Примеры правильного оформления ссылок в списках литературы.

СТАТЬИ В ЖУРНАЛАХ

Обычная журнальная ссылка (есть переводной вариант названия)

• Шестакова М.В., Сухарева О.И. Расширение группы препаратов, основанных на действии инкретинов: новый ингибитор ДПП-4 саксаглиптин // Проблемы Эндокринологии. —

2010. — Т. 56. — № 5. — С. 52–60. [Shestakova MV, Sukhareva OI. Extension of the group of incretin-targeted preparations: Saxagliptin — a new dipeptidyl peptidase-4 inhibitor. *Problems of Endocrinology*. 2010;56(5):52-60. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.14341/probl201056552-60>.

Обычная журнальная ссылка (перевода названия нет)

• Сунцов Ю.И., Дедов И.И., Кудрякова С.В. Государственный регистр сахарного диабета: эпидемиологическая характеристика инсулиннезависимого сахарного диабета // Сахарный диабет. — 1998. — Т. 1. — № 1. — С. 41–43. [Suntsov YuI, Dedov II, Kudryakova SV. Gosudarstvennyy registr sakharnogo diabeta: epidemiologicheskaya kharakteristika insulinnezavisimogo sakharnogo diabeta. *Diabetes mellitus*. 1998;1(1):41-43. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.14341/2072-0351-6215>.

КНИГИ И МОНОГРАФИИ

У книги один или несколько авторов

• Гиляревский С.Р. Миокардиты: современные подходы к диагностике и лечению. — М.: Медиа Сфера, 2008. [Gilyarevskii SR. Miokardity: sovremennye podkhody k diagnostike i lecheniyu. Moscow: Media Sfera; 2008. (In Russ.)]

• Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

• Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

У книги один или несколько редакторов

• Инфекции, передаваемые половым путем / Под ред. В.А. Аковбяна, В.И. Прохоренкова, Е.В. Соколовского. — М.: Медиа Сфера, 2007. [Infektsii, peredavaemye polovym putem. Ed. by V.A. Akovbyan, V.I. Prokhorenkov, E.V. Sokolovskiy. Moscow: Media Sfera; 2007. (In Russ.)]

• Operative obstetrics. 2nd ed. Ed. by L.C. Gilstrap, F.G. Cunningham, J.P. VanDorsten. New York: McGraw-Hill; 2002.

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ

• Пархоменко А.А., Дейханова В.М. Оказание медицинской помощи больным, перенесшим инфаркт головного мозга, на амбулаторно-поликлиническом этапе // Всероссийская научно-практическая конференция «Пути развития первичной медико-санитарной помощи»; Ноябрь 13–14, 2014; Саратов. [Parkhomenko AA, Deikhanova VM. Okazanie meditsinskoj pomoshchi bol'nym, perenesshim infarkt golovnogo mozga, na ambulatorno-poliklinicheskom etape. (Conference proceedings) Vserossiiskaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya "Puti razvitiya pervichnoi mediko-sanitarnoi pomoshchi"; 2014 nov 13-14; Saratov.

(In Russ.)]. Доступно по: <http://medconfer.com/node/4128>. Ссылка активна на 12.12.2014.

- Germ cell tumours V. Proceedings of the 5th Germ Cell Tumour Conference; 2001 Sep 13-15; Leeds, UK. Ed. by P. Harnden, J.K. Joffe, W.G. Jones. New York: Springer; 2002.

ТЕЗИСЫ В МАТЕРИАЛАХ КОНФЕРЕНЦИИ

- Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Ed. by J.A. Foster, E. Lutton, J. Miller, et al. Berlin: Springer; 2002. P. 182-91.

ДИССЕРТАЦИИ

- Бузаев И.В. Прогнозирование изменений центральной гемодинамики и выбор метода пластики левого желудочка при хронических аневризмах сердца: Дис. ... канд. мед. наук. — Новосибирск, 2006. [Buzaev IV. Prognozirovanie izmenenii tsentral'noi gemodinamiki i vybor metoda plastiki levogo zheludochka pri khronicheskikh anevrizmakh serdtsa. [dissertation] Novosibirsk; 2006. (In Russ.)]. Доступно по: <http://www.buzaev.ru/downloads/disser.pdf>. Ссылка активна на 12.12.2014.

- Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans. [dissertation] Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002.

ИНТЕРНЕТ-СТРАНИЦА

- Liapakis A, Formica RN, Levitsky J. Solid organ transplantation of viral hepatitis C positive donor organs into viral hepatitis C negative recipients. Current Opinion in Organ Transplantation [Internet]. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2018 Feb 1. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/mot.0000000000000504>.

**ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ЗА ПРАВИЛЬНОСТЬ
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИХ ДАННЫХ НЕСЕТ
АВТОР.**

2.5. Информация об авторах. Последовательно указываются все авторы рукописи: Ф. И. О. (полностью), ученая степень, ученое звание, должность, место работы (включая город и страну), ORCID и SPIN-код. Отдельно следует выделить (значком *) автора для связи с авторским коллективом и указать его контактный телефон (только для экстренной связи, не будет опубликован) и e-mail. По желанию можно указать e-mail всех авторов.

3. ТАБЛИЦЫ следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок и четко обозначенные графы, удоб-

ные 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. **Таблицы должны иметь заглавие на русском и английском языках.**

4. ИЛЛЮСТРАЦИИ. Рисунки (графики, диаграммы, схемы, чертежи и другие иллюстрации, рисованные средствами MS Office) должны быть контрастными и четкими. Объем графического материала минимальный (за исключением работ, в которых это оправдано характером исследования). Каждый рисунок должен быть помещен в текст и сопровождаться нумерованной подрисовочной подписью. Ссылки на рисунки в тексте обязательны. **Рисунки должны иметь заглавие на русском и английском языках.** Надписи на рисунках также должны быть продублированы на английском языке. **Фотографии**, отпечатки экранов мониторов (скриншоты) и другие нерисованные иллюстрации необходимо загружать отдельно в специальном разделе формы для подачи статьи в виде файлов формата *.jpeg, *.bmp, *.gif (*.doc и *.docx — в случае, если на изображение нанесены дополнительные пометки). Разрешение изображения должно быть > 300 dpi. Файлам изображений необходимо присвоить название, соответствующее номеру рисунка в тексте.

5. ФОРМУЛЫ. Математические формулы, оформляемые отдельной строкой, полностью набирают средствами MathType. Для латинских символов используют курсив, для греческих — прямой шрифт (меню MathType: Style — Define).

Не используйте программы Microsoft Equation, MathType и т. п. для набора обозначений, у которых есть только верхний или только нижний индекс, единицы измерения, цифры в тексте, а также простые математические или химические формулы (например, $a^2 + 2ab + b^2 = (a + b)^2$; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$). Некоторые распространенные символы можно набрать клавиатурными командами (например, Alt + 0177 — \pm), либо с использованием меню Вставка — Символ.

6. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ. Если в статье встречаются аббревиатуры, то в начале статьи необходимо поместить список сокращений. Не рекомендуется употреблять аббревиатуры в резюме. При первом использовании аббревиатуры необходимо привести полное название, а в скобках — сокращенное, далее в тексте приводить только сокращенный ва-

риант. Все используемые в таблицах и рисунках аббревиатуры и символы необходимо расшифровать в примечаниях и подписях к ним с указанием на использованные статистические критерии (методы) и показатели точности оценки (стандартное отклонение, стандартная ошибка среднего и пр.). Статистическую значимость различий данных, представленных в таблицах, рекомендуется обозначать надстрочными символами *, **, #, ##, ^, ^^, †, ††, ‡, ‡‡ и т. п.

7. ЭТИЧЕСКИЕ НОРМЫ. Для публикации результатов оригинальной работы необходимо указать, подписывали ли участники исследования информированное согласие; 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 сообщить, был ли протокол исследования одобрен этическим комитетом (с приведением названия соответствующей организации, ее расположения, номера протокола и даты заседания комитета). Подробно принципы публикационной этики, которыми руководствуется Редакция, изложены в разделе «Этические принципы журнала» по ссылке <https://journals.eco-vector.com/MAJ/about/editorialPolicies#custom-1>.

РЕЦЕНЗИРОВАНИЕ

Датой поступления статьи считается дата получения Редакцией рукописи (дата первой загрузки статьи на сайт). Статьи, поступившие в редакцию, обязательно рецензируются

двойным слепым методом. Автор имеет право указать нежелательных и желательных рецензентов (при условии, что у автора с желательным рецензентом нет общих грантовых проектов и публикаций в течение предыдущих пяти лет). Право окончательного выбора рецензента остается за Редакцией. Если у рецензента возникают вопросы, то статья с комментариями рецензента возвращается Автору. Датой одобрения статьи является дата загрузки статьи на сайт после устранения замечаний рецензента. Датой принятия статьи к печати считается дата одобрения ее членами редакционной коллегии. Редакция оставляет за собой право внесения редакторских изменений в текст, не искажающих смысла статьи (литературная и техническая правка).

АВТОРСКИЕ ЭКЗЕМПЛЯРЫ ЖУРНАЛА

Редакция обязуется предоставить Автору один экземпляр Журнала с опубликованной рукописью. Авторы, проживающие в Санкт-Петербурге, получают авторский экземпляр Журнала непосредственно в Редакции. Иногородним Авторам авторский экземпляр Журнала высылается на адрес автора, ответственного за переписку.

ИНФОРМАЦИЯ

197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12. Тел. +7(812)234-68-68. E-mail: medicalacademicjournal@gmail.com.

191186, Санкт-Петербург, Аптекарский пер., 3, лит. А, пом. 1Н. Тел. (812)648-83-67, e-mail: nl@eco-vector.com. Сайт журнала: <https://journals.eco-vector.com/index.php/MAJ>.