

# Кардиологический Вестник

**БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО КАРДИОЛОГИЧЕСКОГО НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОГО КОМПЛЕКСА**



Том VI (XVIII)

№ 1

2011

Российский кардиологический научно-производственный комплекс

---

---

# Кардиологический Вестник

---

---

**БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО КАРДИОЛОГИЧЕСКОГО НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОГО КОМПЛЕКСА**

---

---

Основан в 1978 году как БЮЛЛЕТЕНЬ ВКНЦ АМН СССР

• Возобновлен в 2006 году •

---

№ 1

Том VI (XVIII)

2011

*Редакционная коллегия:*

**Главный редактор Е.И. Чазов**

Ф.Т.Агеев, Р.С.Акчурин, С.А.Бойцов (заместитель главного редактора), С.П.Голицын,  
О.М.Елисеев (ответственный секретарь), В.И.Капелько, Ю.А.Карпов, В.В.Кухарчук,  
В.З.Ланкин, С.Н.Наконечников (ответственный секретарь), А.Н.Рогоза,  
Л.В.Розенштраух, М.Я.Руда, В.Е.Синицын, В.Н.Смирнов, И.Е.Чазова

## Содержание

## Contents

### Актуальная тема

Ю.А.Юричева, Е.Б.Майков, С.Ф.Соколов, Н.Ю.Миронов, Ю.Л.Клименко, Т.Л.Крацкина, Г.С.Тарасовский, О.А.Бильдинов, С.А.Бакалов, С.П.Голицын, М.Н.Болотова, Г.Г.Белошатко, А.В.Юшманова, Л.В.Розенитраух, Е.И.Чазов  
Эффективность и безопасность нового антиаритмического препарата III класса ниферидила в купировании персистирующей формы фибрилляции и трепетания предсердий

### Оригинальные статьи

В.З.Ланкин, Г.Г.Коновалова, А.К.Тихазе, Л.В.Недосугова  
Глюкоза инициирует атерогенную окислительную модификацию липопротеидов низкой плотности in vitro и у больных сахарным диабетом типа 2

К.А.Зыков, Э.Ю.Нуралиев, Е.И.Казначеева, Т.В.Кузнецова, Е.Б.Ярвая, В.П.Масенко, В.В.Кухарчук от имени исследовательской группы «Атеросклероз и воспаление»  
Динамика воспалительного процесса у больных с острым коронарным синдромом и стабильной стенокардией. Сообщение II. Биохимические, иммунологические и клинические аспекты

О.Н.Свирида, А.Г.Овчинников, Ф.Т.Агеев  
Патогенетический подход к терапии пациентов с хронической сердечной недостаточностью и сохраненной систолической функцией левого желудочка

И.Е.Чазова, В.В.Фомин, М.А.Разуваева, А.В.Вигдорчик  
Резистентная и неконтролируемая артериальная гипертония в Российской Федерации: эпидемиологическая характеристика и подходы к лечению (Российский регистр неконтролируемой и резистентной артериальной гипертонии REGATA «Резистентная Гипертония Артериальная»)

Е.В.Грачева, Н.Н.Самовилова, Н.К.Голованова, Н.В.Проказова  
Нейтральные липиды интимы артерий при атеросклерозе

В.Л.Лакомкин, Ц.Р.Орлова, А.А.Абрамов, И.В.Свириева, К.Б.Шумаев, Э.К.Рууге, А.Ф.Ванин, В.И.Капелько  
Хронотропная регуляция сердца при гипотензивном эффекте, вызванном активными формами кислорода

### Обзорная статья

Е.К.Шевченко, П.И.Макаревич, Е.В.Парфёнова  
Генетическая модификация прогениторных клеток как способ повышения эффективности генной и клеточной терапии ишемических заболеваний

### Календарь проведения научных мероприятий

Календарь юбилейных дат истории кардиологии

### Topical theme

5 Y.A.Yuricheva, E.B.Maykov, S.F.Sokolov, N.Yu.Mironov, Yu.L.Klimenko, T.L.Kratskina, G.S.Tarasovskiy, O.A.Bildinov, S.A.Bakalov, S.P.Golitsyn, M.N.Bolotova, G.G.Beloshapko, A.V.Yushmanova, L.V.Rosensbtraukh, E.I.Chazov  
Efficacy and safety of new class III antiarrhythmic agent Niferidil in reduction of With Persistent Atrial Fibrillation and Flutter

### Original articles

16 V.Z.Lankin, G.G.Konvalova, A.K.Tikhaze, L.V.Nedosugova  
The initiation of glucose of atherogenic oxidative modification of low density lipoproteins in vitro and in patients with type 2 diabetes

23 K.A.Zykov, E.Yu.Nuraliev, E.I.Kaznacheeva, T.V.Kuznecova, E.B.Yarovaya, V.P.Masenko, V.Kukbarchuk, on behalf of the study «Atherosclerosis and Inflammation» group  
Time course of changes in an inflammatory process in patients with acute coronary syndrome and in those with stable angina pectoris. Communication 2. Biochemical, immunological and clinical aspects

33 O.N.Svirida, A.G.Ovchinnikov, F.T.Ageev  
Pathogenetic approach to therapy for patients with chronic heart failure and preserved left ventricular systolic function

40 I.E.Chazova, V.V.Fomin, M.A.Razuwayeva, A.V.Vigdorcbik  
Resistant and uncontrolled essential hypertension in the Russian Federation: epidemiological characteristics and treatment approaches (Russian register of uncontrolled and resistant arterial hypertension – REGATA «Resistant essential hypertension»)

49 E.V.Gracheva, N.N.Samovilova, N.K.Golovanova, N.V.Prokazova  
Neutral lipids of arterial intima in human atherosclerosis

53 V.L.Lakomkin, Ts.R.Orlova, A.A.Abramov, I.V.Sviriyayeva, K.B.Shumaev, E.K.Ruuge, A.F.Vanin, V.I.Kapelko  
Chronotropic regulation of the heart at hypotensive effect induced reactive oxygen species

### Survey article

59 E.K.Shevchenko, P.I.Makarevich, Y.V.Parfyonova  
Genetic modification of progenitor cells as the way to increase the efficacy of gene and cell therapy for ischemic disorders

### Calendar of Scientific Measures

69 Calendar of Anniversary Dates in the History of Cardiology

Ю.А.Юричева, Е.Б.Майков, С.Ф.Соколов, Н.Ю.Миронов, Ю.Л.Клименко, Т.Л.Крацкина, Г.С.Тарасовский, О.А.Бильдинов, С.А.Бакалов, С.П.Голицын, М.Н.Болотова, Г.Г.Белошапко, А.В.Юшманова, Л.В.Розенштраух, Е.И.Чазов

## Эффективность и безопасность нового антиаритмического препарата III класса ниферидила в купировании персистирующей формы фибрилляции и трепетания предсердий

ФГУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Минздрава России

### Резюме

Ниферидил – новый антиаритмический препарат III класса. Предварительные данные, полученные нами в ходе экспериментальных доклинических и электрофизиологических исследований, продемонстрировали, что ниферидил увеличивает рефрактерность предсердий без значительного влияния на эффективный рефрактерный период желудочков.

**Цель исследования.** В клиническом испытании II фазы изучить эффективность и безопасность внутривенного введения ниферидила в дозах 10, 20 и 30 мкг/кг для восстановления синусового ритма у больных персистирующей формой фибрилляции предсердий (ФП) и трепетанием предсердий (ТП).

**Материалы и методы.** В исследование включили 40 больных (28 мужчин и 12 женщин в возрасте  $55,0 \pm 12,7$  года) со средней продолжительностью текущего эпизода аритмии  $4,9 \pm 4,5$  мес (от 2 нед до 24 мес). 31 из 40 больных имел персистирующую форму ФП, 9 – персистирующую форму ТП. Препарат вводился в виде трех последовательных болюсов из расчета 10 мкг/кг в каждом с интервалами 15 мин.

**Результаты.** Антиаритмическая эффективность ниферидила составила в дозе 10 мкг/кг – 55%, в дозе до 20 мкг/кг – 70%, в дозе до 30 мкг/кг – 90%. Общая доля пациентов, у которых удлинение интервала QTc после устранения аритмии ниферидилом превысило потенциально опасную величину 500 мс, составила 16,7% (у 6 из 36). Ни у одного из пациентов не было отмечено развития побочного проаритмического действия препарата в виде Torsade de pointes.

**Заключение.** Ниферидил при внутривенном введении в дозе до 30 мкг/кг является высокоэффективным (до 90%) и безопасным препаратом для восстановления синусового ритма у больных с персистирующей формой течения ФП и ТП.

**Ключевые слова:** антиаритмический препарат III класса, ниферидил, медикаментозная кардиоверсия, персистирующая форма фибрилляции и трепетания предсердий.

Y.A.Yuricheva, E.B.Maykov, S.F.Sokolov, N.Yu.Mironov, Yu.L.Klimenko, T.L.Kratskina, G.S.Tarasovskiy, O.A.Bildinov, S.A.Bakalov, S.P.Golitsyn, M.N.Bolotova, G.G.Beloshapko, A.V.Yushmanova, L.V.Rosenbtraukh, E.I.Chazov

### Efficacy and safety of new class III antiarrhythmic agent Niferidil in reduction of With Persistent Atrial Fibrillation and Flutter

Russian Cardiology Research-and-Production Complex, Ministry of Health and Social Development

### Summary

Niferidil is a new class III antiarrhythmic agent. Preliminary data, found during preclinical and electrophysiological studies, showed that niferidil increases atrial refractoriness and does not markedly influence on ventricle effective refractory period.

**Aim of the study:** to evaluate the efficacy and safety of administered intravenously niferidil in doses 10, 20 and 30 mkg per kg in patients with persistent atrial fibrillation (AF) and flutter (AFL) for pharmacological cardioversion.

**Materials and methods:** the study included 40 patients (28 male) with persistent AF (n=31) and AFL (n=9) without structural heart diseases with median arrhythmia duration  $4,9 \pm 4,5$  months (2 weeks to 24 months). Niferidil was administered as 3 bolus injections (10 mkg per kg each) performed with the interval of 15 minutes.

**Results:** antiarrhythmic efficacy of niferidil in dose of 10 mkg per kg was 55%, in dose of 20 mkg per kg it was 70%, and in dose of 30 mkg per kg reached 90%. The part of the patients, in whom QTc prolongation exceeded potentially dangerous value of 500 ms, was 16,7% (6 of 36). None of the patients developed proarrhythmic side effect as «torsade de pointes».

**Conclusion:** i.v. niferidil in doses up to 30 mkg/kg seems to be very effective (up to 90%) and safe for sinus rhythm restoration in patients with persistent AF and AFL.

**Key words:** class III antiarrhythmic drug; niferidil; pharmacologic cardioversion; persistent atrial fibrillation and flutter.

### Сведения об авторах

Юричева Юлия Александровна – мл. науч. сотр. отд. клинической электрофизиологии и рентгенохирургических методов лечения нарушений ритма сердца Института клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова РКНПК Минздрава России. Тел.: 414-68-32.

Майков Евгений Борисович – канд. мед. наук, ст. научн. сотр. отд. клинической электрофизиологии и рентгенохирургических методов лечения нарушений ритма сердца Института клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова РКНПК Минздрава России. Тел.: 414-67-85.

Соколов Сергей Федорович – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. отд. клинической электрофизиологии и рентгенохирургических методов лечения нарушений ритма сердца Института клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова РКНПК Минздрава России. Тел.: 414-63-84.



Миронов Николай Юрьевич – лаборант-исследователь отд. клинической электрофизиологии и рентгенхирургических методов лечения нарушений ритма сердца Института клинической кардиологии им. АЛМясникова РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел.: 414-66-19.

Клименко Юлия Львовна – врач анестезиолог-реаниматолог ПИН 7-го клинического отд-ния Института клинической кардиологии им. АЛМясникова РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел.: 414-61-70.

Крацкина Татьяна Леонидовна – врач анестезиолог-реаниматолог ПИН 7-го клинического отд-ния Института клинической кардиологии им. АЛМясникова РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел.: 414-61-70.

Тарасовский Геннадий Сергеевич – врач анестезиолог-реаниматолог ПИН 7-го клинического отд-ния Института клинической кардиологии им. АЛМясникова РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел.: 414-61-70.

Бильдинов Олег Анатольевич – врач анестезиолог-реаниматолог ПИН 7 клинического отд-ния Ин-та клинической кардиологии им. АЛМясникова РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел.: 414-61-70.

Бакалов Сергей Алексеевич – канд. мед. наук, зав. 7-м клиническим отд-нием Института клинической кардиологии им. АЛМясникова РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел.: 414-69-98.

Голицын Сергей Павлович – д-р мед. наук, проф., руководитель отд. клинической электрофизиологии и рентгенхирургических методов лечения нарушений ритма сердца Института клинической кардиологии им. АЛМясникова РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел.: 149-01-51.

Болотова Майя Николаевна – канд. мед. наук, мл. науч. сотр. отд. новых методов диагностики Института клинической кардиологии им. АЛМясникова РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел.: 414-64-09.

Белошатко Галина Григорьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. электрофизиологии сердца Института экспериментальной кардиологии РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел.: 414-67-39.

Юсманова Анна Васильевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. электрофизиологии сердца Института экспериментальной кардиологии РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел.: 414-67-42.

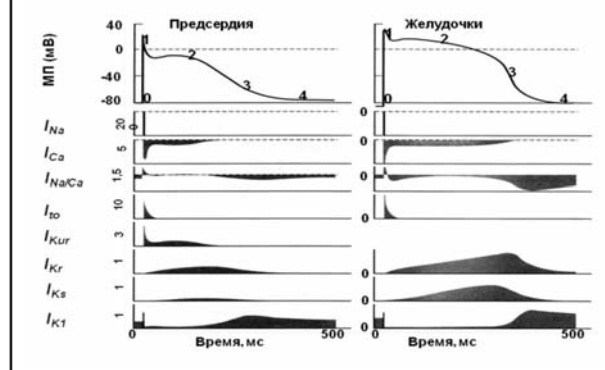
Розенитраух Леонид Валентинович – д-р биол. наук, акад. РАМН и РАН, руководитель лаб. электрофизиологии сердца Института экспериментальной кардиологии РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел.: 414-67-39.

Чазов Евгений Иванович – акад. РАН и РАМН, Генеральный дир. РКНПК Минздравсоцразвития РФ.

В настоящее время существует два альтернативных подхода к лечению пациентов с фибрилляцией и трепетанием предсердий (ФП и ТП) – «контроль частоты», подразумевающий снижение частоты сердечных сокращений (ЧСС) до физиологических значений при сохранении аритмии, и «контроль ритма», при котором производится восстановление синусового ритма и его удержание с помощью антиаритмических препаратов. В последнее десятилетие было выполнено немало исследований (AFFIRM, RACE, PIAF, STAF, PIAF, HOT CAFG) [1–9] и на основе их результатов проведено несколько метаанализов [10–12], по данным которых специалисты пытались выявить преимущества того или иного подхода. Однако значимого превосходства на тот момент ни для одного из методов доказано не было. Результаты недавно завершеного международного регистра Record AF показали, что восстановление и удержание синусового ритма является доминирующей стратегией лечения больных, страдающих ФП, которая перешагнула по своей распространенности эпидемический барьер. Именно этой стратегии, а не урежающей ритм терапии, отдают предпочтение в большинстве случаев кардиологи во всем мире, включая Россию.

Во многих странах мира сейчас активно ведется разработка антиаритмических препаратов (ААП) III класса, в основе действия которых лежит замедление фазы реполяризации за счет блокады калиевых каналов и увеличение длительности потенциала действия (ПД) миокардиоцитов предсердий и желудочков, а также специализированной проводящей системы сердца. Помимо широкого применения в клинической практике давно изученных амиодарона, соталола, дофетилида, ибутилида ведутся исследования новых ААП III класса: дронедарона, целиварона, азимилида и др. Эффективность купирования персистирующей формы ФП и ТП с помощью доступных ныне ААП III класса невелика и все больше снижается с уве-

Рис. 1. Потенциалы действия предсердного и желудочкового кардиомиоцитов и ионные токи, участвующие в их формировании.



личением длительности эпизода аритмии [13, 14].

Ограничивает применение ААП III класса и характерный для них зависимый от дозы побочный проаритмический эффект в виде развития полиморфной желудочковой тахикардии типа «пируэт», или «torsade de pointes»\* (tdp), возникающей в ответ на чрезмерное удлинение реполяризации желудочков, проявляющееся на поверхностной ЭКГ в росте интервала Q–T [15].

Первым разработанным в России ААП III класса стал нибентан (НБ), синтезированный в НИХФИ более 20 лет назад [16]. Исследования антиаритмической активности НБ в отношении пароксизмальных наджелудочковых тахикардий, и прежде всего как средства купирования ФП и ТП продемонстрировали его высокую эффективность, превосходящую таковую любого из используемых в настоящее время ААП III класса. Но и для НБ характерно проаритмическое действие в виде развития желудочковой тахикардии tdp [16–35].

В связи с этим основным направлением при создании новых ААП для лечения больных с ФП/ТП является поиск веществ, ингибирующих

\*Torsade de pointes (фр.) [произносится – торсад де пуант] – лента для подвязывания пуант. Это образное название изменений ЭКГ, напоминающих витки ленты вокруг ноги балерины. В отечественной литературе встречаются не вполне адекватные этому названию «пируэт» и «сердечный балет».

преимущественно ионные токи, представленные исключительно в миокарде предсердий или с большей плотностью в миокарде предсердий, чем в миокарде желудочков. Перспективно в этом отношении подавление ультрабыстрого калиевого тока задержанного выпрямления ( $I_{Kur}$ ), который, как видно на рис. 1, имеется только в клетках миокарда предсердий, но не желудочков.

Строго говоря, препаратов, ингибирующих только один вид ионных токов, не существует, но всегда имеет место смешанное воздействие с преимущественным подавлением одного из токов. Среди предсердно-селективных ААП III класса допущен к клиническому применению вернакалант, эффективный только при небольших сроках появления ФП/ТП – до 7 с [36–38]. Другие новые антиаритмические препараты, замедляющие реполяризацию – XEND0101/2, AZD7009, AVE0118, AVE1231, S9947, S20951, S0100176, NIP-141/142 – находятся на разных стадиях доклинических и клинических испытаний [39, 40].

В продолжение работ по получению новых более эффективных, безопасных и патентоспособных ААП III класса в ГУП ЦХЛС–ВНИХФИ совместно с РКНПК МЗ РФ были исследованы соединения в ряду производных пиперидил-4-этана, среди которых для дальнейшего доклинического изучения было отобрано соединение, получившее название РГ-2, в дальнейшем – фениридин, а в настоящее время – ниферидил (НФ).

**Экспериментальное исследование нового антиаритмического препарата III класса ниферидила**

**Влияние НФ на потенциал действия (ПД)** изучали на предсердном волокне крысы и кролика. На рис.2 представлены записи ПД предсердного волокна крысы (рис. 2а) и кролика (рис. 2б) в контроле и при действии НФ в концентрациях 0,01, 0,1 и 1 мкМ.

Видно, что НФ значительно зависимо от дозы увеличивал ПД за счет замедления конечной фазы реполяризации в предсердных волокнах у каждого из животных. При этом в диапазоне исследованных концентраций НФ не изменял потенциала покоя и амплитуды ПД.

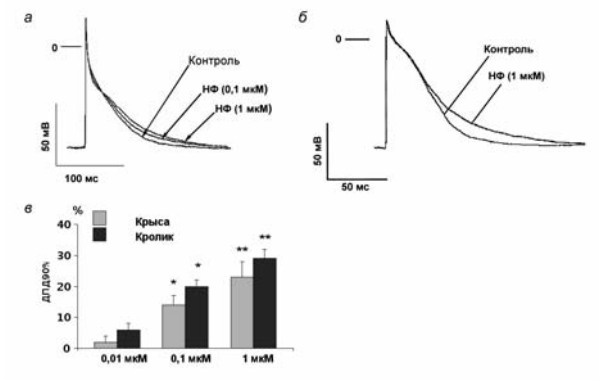
В концентрациях 0,1 и 1,0 мкМ РГ-2 достоверно увеличивал на  $19 \pm 5$  и  $26 \pm 7\%$  длительности ПД на уровне 90% реполяризации по сравнению с контрольными значениями у каждого из исследованных животных (см. рис. 2в).

Такое увеличение длительности ПД при изменности других параметров ПД характерно для ААП III класса и приводит к увеличению рефрактерности.

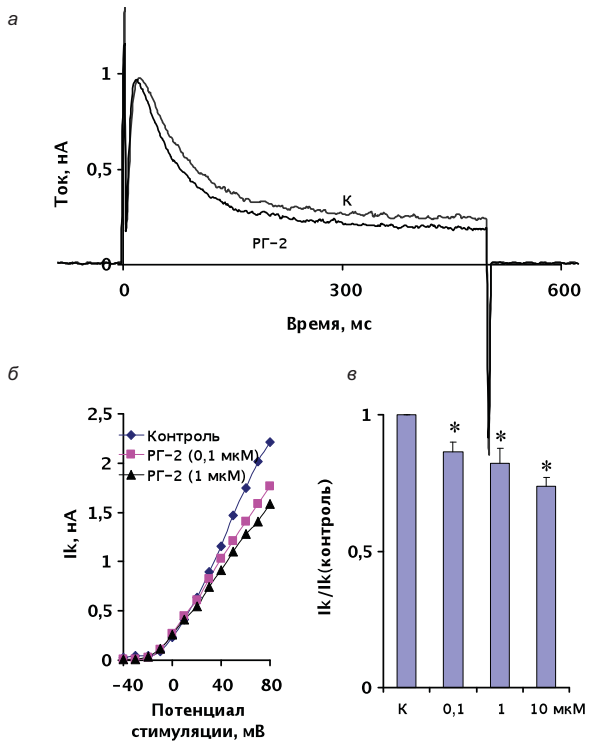
**Ионные механизмы действия НФ** изучали на ферментативно изолированных кардиомиоцитах. На рис. 3 а, б, в приведены данные регистрации выходящих калиевых токов ( $I_K$ ,  $I_{K1}$  и  $I_{to}$ ). Влияние НФ в концентрациях 0,1; 1,0; 10 мкмоль показано на одном и том же кардиомиоците. Препарат в зависимости от дозы подавлял ИК (калиевый ток задержанного выпрямления). Суммарная зависимость доза–эффект НФ на ИК показана на рис. 3.

НФ в концентрациях 0,1; 1,0 и 10 мкмоль достоверно снижал амплитуду  $I_K$  на  $14 \pm 3,7$ ;  $18 \pm 5,4$  и  $26 \pm 3,3\%$  соответственно ( $p < 0,05$  для всех концентраций). Анализ данных опытов показал, что достоверные изменения амплитуды тока  $I_{to}$  не на-

**Рис. 2.** Влияние НФ на длительность потенциалов действия предсердных кардиомиоцитов крысы (а) и кролика (б). Средние данные по 6 опытам для длительности потенциалов действия на уровне 90% реполяризации, полученных на препаратах предсердий крысы и кролика (в).



**Рис. 3.** Влияние НФ (РГ-2) на калиевый ток задержанного выпрямления,  $I_K$  (а, б, в) и выходящий кратковременный калиевый ток  $I_{Kto}$  (а) изолированных.

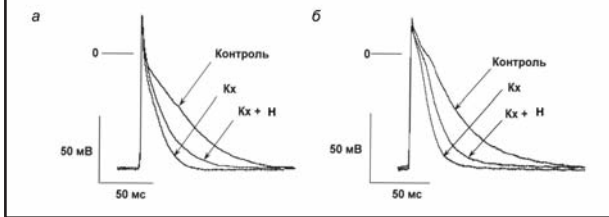


блюдались даже при действии препарата в концентрации 10 мкмоль.

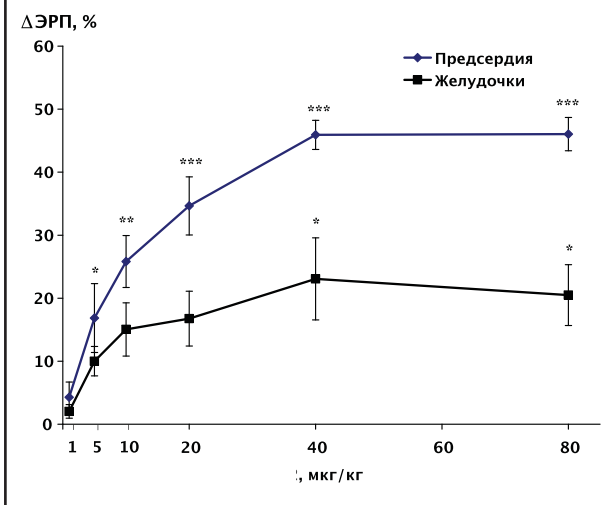
Под действием НФ не было изменений калиевого тока аномального выпрямления ( $I_{K1}$ ). Было обнаружено влияние препарата на входящий кальциевый ток ( $I_{CaL}$ ) большой проводимости. Достоверные изменения амплитуды  $I_{CaL}$  происходили уже с концентрации 1 мкмоль. Небольшое замедление кальциевого входящего тока объясняет причину снижения частоты синусового ритма, которое происходит при внутривенном введении препарата [41].

Ранее было показано, что нибентан обладает холинолитической активностью. Подобное влияние может рассматриваться в качестве свидетельства существования еще одной мишени для достижения антиаритмического действия. Такой

**Рис. 4.** Восстановление под действием НФ (1 мкМ) длительности потенциалов действия предсердных клеток крысы (а) и кролика (б), укороченных под действием карбохола (К). Представлены записи ПД крысы (а) и кролика (б) в контроле, после добавления карбохола и последующего добавления НФ на фоне карбохола.



**Рис. 5.** Зависимое от дозы действие НФ на эффективные рефрактерные периоды (ЭРП) предсердий и желудочков собаки.



мишенью, в частности, могут быть холинорецепторы (например, M2). На предсердных волокнах крысы и кролика было показано, что НФ в дозе 1 мкмоль ослабляет действие негидролизуемого аналога ацетилхолина, карбохола. (рис. 4) [42]. Подобное действие может быть особенно важно при зависимых от вагуса суправентрикулярных тахикардиях, включая мерцание и трепетание.

**Действие ниферидила на рефрактерные периоды и скорость проведения возбуждения.** Было установлено, что увеличение рефрактерных периодов под действием НФ было значительно более выражено в предсердиях, чем в желудочках (рис. 5).

Степень увеличения эффективного рефрактерного периода (ЭРП) под действием НФ (дозы 1, 5, 10, 20, 40, 80 мкг/кг) как в предсердиях, так и в желудочках не зависела от исходной частоты стимуляции. Изменения ЭРП предсердия были достоверно выше контроля при всех испытанных дозах (кроме дозы 1 мкг/кг) и при всех межстимуляционных интервалах ( $p < 0,01$ ). В то же время ЭРП желудочка достоверно возрастал только при дозе 40 мкг/кг ( $p < 0,05$ ) (см. рис. 5).

При регистрации электрограммы пучка Гиса НФ при всех испытанных дозах не оказывал влияния на интервалы А–Н и Н–V. При картировании правого предсердия НФ в дозах 20 и 40 мкг/кг не влиял на скорость проведения возбуждения по предсердиям.

НФ не оказывал влияния на продолжительность P–Q и QRS у собак в дозах от 1 до 80 мкг/кг. Начиная с дозы 10 мкг/кг происходило достоверное

увеличение сердечного цикла. Следует отметить влияние препарата на интервал Q–T, который статистически достоверно возрастал при дозе 20 мкг/кг. Однако при дальнейшем повышении дозы вплоть до максимальной (80 мкг/кг) дополнительное увеличение этого интервала не происходило. При этом скорректированный Q–T (Q–Tc) не изменялся ни при одной из тестируемых доз.

**Антиаритмическую активность НФ на моделях ваготонической фибрилляции предсердий** изучали на фибрилляции предсердий, поддерживаемой с помощью стимуляции блуждающих нервов у наркотизированных собак на сердце in situ. ФП вызывали стимуляцией правого и левого блуждающих нервов в сочетании с кратковременной электростимуляцией ушка правого предсердия.

Эффективность НФ в прекращении и предотвращении ФП оказалась зависимой от дозы. Доза в 5 мкг/кг в/в более чем в 60% случаев прекращала ФП и ни в одном случае не предотвращала ее возникновения. По мере повышения дозы препарата возрастал и процент прекращения и предотвращения ФП. При дозах 20 и 40 мкг/кг в 100% случаев прекращалась аритмия, а предотвращение ФП максимально достигало 80% [43].

Модель, в которой ФП поддерживается с помощью стимуляции блуждающих нервов, является одной из часто используемых моделей для проверки активности антиаритмических препаратов на предсердиях. Вагусная стимуляция вызывает неоднородные уменьшения рефрактерности в разных участках предсердий, создавая условия, необходимые для возникновения и поддержания ФП функциональной природы. Подобная модель применялась разными группами исследователей для тестирования целого ряда ААП III класса, таких как d-соталол, амбазилдид, дофетилид и азимилид, MS-551, NIP-42, а также нибентан. В этих работах было показано, что основным механизмом действия антиаритмических ААП III класса является увеличение предсердной длины волны (произведение ЭРП на скорость проведения). В результате последнего происходит увеличение размера индивидуального контура циркулирующей волны, что приводит к уменьшению числа контуров re-entry, способных одновременно уместиться в границах предсердной ткани. Когда длина волны достигает критической величины, поддержание циркуляции возбуждения становится невозможным, и ФП прекращается. Таким образом, эффективность антиаритмического препарата зависит от его влияния на длину волны.

Аналогичную картину наблюдали в условиях картирования. Анализ эпикардального картирования предсердий во время прекращения ФП показал, что под действием НФ происходило снижение частоты активации предсердий (увеличение длительности предсердного цикла) за счет постепенного уменьшения числа одновременно существующих волн возбуждения до полного прекращения re-entry. Эти изменения коррелировали с увеличением ЭРП предсердий под действием препарата на фоне стимуляции блуждающих нервов. Введение первой дозы НФ (5 мкг/кг) купировало ФП у 4 из 6 собак, что сопровождалось увеличением ЭРП от 93 до 121±6 мс. Следует еще раз подчеркнуть, что НФ не влиял на скорость проведе-



ния по предсердиям. Таким образом, антиаритмическое действие препарата при ФП объясняется увеличением предсердного ЭРП, сопровождающегося ростом длины волны и прекращением re-entry (рис. 6).

Обобщающие данные об эффективности прекращения и предотвращения ФП в диапазоне доз от 5 до 40 мкг/кг указывают на то, что именно в этом диапазоне доз препарата может быть достигнуто искомое антиаритмическое действие НФ при его клиническом использовании [42, 43].

Таким образом, в ходе экспериментального изучения НФ было обнаружено следующее.

НФ достоверно замедляет синусовый ритм в дозе 10 мкг/кг (в/в) и с той же достоверностью увеличивает интервал  $Q-T$ . Однако  $Q-T_c$ ,  $QRS$  и  $P-Q$  остаются практически неизменными. Параметры гисограмм остаются неизменными или незначительно (недостоверно) изменяются при широком диапазоне доз НФ (от 1 до 80 мкг/кг, в/в). Специальные прямые измерения скорости проведения по предсердиям не выявили изменений под влиянием НФ в широком диапазоне доз (5–40 мкг/кг, в/в). Анализ трансмембранных потенциалов действия на предсердных волокнах кролика и крысы показал рост потенциалов действия на уровне 90% реполяризации, который достоверно ( $p < 0,05$ ) начинался с концентрации НФ 0,1 мкмоль. Удивительные различия выявлены при измерении рефрактерных периодов в разных отделах сердца: достоверные различия в рефрактерности по сравнению с контролем в предсердиях начинаются уже при дозе в 5 мкг (в/в), тогда как с той же степенью достоверности ( $p < 0,05$ ) рост ЭРП периода желудочков отмечен при дозе 40 мкг/кг, т.е. разница по дозе достигает восьми раз. Эти различия имеют принципиальное значение, поскольку указывают на то, что при использовании данного препарата угроза появления осложнений типа  $tdp$  при купировании мерцательной аритмии в результате непосредственного действия препарата может быть существенно меньшей, и поэтому применение НФ может оказаться более безопасным по сравнению с другими ААП III класса.

Полученные данные имеют определенное сходство с ионным механизмом действия нибентана, главным из которых является его способность подавлять калиевые токи. Аналогичным свойством обладает не только нибентан, но и целый ряд других новых ААП III класса.

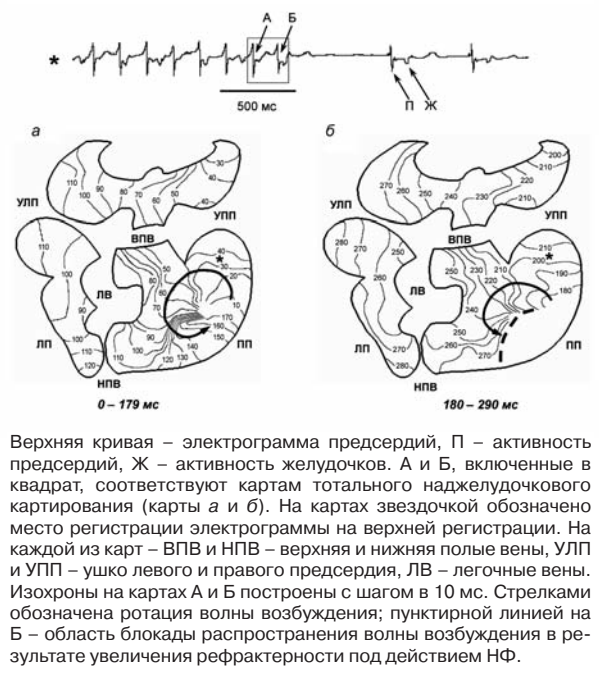
Представленные данные свидетельствуют о том, что НФ – новый отечественный антиаритмический препарат III класса, действующий на миокард предсердий в исключительно низкой дозировке, может внести свой вклад в эффективное и безопасное лекарственное лечение ФП, ТП и, возможно, других форм нарушений сердечного ритма [42–44].

### Результаты клинического исследования ниферидила

#### Электрофизиологические эффекты ниферидила (1-я фаза клинических испытаний)

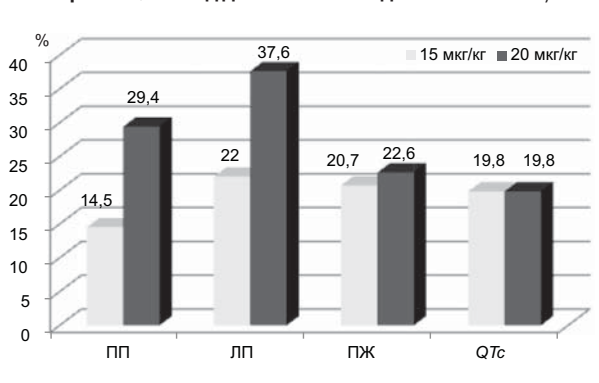
Действие препарата изучали в условиях рентгенооперационной при проведении диагностического внутрисердечного электрофизиологического исследования у 10 добровольцев без органического поражения сердца и какой-либо иной сопутствующей патологии внутренних органов. НФ вводили каждому исследуемому однократно внутри-

Рис. 6. Пример купирования фибрилляции предсердий под действием 20 мкг/кг НФ.



Верхняя кривая – электрограмма предсердий, П – активность предсердий, Ж – активность желудочков. А и Б, включенные в квадрат, соответствуют картам тотального наджелудочкового картирования (карты а и б). На картах звездочкой обозначено место регистрации электрограммы на верхней регистрации. На каждой из карт – ВПВ и НПВ – верхняя и нижняя полые вены, УЛП и УПП – ушко левого и правого предсердия, ЛВ – легочные вены. Изохроны на картах А и Б построены с шагом в 10 мс. Стрелками обозначена ротация волны возбуждения; пунктирной линией на Б – область блокады распространения волны возбуждения в результате увеличения рефрактерности под действием НФ.

Рис. 7. Удлинение эффективных периодов правого предсердия (ПП), левого предсердия (ЛП), правого желудочка (ПЖ) и интервала  $Q-T_c$  под действием НФ в дозах 15 и 20 мкг/кг.



венно в дозах от 5 до 20 мкг/кг. Любая из указанных доз не изменяла показателей, характеризующих проводимость. Увеличение ЭРП предсердий и правого желудочка, а также интервала  $Q-T_c$  происходило только начиная с дозы 15 мкг/кг. Введение НФ в дозе 20 мкг/кг сопровождалось дальнейшим достоверным удлинением ЭРП обоих предсердий без дополнительного удлинения ЭРП правого желудочка и интервала  $Q-T_c$  (рис. 7).

НФ в дозе 20 мкг/кг незначительно удлинит средний сердечный цикл. Ни в одном случае не было зарегистрировано побочного, в том числе проаритмического действия.

Таким образом, у обследованных добровольцев спектр электрофизиологических эффектов НФ, проявившихся у обследованных пациентов в дозах 15 и 20 мкг/кг, характерен для ААП III класса.

Выраженное увеличение ЭРП под действием НФ, выявленное в ходе 1-й фазы клинических испытаний, стало весомым обоснованием для дальнейшего изучения противоаритмического действия препарата у больных с фибрилляцией и трепетанием предсердий.



### Эффективность и безопасность ниферидила при медикаментозной кардиоверсии у больных с персистирующей формой фибрилляции и трепетания предсердий (2-я фаза клинических испытаний)

Целью исследования было изучение эффективности и безопасности внутривенного введения ниферидила в дозах 10, 20 и 30 мкг/кг массы тела для восстановления синусового ритма у больных персистирующей формой ФП и ТП.

В исследование включали пациентов в возрасте от 18 лет с персистирующей формой ФП и ТП (длительностью не менее 7 сут), подписавших информированное согласие на включение в исследование.

Критериями не включения были:

- постинфарктный кардиосклероз, хроническая сердечная недостаточность, первичные заболевания миокарда, фракция выброса левого желудочка <40% по данным эхокардиографического исследования;
- острый коронарный синдром;
- проаритмическое действие в анамнезе какого-либо антиаритмического препарата;
- документированная в анамнезе желудочковая тахикардия или фибрилляция желудочков;
- синкопальные состояния в анамнезе;
- имплантированный ЭКС;
- синдром удлиненного интервала Q–T в семейном анамнезе;
- отрицательные результаты предшествовавшей электрической и/или медикаментозной кардиоверсии;
- признаки дисфункции синусового узла (синусовая брадикардия с ЧСС <50 уд/мин, синоатриальные блокады), предшествовавшие возникновению аритмии, зафиксированные на ЭКГ в покое или во время суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру;
- нарушения АВ-проводимости, зафиксированные на ЭКГ в покое или во время суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру;
- длительность комплекса QRS >120 мс при отсутствии признаков предвозбуждения желудочков, удлинение интервала Q–T >440 мс;
- брадисистолическая форма ФП или ТП при средней ЧСС <60 уд/мин в дневное время или паузы >3 с в ночное время по данным суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру;
- клинически выраженный гипер- или гипотиреоз;
- гипокалиемия (<3,5 ммоль/л) и/или гипомagnesемия (<0,45 ммоль/л);
- клинически значимые повышения активности АлТ, АсТ и уровня креатинина в крови;
- признаки активного инфекционно-воспалительного процесса;
- бронхиальная астма;
- осложненный аллергологический анамнез.

В исследование включили 40 пациентов (28 мужчин и 12 женщин в возрасте 55,0±12,7 года) со средней продолжительностью текущего эпизода аритмии 4,9±4,5 мес (от 2 нед до 24 мес). Длительность заболевания, определяемая как время от первого возникновения ФП и/или ТП до момента включения в настоящее исследование, составила 38,8±73,4 мес (от 1 мес до 35 лет). 31 из 40 больных имели персистирующую форму ФП, 9 – ТП.

Клиническое обследование пациентов включало

проведение общеклинического и биохимического анализов крови, коагулограммы, общего анализа мочи, определение уровней ТТГ и свободного Т4 в сыворотке крови, регистрацию ЭКГ, холтеровское мониторирование ЭКГ (ХМЭКГ), трансторакальную и чреспищеводную эхокардиографию (для исключения тромбоза левого предсердия).

В качестве основного заболевания были диагностированы: артериальная гипертензия – у 32 (80%) пациентов, постмиокардитический кардиосклероз – у 2 (5,0%) пациентов, атеросклеротический стеноз устья аорты легкой степени – у 1 (2,5%) пациента, открытое овальное окно – у 3 (7,5%). У 4 (10%) пациентов по результатам обследования патологии сердечно-сосудистой системы выявлено не было и ФП/ТП расценена как идиопатическая.

У 3 пациентов был выявлен субклинический гипотиреоз (значения ТТГ 5,64 мМЕ/л, 4,72 и 4,86 мМЕ/л), у остальных пациентов уровень ТТГ и Т4 был в пределах нормальных значений.

По данным трансторакальной ЭхоКГ средний поперечный размер ЛП составил 4,26 см (от 2,9 до 5,3 см), а средний показатель ФВ ЛЖ – 58% (от 48 до 60%).

Всем больным любые ААП (в том числе β-адреноблокаторы и дигоксин) отменяли не менее чем за 5 периодов их полувыведения. В случае приема кордарона этот период составлял не менее 3 мес при условии нормализации длительности интервала Q–T на момент включения в исследование. Обязательным условием была адекватная антитромботическая терапия варфарином (уровень МНО = 2÷3) или низкомолекулярными гепаринами.

Для медикаментозной кардиоверсии использовали 0,1% раствор ниферидила – ампулы по 2 мл. Препарат разводили в 20 мл физиологического раствора. Введение ниферидила производили в условиях блока интенсивной терапии (БИТ) при непрерывном мониторировании ЭКГ в 12 отведениях (прикроватный монитор-станция) в течение 24 ч после введения препарата.

Процедура медикаментозной кардиоверсии состояла из трех последовательных этапов:

1) введение 0,1% раствора ниферидила в дозе 10 мкг на 1 кг массы тела внутривенно в течение 2–3 мин;

2) при отсутствии эффекта (восстановление синусового ритма не произошло) через 15 мин повторное внутривенное введение 0,1% раствора ниферидила в дозе 10 мкг на 1 кг массы тела (суммарная доза препарата 20 мкг/кг массы тела);

3) при отсутствии эффекта (восстановление синусового ритма не произошло) через 15 мин повторное внутривенное введение 0,1% раствора ниферидила в дозе 10 мкг на 1 кг массы тела (суммарная доза препарата 30 мкг/кг массы тела).

Условиями прекращения введения препарата на любом из вышеперечисленных этапов были:

- восстановление синусового ритма;
- снижение ЧСС <50 уд/мин;
- увеличение длительности интервала Q–T >500 мс;
- развитие проаритмических эффектов;
- любые изменения в состоянии пациента, требующие дополнительных медицинских вмешательств.

Перед введением каждой из представленных выше последовательных доз препарата и непо-

средственно после каждого введения проводилась регистрация ЭКГ в 12 отведениях для контроля за ЧСС, длительностью комплекса *QRS* и интервалов *Q-T*, *Q-Tc*. Оценку интервала *Q-T* проводили по методу Е.Лепешкина и Б.Суравичуса [45] в отведении, где данный интервал имел максимальное значение. Коррекцию интервала *Q-T* проводили по формуле Базетта.

Кроме того, проводили 24-часовое мониторирование ЭКГ в 12 отведениях по Холтеру (Astrocard, ЗАО «Медитек», РФ) с включением записи регистратора за 1 ч до начала введения препарата.

Эффективность препарата оценивали по факту восстановления синусового ритма в течение 24 ч после его внутривенного введения при постоянном мониторировании ЭКГ больного в палате интенсивной терапии. Через сутки после введения препарата проводили клинический и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, регистрацию ЭКГ.

Характерным следствием введения НФ при ФП служило изменение электрокардиографической картины предсердной аритмии: высокочастотная нерегулярная предсердная активность на протяжении 5 мин после первого введения препарата плавно снижала свою частоту, приобретая регулярность, т.е. трансформируясь в трепетание предсердий. За этим следовало либо купирование аритмии (рис. 8), либо персистирование ее во вновь приобретенной форме вплоть до последующих инфузий НФ.

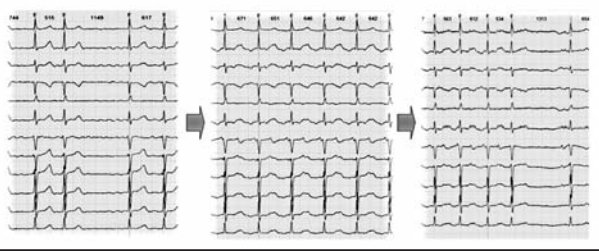
У всех пациентов действие препарата сопровождалось электрокардиографическим феноменом, зависимым от частоты aberrантного расширения отдельных комплексов или группы комплексов *QRS*, что наблюдалось на фоне тахистолической фибрилляции предсердий, а после восстановления синусового ритма – только в предсердных эктопических комплексах. Данное явление не относится к числу проаритмических эффектов препарата. Нередко купирование ФП/ТП происходило в ближайшее время после появления aberrантных комплексов на фоне введения НФ (рис. 9).

При используемой схеме введения препарата после введения 1 болюса ниферидила (10 мг/кг) синусовый ритм был восстановлен у 22 из 40 больных (т.е. у 55% включенных в исследование). В число этих 22 больных вошли 5 пациентов с ТП. Во всех случаях успешной кардиоверсии первым болюсом НФ восстановление синусового ритма произошло в течение 8,9±3,3 мин (от 5 до 15 мин) от начала введения препарата.

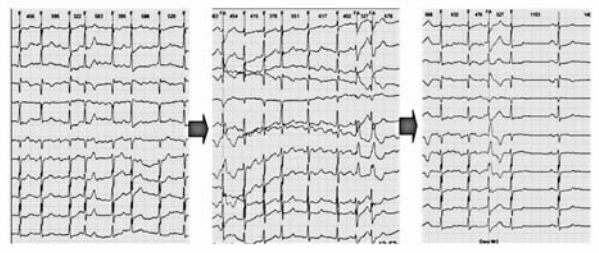
У 18 из 40 больных через 15 мин после первого введения НФ синусовый ритм не был восстановлен. У 2 из них дальнейшее введение препарата было лимитировано удлинением интервала *Q-T* до 600 мс на фоне сохраняющейся нормосистолической аритмии. Остальным 16 пациентам был введен второй болюс препарата в той же относительной дозе 10 мг/кг, что составило суммарную дозу 20 мг/кг. У 6 пациентов (т.е. у 15% от числа включенных в исследование), в том числе у оставшихся 4 пациентов с ТП, после введения 20 мг/кг НФ произошло купирование аритмии. Синусовый ритм у них был восстановлен в течение 25±3,6 мин (от 20 до 30 мин) от начала введения НФ.

Остальным 10 пациентам ниферидил был введен в третий раз в той же относительной дозе

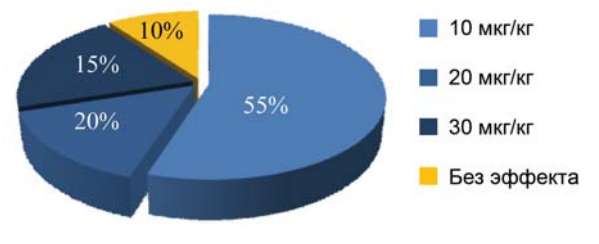
**Рис. 8. Трансформация фибрилляции предсердий в трепетание предсердий после введения ниферидила (10 мг/кг) с последующим купированием.**



**Рис. 9. Появление aberrантных комплексов на фоне введения НФ с последующим восстановлением синусового ритма.**



**Рис. 10. Эффективность ниферидила в дозах 10, 20 и 30 мг/кг.**



10 мг/кг, что составило с учетом двух предыдущих болюсов дозу 30 мг/кг. Синусовый ритм был восстановлен у 8 из них, т.е. у 20% от исходного числа включенных в исследование больных. У 5 пациентов восстановление синусового ритма произошло в срок от 41 до 83 мин после начала введения препарата. У 1 пациента – через 3 ч и 50 мин, у 1 – через 14 ч. Еще у одного пациента синусовый ритм восстановился через 24 ч; с учетом этого среднее время до купирования ФП в этой группе пациентов составило 353±516,6 мин.

Таким образом, при использовании трехэтапной схемы введения антиаритмического действие НФ было достигнуто у 36 из 40 пациентов и суммарная эффективность препарата составила 90%: у 55% пациентов для купирования аритмии понадобился 1 болюс препарата, у 15% – 2 болюса, у 20% пациентов синусовый ритм был восстановлен введением 3 болюсов НФ и у 10% купирования аритмии не произошло (рис. 10).

НФ оказался эффективен у 87% пациентов с ФП (27 из 31) и у всех 9 пациентов с ТП. Средние дозы НФ, которые потребовались для восстановления синусового ритма, составили 16±8 мг/кг, а время достижения эффекта равнялось 88±272 мин. В случаях когда ритм не был нормализован, введенные дозы препарата составили 20,3±11,5 мг/кг.

Среди пациентов, у которых синусовый ритм был восстановлен первым болюсом НФ, длитель-

Рис. 11. Суммарная эффективность и безопасность ниферидила в дозах 10–30 мкг/кг.

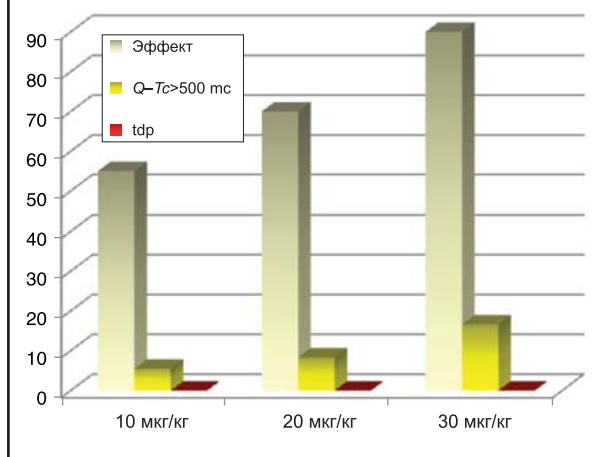
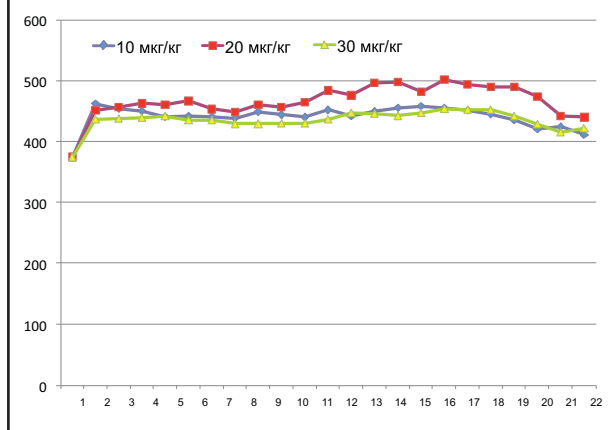


Рис. 12. Динамика средних значений интервала Q–T по данным ХМЭКГ после введения ниферидила в дозе 10, 20 и 30 мкг/кг.



ность интервала  $Q-T$ , измеренная в пределах 1 мин после устранения ФП и ТП, составила  $470 \pm 41$  мс, продолжительность  $Q-Tc$  –  $462 \pm 40$  мс, а длительность  $QTU$  и  $QTUc$  –  $476 \pm 49$  и  $466 \pm 41$  мс соответственно. Шестеро пациентов, у которых аритмия купировалась после введения 20 мкг/кг ниферидила, интервалы  $Q-T$  и  $Q-Tc$  составили соответственно  $463 \pm 27$  мс, и  $465 \pm 47$  мс. В 8 случаях, потребовавших для восстановления синусового ритма введения 30 мкг/кг НФ, продолжительность  $Q-T$  сразу после купирования аритмии составила  $449 \pm 30$  мс, а длительность  $Q-Tc$  –  $474 \pm 46$  мс. Общая доля пациентов, у которых удлинение  $Q-Tc$  после устранения аритмии ниферидилом превысило потенциально опасную величину 500 мс, составила 16,7% (6 из 36): у 2 пациентов после восстановления ритма введением одного болюса НФ, что составило 5,5% от всех пациентов с эффективной кардиоверсией; у 1 пациента после введения 20 мкг/кг НФ, что вместе с 2 пациентами, которым для устранения аритмии потребовалось 10 мкг/кг препарата, составило 8,3%, и 3 пациентов, у которых МА была купирована НФ в дозе 30 мкг/кг (рис. 11).

У пациентов с восстановленным синусовым ритмом был проведен почасовой анализ динамики средних значений интервала  $Q-T$  по данным 12-канального ХМЭКГ. Максимальная продолжительность интервала  $Q-T$  за сутки составила

$502 \pm 60$  мс, а  $Q-Tc$  –  $544 \pm 50$  мс. После восстановления синусового ритма у 36 пациентов средние значения  $Q-T$  и  $Q-Tc$  составили  $498 \pm 53$  и  $534 \pm 43$  мс соответственно.

Как видно на рис. 12, после первоначального увеличения длительности  $Q-T$  на фоне введения НФ в дальнейшем его величина оставалась стабильной в течение суток, в основном не превышая 500 мс. Отмечалось удлинение длительности  $Q-T$  в ночное время, связанное со снижением ЧСС.

Эпизоды синусовой брадикардии с ЧСС менее 50 уд/мин в дневное время по данным ХМЭКГ наблюдались у 16 (44%) пациентов, в том числе у 11 пациентов с эффектом от первого болюса (10 мкг/кг), у 4 – из тех, кому было введено 20 мкг/кг НФ и у 1 пациента с синусовым ритмом, восстановленным введением 30 мкг/кг НФ. Во всех случаях синусовая брадикардия была гемодинамически незначимой, пациентами не ощущалась и коррекции не требовала. У 3 пациентов после введения НФ в дозе 10 мкг/кг были зарегистрированы неустойчивые пробежки желудочковой тахикардии, а у 1 пациента – короткий эпизод ускоренного идиовентрикулярного ритма. Ни в одном случае не было зарегистрировано желудочковой тахикардии типа  $tdp$  – проаритмического эффекта, характерного для ААП III класса (см. рис. 11).

## Обсуждение

При персистирующей ФП и ТП электрическая кардиоверсия (ЭКВ) все еще остается «золотым стандартом» как метод восстановления синусового ритма. Частота достижения ее эффективности у данной категории больных может превышать 90% и существенно зависит при этом от длительности непрерывного течения аритмии, определяющей степень выраженности электрического ремоделирования миокарда предсердий. Последнее является важнейшим фактором отрицательного влияния на успех кардиоверсии. Риски, связанные с ЭКВ, обусловлены электротравмой органов грудной клетки, прежде всего сердца. Кроме того, выполнение процедуры требует наркоза, не лишено вероятности известных серьезных осложнений. Для многих пациентов нелегко решиться на эту процедуру.

До недавнего времени медикаментозная кардиоверсия (МКВ) при персистирующем течении ФП/ТП воспринималась как весьма призрачная альтернатива ЭКВ в основном из-за существенно более низких показателей эффективности используемых в этих целях ААП. Кроме того, при невысокой эффективности всегда существует риск опасного проаритмического действия ААП. Вместе с тем при таком способе купирования персистирующей ФП/ТП отсутствует повреждающий фактор электрической травмы сердца. Видимо, с этим связан тот факт, что после лекарственного восстановления синусового ритма нормализация насосной функции предсердий происходит в несколько раз быстрее, чем после ЭКВ, что имеет самостоятельное клиническое значение [13]. Но помимо этого, исчезновение стаза крови в предсердиях как одной из составляющих триады Вирхова может оказывать положительное влияние на снижение риска развития постконверсионных (нормализационных) тромбоемболий.

В последние годы особое внимание исследователей привлекают ААП III класса как средства ку-



пирования ФП и ТП, а также профилактики их рецидивов. Интерес к этим средствам обусловлен в частности тем, что увеличение длительности ЭРП (действие, характерное для препаратов этого класса) обратно тому, что происходит в ходе процессов электрического ремоделирования миокарда предсердий при персистировании ФП [46, 47]. Увеличение ЭРП как одного из сомножителей в формуле длины волны возбуждения приводит к увеличению последней. При увеличении контура циркулирующей волны возбуждения до размеров, которые не в состоянии уложиться в ограниченной массе предсердного миокарда, дальнейшее течение аритмий становится невозможным, и она прекращается. Таков основной механизм проаритмического действия препаратов этого класса при ФП и ТП.

Следует подчеркнуть, что в последней версии Европейских рекомендаций по обследованию и лечению больных с ФП, принятой в сентябре 2010 г. на конгрессе кардиологов в Стокгольме, отсутствуют какие бы то ни было сформулированные предложения по проведению МКВ при персистирующей (длящейся >7 дней) ФП. Столь зыбкими, видимо, представляются европейским экспертам шансы успеха применения ААП у этой категории больных. Рекомендации проведения МКВ сформулированы в этом документе лишь для недавно (<48 ч) возникшей ФП. Вместе с тем в американо-европейских (АНА/АСС/ЕСС) рекомендациях 2006 г. предложения по проведению МКВ при персистирующей ФП существуют. В них значатся ААП III класса дофетилид, ибутилид и амиодарон [48]. Однако эффективность этих препаратов при персистирующем течении ФП/ТП далека от тех результатов, которые могут быть достигнуты с помощью ЭКВ. Амиодарон устраняет персистирующую ФП не более чем в 50% случаев [49], ибутилид – в 31–51% [14, 50–53], а максимальный показатель эффективности дофетилида у этой категории больных составляет 61% [49, 54–57].

Развитие tdp реже всего (в пределах 0,5%) наблюдается при применении амиодарона. Это опасное нежелательное явление развивается в 1,6–8,3% случаев при использовании ибутилида и у 3–13% больных как результат действия дофетилида [14, 49, 50, 55].

Опыт применения первого отечественного ААП III класса нибентана как средства МКВ при персистирующем течении ФП/ТП демонстрирует существенно более высокую его эффективность по сравнению с любыми другими ААП при их использовании в этих же целях. Нибентан обрывает течение персистирующей ФП у 50–80% больных, и при таком же характере течения ТП синусовый ритм удается восстановить в 80–100% случаев [27–35]. При строгом соблюдении режима дозирования и рекомендуемой схемы применения этого препарата частота развития tdp находится в пределах 3% [26, 27, 29–35].

Результаты нашей работы, по-видимому, могут рассматриваться как начало нового перспективного этапа развития проблемы МКВ у больных с персистирующей ФП. При использовании у этой категории больных трехэтапной схемы введения ниферидила в диапазоне доз от 10 до 30 мг/кг впервые удалось восстановить синусовый ритм в 90% случаев, что поставило достигнутый результат в один ряд с известными возможностями ЭКВ.

Здесь важно отметить, что сроки текущего эпизода аритмии у леченных нами больных превышали таковые в упоминавшихся выше исследованиях с применением других ААП III класса. А это значит, что степень выраженности электрического ремоделирования предсердного миокарда у пациентов, участвовавших в настоящем исследовании, была выше, а исходные шансы лекарственного восстановления нормального ритма сердца – ниже.

Введение НФ ожидаемо сопровождалось приростом длительности интервалов  $Q-T$  и  $Q-Tc$ . При этом удлинении интервала  $Q-Tc$  превысило потенциально опасную величину (500 мс) в относительно небольшом проценте случаев (от 5,5% при дозе 10 мг/кг до 16,7% при дозе 30 мг/кг). Наиболее важно то, что динамика значений интервала  $Q-T$  ни в одном случае не сопровождалась развитием проаритмического эффекта в виде тахикардии типа tdp. Эти клинические результаты согласуются с представленными выше данными экспериментальных исследований о существенно большем влиянии НФ на процессы реполяризации предсердий, чем желудочков, и подобный характер действия препарата может служить основой безопасности его применения с точки зрения риска аритмогенных эффектов. Наш первый клинический опыт служит первым тому подтверждением.

## Выводы

1. Новый ААП III класса ниферидил при использовании трехэтапной схемы в/в введения с увеличением дозы от 10 до 30 мг/кг обладает высокой эффективностью (90%) в восстановлении синусового ритма у больных с персистирующей формой течения ФП и ТП.

2. Ниферидил вызывает умеренное удлинение интервалов  $Q-T$  и  $Q-Tc$ .

3. Препарат в дозах от 10 до 30 мг/кг массы тела не вызывает клинически значимых побочных эффектов, в том числе проаритмического действия, и хорошо переносится.

## Литература

1. Van Gelder IC, Hagens VE, Bosker HA et al. A comparison of rate control and rhythm control in patients with recurrent persistent atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2002; 347: 1834–40.
2. Gronefeld GC, Lilienthal J, Kuck KH et al. Impact of rate versus rhythm control on quality of life in patients with persistent atrial fibrillation. Results from a prospective randomized study. *Eur Heart J* 2003; 24: 1430–6.
3. Carlsson J, Miketic S, Windeler J et al. Randomized trial of rate-control versus rhythm-control in persistent atrial fibrillation: the Strategies of Treatment of Atrial Fibrillation (STAF) study. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1690–6.
4. Opolski G, Torbicki A, Kosior DA et al. Rate control vs. rhythm control in patients with nonvalvular persistent atrial fibrillation: the results of the Polish How to Treat Chronic Atrial Fibrillation (HOT CAFE) Study. *Chest* 2004; 126: 476–86.
5. Wyse DG, Waldo AL, DiMarco JP et al. A comparison of rate control and rhythm control in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2002; 347: 1825–33.
6. Pelargonio G, Prysowsky EN. Rate versus rhythm control in the management of patients with atrial fibrillation. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2005; 2: 514–21.



7. Hobnloser SH, Kuck KH, Lilienthal J. Rhythm or rate control in atrial fibrillation—Pharmacological Intervention in Atrial Fibrillation (PIAF): a randomised trial. *Lancet* 2000; 356: 1789–94.
8. Hagens VE, Ranbor AV, Van SE et al. Effect of rate or rhythm control on quality of life in persistent atrial fibrillation. Results from the Rate Control Versus Electrical Cardioversion (RACE) Study. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 241–7.
9. Cooper HA, Bloomfield DA, Bush DE et al. Relation between achieved heart rate and outcomes in patients with atrial fibrillation [from the Atrial Fibrillation Follow-up Investigation of Rhythm (Management AFFIRM) Study]. *Am J Cardiol* 2004; 93: 1247–53.
10. Wyse DG. Rate control vs rhythm control strategies in atrial fibrillation. *Prog Cardiovasc Dis* 2005; 48: 125–38.
11. De Demus S, Sanoski C, Carlsson J et al. Rate vs rhythm control in patients with atrial fibrillation: a meta-analysis. *Arch Intern Med* 2005; 165: 258–62.
12. Testa L, Biondi-Zoccai G, Dello Russo A et al. Rate-control vs. rhythm-control in patients with atrial fibrillation: a meta-analysis. *Eur Heart J* 2005; 26: 2000–6.
13. McNamara RL, Tamariz IJ, Segal JB et al. Management of Atrial Fibrillation: Review of the evidence for the role of pharmacologic therapy, electrical cardioversion and echocardiography. *Ann Intern Med* 2003; 139: 1018–33.
14. Stambler BS, Mark A, Wood KA, Ellenbogen et al. The Ibutilide Repeat Dose Study Investigators. Efficacy and Safety of Repeated Intravenous Doses of Ibutilide for Rapid Conversion of Atrial Flutter or Fibrillation. *Circulation* 1996; 94: 1613–21.
15. Hersi A, Wyse DG. Management of atrial fibrillation. *Current Probl Cardiol* 2005; 30: 175–234.
16. Глушков Р.Г., Голицын С.П., Дородникова Е.В. и др. Первый оригинальный отечественный антиаритмик III класса нибентан. *Вестн. РАМН*. 1998; 11: 38–44.
17. Майков Е.Б., Крутанов И.Б., Бакалов С.А. и др. Первый опыт изучения электрофизиологических и антиаритмических эффектов препарата нибентан у больных пароксизмальными тахиаритмиями. *Кардиология*. 1995; 5: 10–8.
18. Руда М.Я., Меркулова И.Н., Тарарак А.Э. и др. Клиническое изучение нового антиаритмического препарата III класса нибентана. Сообщение 1: Исследование переносимости. *Кардиология*. 1995; 9: 4–15.
19. Майков Е.Б., Крутанов И.Б., Бакалов С.А. и др. Электрофизиологические и антиаритмические эффекты нового антиаритмического препарата III класса нибентана у больных пароксизмальными формами нарушений ритма сердца. *Вестн. аритмологии*. 1995; 4: 152.
20. Tararak AE, Merkulova IN, Ruda MY. Nibentan. New typical class III antiarrhythmic agent. *J Molec and Cell Cardiol* 1995; 27: 193 (abstr).
21. Майков Е.Б., Крутанов И.Б., Бакалов С.А. и др. Электрофизиологические и антиаритмические эффекты нового антиаритмического препарата III класса нибентана у больных пароксизмальными наджелудочковыми тахиаритмиями. *Кардиология*. 1996; 6: 38–51.
22. Golitsyn S, Krutanov I, Bakalov S et al. Electrophysiologic and antiarrhythmic effects of nibentan new class III agent in patients with paroxysmal tachyarrhythmias. *Eur Heart J* 1996; 17 (Abstr. Suppl): 389.
23. Руда М.Я., Меркулова И.Н., Тарарак А.Э. и др. Клиническое изучение нового антиаритмического препарата III класса нибентана. Сообщение 2: Эффективность у больных суправентрикулярными нарушениями ритма сердца. *Кардиология*. 1996; 6: 28–37.
24. Tararak AE, Merkulova IN, Ruda MYa. Efficacy of new class III antiarrhythmic agent nibentan in patients with supraventricular arrhythmias. *J Molec and Cell Cardiol* 1996; 28 (5): 193 (Abstr).
25. Майков Е.Б., Крутанов И.Б., Бакалов С.А. и др. Электрофизиологические и антиаритмические эффекты нового антиаритмического препарата III класса нибентана у больных пароксизмальной желудочковой тахикардией. *Кардиология*. 1997; 4: 16–27.
26. Меркулова И.Н., Тарарак А.Э., Коткин К.Л. и др. Клиническое изучение нового антиаритмического препарата III класса нибентана. Сообщение 3: Эффективность нибентана у больных желудочковыми нарушениями ритма, аритмогенные эффекты. *Кардиология*. 1997; 4: 3–15.
27. Tararak AE, Merkulova IN, Ruda MYa. Efficacy and safety of new class III antiarrhythmic agent nibentan in patients with atrial flutter and fibrillation. *Eur Heart J* 1995; 16: 106 (Abstr).
28. Майков Е.Б., Бреговдзе И.Н., Соколов С.Ф. и др. Эффективность нибентана в целях восстановления синусового ритма у больных с хронической (персистирующей) формой фибрилляции предсердий. Тез. материалов Рос. нац. конгресса кардиологов «Российская кардиология: от центра к региону». 2004; с. 298.
29. Бреговдзе И.Н., Майков Е.Б., Соколов С.Ф. и др. Медикаментозная кардиоверсия нибентаном у больных хронической (персистирующей) формой фибрилляции предсердий. Тез. материалов конкурса Всерос. науч.-практ. конференции молодых ученых «Актуальные проблемы кардиологии». 2005; с. 31.
30. Бреговдзе И.Н., Майков Е.Б., Соколов С.Ф. и др. Эффективность и безопасность нибентана в/в при медикаментозной кардиоверсии у больных хронической формой фибрилляции предсердий. Тез. докл. XII Рос. нац. конгресса «Человек и Лекарство». 2005; с. 329.
31. Майков Е.Б., Бреговдзе И.Н., Соколов С.Ф. и др. Антиаритмическая эффективность препарата III класса нибентана при различных формах фибрилляции предсердий. Тез. материалов I Всерос. съезда аритмологов. 2005; с. 143.
32. Бреговдзе И.Н., Майков Е.Б., Соколов С.Ф. и др. Эффективность нибентана при медикаментозной кардиоверсии у больных хронической формой фибрилляции и трепетания предсердий и пути снижения проаритмических эффектов. Тез. материалов Всерос. конференции «Неотложные состояния в кардиологии». 2006; с. 24.
33. Бреговдзе И.Н., Майков Е.Б., Соколов С.Ф. и др. Предикторы эффективности медикаментозной кардиоверсии нибентаном у больных хронической (персистирующей) формой фибрилляции предсердий. Тез. материалов VII Международного конгресса по электростимуляции и клинической электрофизиологии сердца «Кардиостим». 2006; с. 46.
34. Бреговдзе И.Н., Майков Е.Б., Бильдинов О.А. и др. Эффективность и безопасность нибентана при медикаментозной кардиоверсии у больных персистирующей формой фибрилляции и трепетания предсердий: роль ограничения доз препарата и применения магния сульфата. *Кардиология*. 2007; 3: 48–55.
35. Bregvadze IN, Maykov EB, Sokolov SF. The efficacy and safety of new class III class antiarrhythmic drug nibentan for cardioversion in patients with persistent atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2006; 27 (Abstr. Suppl): 887.

36. Roy D, Pratt CM, Torp-Pedersen C et al. Vernakalant hydrochloride for rapid conversion of atrial fibrillation: a phase 3, randomized, placebo-controlled trial. *Circulation* 2008; 117: 1518–25.
37. Roy D, Pratt C, Juul-Moller S et al. Efficacy and tolerance of RSD1235 in the treatment of atrial fibrillation or atrial flutter: results of a phase III, randomized, placebo-controlled, multicenter trial (Abstr.). *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 10A.
38. Kowey PR, Roy D, Pratt CM et al. Efficacy and safety of vernakalant hydrochloride injection for the treatment of atrial fibrillation after valvular or coronary artery bypass surgery (Abstr. 2860). *Circulation* 2007; 116: II636–7.
39. Waldo AA perspective on antiarrhythmic drug therapy to treat atrial fibrillation: there remains an unmet need. *Am Heart J* 2006; 151: 771–8.
40. Savelieva I, Camm J. Antiarrhythmic drug therapy for atrial fibrillation: current antiarrhythmic drugs, investigational agent and innovative approaches. *Europace* 2008; 10: 647–65.
41. Резник АВ, Федоров ВВ, Кокос Ю.М. и др. Ионные механизмы кардиотропного действия препарата III класса PГ-2. *Кардиология*. 2003; 10: 76–82.
42. Федоров ВВ, Иванова АИ, Глухов АВ. и др. Холинолитическая активность антиаритмического препарата III класса PГ-2. *Кардиология*. 2004; 7: 62–6.
43. Федоров ВВ, Розеництраух ЛВ, Резник АВ. и др. Антиаритмическая активность препарата III класса PГ-2 на ваготонической модели фибрилляции предсердий. *Кардиология*. 2004; 11: 66–74.
44. Розеництраух ЛВ, Федоров ВВ, Резник АВ. и др. Экспериментальное электрофизиологическое исследование препарата III класса PГ-2. *Кардиология*. 2003; 9: 56–64.
45. Lepeschkin E, Surawicz B. The measurement of the QT interval of the electrocardiogram. *Circulation* 1952; 6: 378–88.
46. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R et al. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 1995; 92: 1954–68.
47. Dobrev D, Ravens U. Remodeling of cardiomyocytes ion channels in human atrial fibrillation. *Basic Res Cardiol* 2003; 98: 137–48.
48. Fuster V, Ryden LE, Cannom DS et al. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for management of patients with atrial fibrillation: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2001 Guidelines for Management of Patients with Atrial Fibrillation). *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: e149–246.
49. Bianconi L, Castro A, Dinelli M et al. Comparison of intravenously administered dofetilide versus amiodarone in the acute termination of atrial fibrillation and flutter. A multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Eur Heart J* 2000; 21: 1265–73.
50. Ellenbogen KA, Stambler BS, Wood MA, Sager PT, Wesley RC et al. Efficacy of intravenous ibutilide for rapid termination of atrial fibrillation and atrial flutter: a dose-response study. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28: 130–6.
51. Abi-Mansur, Carberry PA, McCowan RJ et al. and Study Investigators. Conversion efficacy and safety of repeated doses of ibutilide in patients with atrial flutter and fibrillation. *Am Heart J* 1998; 136 (4): 632–41.
52. Volgman AS, Carberry PA, Stambler BS et al. Conversion efficacy and safety of intravenous ibutilide compared with intravenous procainamide in patients with atrial flutter and fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 1414–8.
53. Vos MA, Golitsyn SR, Stangl K et al. Superiority of ibutilide (a new class III agent) over DL-sotalol in converting atrial flutter and atrial fibrillation. The Ibutilide/Sotalol Comparator Study Group. *Heart* 1998; 79 (6): 568–75.
54. Falk RH, Pollak A, Singh S et al. Intravenous dofetilide, a class III antiarrhythmic agent, for the termination of sustained atrial fibrillation or flutter. Intravenous Dofetilide Investigators. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 385–90.
55. Norgaard BL, Wachttell K, Christensen PD et al. Efficacy and safety of intravenously administered dofetilide in acute termination of atrial fibrillation and flutter: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Danish Dofetilide in Atrial Fibrillation and Flutter Study Group. *Am Heart J* 1999; 137: 1062–9.
56. Pedersen OD, Bagger H, Keller N et al. Efficacy of dofetilide in the treatment of atrial fibrillation-flutter in patients with reduced left ventricular function. A Danish Investigation of Arrhythmia and Mortality on Dofetilide (DIAMOND) substudy. *Circulation* 2001; 104: 292–6.
57. Lindeboon JE, Kingma JH, Crjins HJ et al. Efficacy and safety of intravenous dofetilide for rapid termination of atrial fibrillation and atrial flutter. *Am J Cardiol* 2000; 85: 1031–3.

———— \* ————

В.З.Ланкин<sup>1</sup>, Г.Г.Коновалова<sup>1</sup>, А.К.Тихазе<sup>1</sup>, Л.В.Недосугова<sup>2</sup>

## Глюкоза инициирует атерогенную окислительную модификацию липопротеидов низкой плотности *in vitro* и у больных сахарным диабетом типа 2

<sup>1</sup>Лаборатория биохимии свободнорадикальных процессов Института клинической кардиологии им.

А.Л.Мясникова, Москва

<sup>2</sup>Первый МГМУ им. И.М.Сеченова

### Резюме

**Цель исследования** – изучить влияние глюкозы на свободнорадикальное окисление липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) плазмы крови человека *in vitro* и *in vivo*.

**Материалы и методы.** Исследовали влияние глюкозы в диапазоне концентраций 12,5–100 мМ на кинетические параметры зависящего от меди свободнорадикального окисления ЛПНП плазмы крови здоровых доноров. Анализировали уровень продуктов свободнорадикального окисления (липогидропероксиды, малонилдальдегид) в ЛПНП 130 больных сахарным диабетом (СД) типа 2 в период декомпенсации углеводного обмена и после курсов сахароснижающей терапии с использованием производных сульфанилмочевины и метформина.

**Результаты.** Установлено, что интенсификация процесса окисления ЛПНП вызвана образованием радикальных интермедиатов автоокисления глюкозы при генерировании активных форм кислорода в присутствии ионов металлов переменной валентности. Обнаружено, что нормализация уровня глюкозы в крови больных СД типа 2 в процессе сахароснижающей терапии сопровождается существенным снижением окисленности ЛПНП. При лечении метформином, способным утилизировать метилглиоксаль, окисление ЛПНП у больных СД *in vivo* ингибируется в еще большей степени, вероятно, вследствие снижения зависящего от метилглиоксаля генерирования супероксидных анион-радикалов, обнаруженного нами ранее.

**Ключевые слова:** окислительный стресс, карбонильный стресс, модифицированные липопротеиды низкой плотности, глюкоза, липогидропероксиды, малоновый дальдегид, метилглиоксаль, метформин.

V.Z.Lankin<sup>1</sup>, G.G.Kononova<sup>1</sup>, A.K.Tikhaze<sup>1</sup>, L.V.Nedosugova<sup>2</sup>

### The initiation by glucose of atherogenic oxidative modification of low density lipoproteins *in vitro* and in patients with type 2 diabetes

<sup>1</sup>Free Radical Research Laboratory of Russian Cardiology Research Complex, Moscow

<sup>2</sup>The First Moscow Medical Sechenov's University, Moscow

### Summary

**Aim.** To investigate the influence of glucose on the free radical oxidation of low density lipoproteins (LDL) of human blood plasma *in vitro* and *in vivo*.

**Materials and methods.** We investigate the influence of different glucose concentrations (12.5–100 mM) on the kinetical parameters of copper-dependent free radical oxidation of human LDL from blood plasma of healthy donors. We measure also the levels of lipoperoxidation products (lipohydroperoxides, malonyldialdehyde) in the LDL samples from 130 patients with type 2 diabetes in the period carbohydrate metabolism decompensation as well as after sugarlowered treatment with using sulfonylurea preparations and metformin.

**Results.** On the base investigation of kinetic parameters of LDL peroxidation it was stated that intensification of this process in the conditions of our experiments is caused by formation of free radical intermediates of glucose autoxidation during active oxygen species generation in the presence of metal ions with variable valence. It was found that glucose level normalization in the blood of patients with type 2 diabetes during therapy accompanied by significant decreasing of LDL oxidizing. During therapy with sugar-lowering drug metformin which utilize methylglyoxal the LDL peroxidation from blood diabetes mellitus *in vivo* inhibited in more higher degree probably in consequence of decreasing of methylglyoxal-dependent generation of superoxide anion radicals as was shown by us early.

**Key words:** oxidative stress, carbonyl stress, modified low density lipoproteins, glucose, lipohydroperoxides, malondialdehyde, methylglyoxal, metformin.

### Сведения об авторах

Ланкин Вадим Зиновьевич – д-р. биол. наук, проф., руководитель лаборатории биохимии свободнорадикальных процессов Института клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова. Тел.: 414-65-11. E-mail: lankin@cardio.ru

Коновалова Галина Георгиевна – канд. биол. наук. Первый МГМУ им. И.М.Сеченова

Тихазе Алла Карловна – д-р. мед. наук, проф. Первый МГМУ им. И.М.Сеченова. E-mail: tikhaze@cardio.ru

Недосугова Людмила Викторовна – д-р. мед. наук, проф. Первый МГМУ им. И.М.Сеченова. E-mail: rogulin@rambler.ru



Окислительно модифицированные липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) обладают большей атерогенностью (способностью накапливаться в клетках стенки сосудов), чем интактные частицы ЛПНП [1–6]. Известно, что вызывать модификацию белкового компонента (апопротеина В-100) частиц ЛПНП могут природные дикарбонилы (малонилдиальдегид, МДА), накапливающиеся в процессе окислительного стресса при атеросклерозе (1–3,5) и в процессе карбонильного стресса при сахарном диабете – СД (глиоксаль, метилглиоксаль) [5, 7, 8]. При взаимодействии альдегидов с концевыми аминоклассами белков происходит образование меж- и внутримолекулярных сшивок (шиффовы основания) в молекулах белков, включая апоВ-100 [5, 9, 10]. Модифицирующее белки действие глюкозы при диабетической гипергликемии может осуществляться двумя независимыми способами:

- путем гликирования – прямого присоединения молекулы глюкозы при взаимодействии альдегидной группы альдозной формы углевода с аминоклассами белка [8, 11];
- путем реакции аминоклассов белков с дикарбонилами, образующимися вследствие глиоксилирования – автоокисления глюкозы или фрагментации триозофосфатов [8, 12, 13].

Резкое накопление дикарбониллов, в частности метилглиоксала, в крови больных при СД [8] способствует развитию карбонильного стресса, причем, как установлено нами ранее, при реакции метилглиоксала с аминоклассами концевых аминоклассов белков может происходить генерирование супероксидных анион-радикалов [14], что должно приводить к еще большей интенсификации свободнорадикальных реакций, включая автоокисление глюкозы. Исходя из вышесказанного логично предположить, что увеличение содержания глюкозы в крови при диабетической гипергликемии может способствовать интенсификации свободнорадикального окисления ЛПНП с их последующей атерогенной модификацией. Тем не менее сведения о влиянии глюкозы на свободнорадикальное окисление ЛПНП в доступной литературе крайне немногочисленны и неоднозначны [13]. В связи с этим целью настоящей работы стало исследование влияния различных концентраций глюкозы на свободнорадикальное окисление ЛПНП плазмы крови человека, а также исследование степени окисленности ЛПНП, изолированных из плазмы крови больных СД типа 2 в период декомпенсации углеводного обмена и в процессе сахароснижающей терапии.

### Материалы и методы

Для выделения ЛПНП использовали плазму венозной крови здоровых доноров (в случае модельных экспериментов) или пациентов с СД типа 2, взятой натощак в присутствии 1 мг/мл ЭДТА в качестве антикоагулянта и антиоксиданта. Плазму подвергали двукратному центрифугированию в градиенте плотности NaBr в течение 2 ч при 41 000 об/мин в угловом роторе 50Ti при 4°C в рефрижераторной ультрацентрифуге Beckman L-8 (США) [15], а затем диализу при 4°C в течение 16 ч против 50 мМ фосфатного буфера pH 7,4. Содержание белка в ЛПНП определяли по методу Лоури и ЛПНП разбавляли до 50 мкг белка/мл

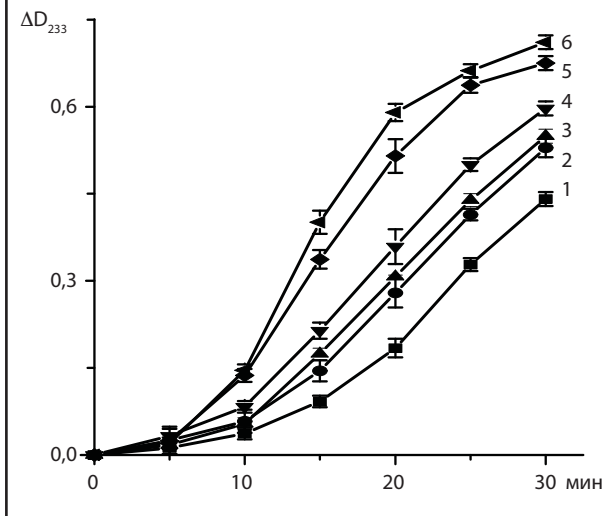
раствором, содержащим 0,154М NaCl в 50 мМ фосфатном буфере pH 7,4, после чего в пробы вносили различные количества (от 12,5 до 100 мМ) глюкозы. Окисление ЛПНП инициировали при 37°C внесением 30 мкМ CuSO<sub>4</sub>, после чего через фиксированные интервалы времени измеряли накопление липогидропероксидов (конъюгированных диенов) при 233 нм (D223) на спектрофотометре Hitachi 220А (Япония) [16, 17]. По результатам исследований строили кинетические кривые окисления ЛПНП, из которых определяли продолжительность лаг-фазы окисления (период индукции,  $\tau$ ) и величину максимальной скорости окисления ( $V_{max}$ ) [17]. В отдельном опыте в инкубационную среду вносили 30 мкг/мл лиофилизированной супероксиддисмутазы (СОД), 50 мкг/мл лиофилизированной каталазы или 50 мМ бутилированного гидрокситолуола (ВНТ). Содержание липидных гидропероксидов (LOOH) в ЛПНП определяли специфичным колориметрическим методом, используя реакцию окисления ионов Fe<sup>2+</sup> в присутствии органических гидропероксидов и анализируя содержание образованного стехиометрически Fe<sup>3+</sup> при помощи цветной реакции с ксиленолоранжем при 560 нм на спектрофотометре Hitachi 557 (Япония) до и после специфичного восстановления органических (липидных) гидропероксидов трифенилфосфином [18, 19]. Содержание вторичных продуктов свободнорадикального окисления (преимущественно МДА) в плазме крови определяли по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой в кислой среде, как описано ранее [17, 20], анализируя количество образовавшегося триметинового комплекса на спектрофотометре Hitachi 220А при 532 нм [17]. Содержание общего холестерина в плазме крови определяли при помощи ферментативного метода на химическом анализаторе FP-900 LabSystems Oy с использованием тест-наборов фирмы Boehringer. Уровень гликированного гемоглобина (HbA<sub>1c</sub>) определяли на анализаторе Bayer DCA-2000 методом латексного ингибирования иммуноагглютинации с помощью Hemoglobin A<sub>1c</sub> Reagent Kit фирмы Bayer (Германия).

В первое клиническое исследование были включены 30 больных СД типа 2 с длительностью заболевания около 5 лет (15 мужчин/15 женщин, 57±10 лет) в период декомпенсации углеводного обмена. Больные в течение 2 мес получали стандартную сахароснижающую терапию, включающую препараты сульфанилмочевины (глибенкламид – манинил фирмы Berlin-Chemie в суточной дозе 3,5–10,5 мг или гликлазид – диабетон фирмы Servier в суточной дозе 80–240 мг). Контрольную группу составили 7 мужчин (45±5 лет) без признаков ишемической болезни сердца (ИБС) и гиперхолестеринемии, а также без каких-либо клинических проявлений СД.

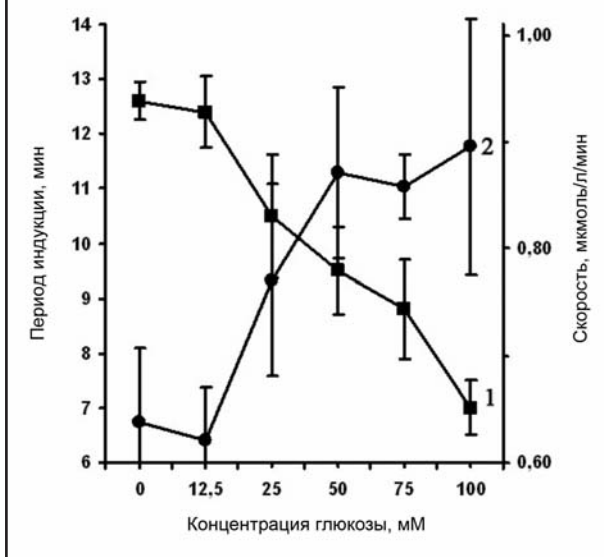
Во второе клиническое исследование были включены 70 пациентов, страдающих СД типа 2 (31 мужчина/39 женщин, 57±9 лет), из которых 40 со впервые выявленным СД не получали на момент включения в исследование сахароснижающей терапии. Остальные 30 пациентов с длительностью СД более 5 лет получали до исследования препараты сульфанилмочевины (манинил или диабетон). Все включенные в исследование пациенты до его начала находились в состоянии декомпенсации углеводного обмена. Нормализации



**Рис. 1.** Кинетика инициированного медью свободнорадикального окисления ЛПНП плазмы крови человека (практически здоровые доноры) в отсутствие (1) и в присутствии различных концентраций глюкозы: 12,5 мМ (2), 25 мМ (3), 50 мМ (4), 75 мМ (5), 100 мМ (6).



**Рис. 2.** Влияние экзогенной глюкозы на изменение кинетических параметров инициированного медью свободнорадикального окисления ЛПНП плазмы крови человека: 1) продолжительность периода индукции –  $\tau$ ; 2) максимальная скорость окисления –  $V_{max}$ .



углеводного обмена у пациентов со впервые выявленным СД достигали с помощью метформина (глюкофаж фирмы Nyscomed в суточной дозе 1500–2500 мг). У пациентов с длительностью течения заболевания более 5 лет компенсации углеводного обмена добивались путем коррекции дозы препаратов сульфанилмочевины. Определение указанных выше биохимических параметров проводили до начала исследования и через 2 мес после достижения удовлетворительной компенсации углеводного обмена в соответствии с критериями European Diabetes Police Group (достижение уровня  $HbA_{1c} < 7\%$ ).

Кроме того, было проведено клиническое исследование, в которое были включены 30 пациентов (15 мужчин/15 женщин,  $56 \pm 10$  лет), в течение 5–6 лет страдающих СД типа 2 и до начала исследования находившихся в состоянии декомпенса-

ции углеводного обмена. Больных рандомизировали на 2 группы, из которых 1-я (20 пациентов) получала в течение 2 мес стандартную сахароснижающую терапию (препараты сульфанилмочевины в виде монотерапии или в комбинации с метформинем), а вторая (10 пациентов) дополнительно к сахароснижающей терапии получала синтетический антиоксидант пробукол (Alcolex фирмы ISN Hungaty 0,5 г 2 раза в сутки). Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ STATISTICA 6.0. Все использованные в работе химреактивы и ферментные препараты были получены от Sigma (США).

### Результаты и их обсуждение

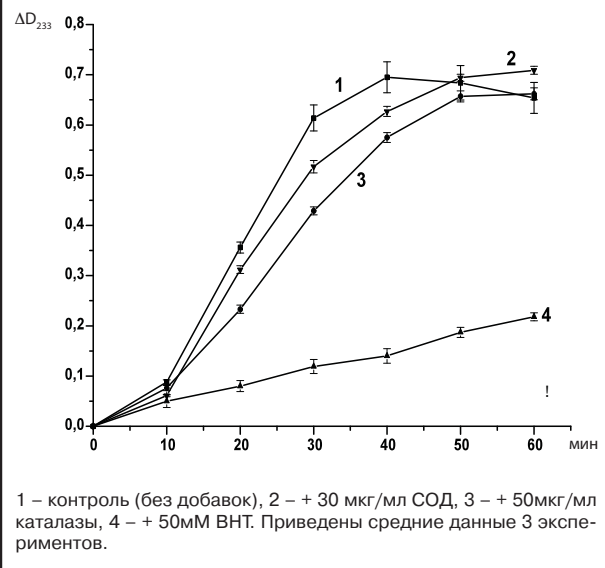
Как видно из рис. 1, кривые инициированного медью окисления ЛПНП плазмы крови здоровых доноров имели характерную для свободнорадикального процесса кинетику с выраженным индукционным периодом ( $\tau$ ) как в отсутствие экзогенной глюкозы, так и в ее присутствии. Суммированные данные, отражающие изменение параметров кинетики инициированного медью свободнорадикального окисления ЛПНП плазмы крови здоровых доноров ( $\tau$ ,  $V_{max}$ ), в присутствии различных концентраций (12,5–100 мМ) глюкозы представлены на рис. 2. Видно, что при увеличении содержания глюкозы в инкубационной среде происходит прогрессирующее уменьшение продолжительности периода индукции с одновременным увеличением максимальной скорости окисления (см. рис. 1 и 2). Так, при концентрации глюкозы в среде инкубации 25 и 100 мМ продолжительность периода индукции окисления ЛПНП уменьшалась с  $12 \pm 0,14$  мин в контроле (окисление ЛПНП без добавки глюкозы) до  $10 \pm 0,13$  и  $7 \pm 0,03$  мин соответственно ( $p < 0,05$ ), а величина максимальной скорости окисления ЛПНП возрастала с  $126 \pm 3,0$  нмоль LOOH/мин, в контроле до  $168 \pm 3,9$  и  $254 \pm 2,6$  нмоль LOOH/мин соответственно ( $p < 0,05$ ). Следует отметить, что стимулирующее действие глюкозы выявлено и при ее содержании, соответствующем патофизиологическим уровням (12,5–50 мМ), характерным для диабетической гипергликемии (см. рис. 1 и 2) [21].

Кроме того, в наших исследованиях было выявлено более глубокое окисление ненасыщенных липидов ЛПНП в присутствии глюкозы, поскольку уровни липогидропероксидов при достижении плато на кинетических кривых инициированного медью свободнорадикального окисления ЛПНП в присутствии различных концентраций глюкозы всегда были достоверно выше соответствующих уровней при достижении плато на кинетических кривых окисления ЛПНП без дотации глюкозы ( $272 \pm 0,8$  против  $307 \pm 5,5$  нмоль LOOH/мг белка ЛПНП;  $p < 0,001$ ). Таким образом, на основании исследованных кинетических параметров можно утверждать, что в присутствии экзогенной глюкозы наблюдается отчетливая интенсификация инициированного медью свободнорадикального окисления ЛПНП (см. рис. 1 и 2). Можно полагать, что присутствие в среде инкубации низкой концентрации ионов меди в качестве индуктора окисления не является нефизиологичным, поскольку установлено, что эндогенные ионы металлов переменной валентности активно связываются с апопротеином В-100 ЛПНП в кро-

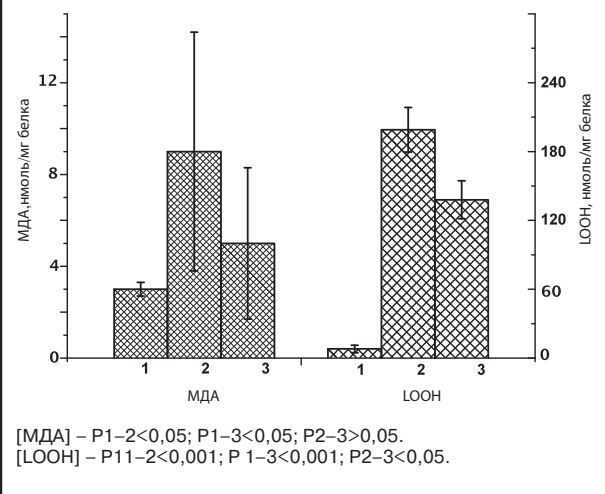
вотоке [22], что доказывает эффективное подавление спонтанного свободнорадикального окисления ЛПНП при хелатировании этих ионов [22]. Исходя из этого неудивительно, что глюкоза способна стимулировать окисление ЛПНП *in vitro* даже в отсутствие экзогенных ионов металлов переменной валентности [21], поскольку эндогенных ассоциированных с ЛПНП ионов металлов вполне достаточно для активации кислорода и инициирования окисления [21, 22]. В ранее выполненном исследовании [21] было показано подавление зависящего от глюкозы иницированного медью окисления ЛПНП скэвенджерами активных форм кислорода, такими как антиоксидантные ферменты супероксиддисмутаза и каталаза, равно как ингибитором свободнорадикальных реакций бутилированным гидрокситолуолом. По мнению авторов [21], это однозначно подтверждает образование свободнорадикальных интермедиатов глюкозы в процессе окисления. Тем не менее, с нашей точки зрения, этот вывод не обоснован. Дело в том, что активация кислорода в присутствии ионов меди должна сопровождаться образованием как супероксидных радикалов, так и пероксида водорода [23, 24], вследствие чего подавление окисления ЛПНП при внесении в среду инкубации СОД и каталазы, утилизирующих  $O_2^{\cdot-}$  и  $H_2O_2$ , обнаруженное в работе [21], не является неожиданным. В качестве основных индукторов окисления полиеновых липидов ЛПНП в изучаемой системе выступают гидроксил-радикал и липидные радикалы, образующиеся при зависимом от металлов разложении пероксида водорода и липидных гидропероксидов соответственно [23, 24]. Очевидно, что в присутствии фенольного антиоксиданта ВНТ эти реакции должны ингибироваться вследствие образования малоактивных феноксильных радикалов ( $PhO^{\cdot}$ ) [23, 24], что подтверждают результаты, полученные М. Kawamura и соавт. [21]. Исходя из вышесказанного неудивительно, что в наших экспериментах, результаты которых приведены на рис. 3, зависящее от меди окисление ЛПНП даже в отсутствие глюкозы существенно подавлялось внесением в инкубационную среду и антиоксидантных ферментов (СОД и каталазы), и ингибитора свободнорадикальных реакций ВНТ. Таким образом, полученные данные доказывают присутствие в используемой нами и авторами работы [21] иницированной медью системе окисления ЛПНП таких активных форм кислорода, как  $O_2^{\cdot-}$  и  $H_2O_2$ , а также свободных радикалов, образование которых не связано с автоокислением глюкозы. Таким образом, вопреки выводам авторов вышеупомянутой работы [21], полученные нами результаты (см. рис. 3) свидетельствуют о невозможности идентификации радикальных интермедиатов автоокисления глюкозы в используемой системе окисления ЛПНП при помощи экзогенных скэвенджеров активных форм кислорода и ингибиторов свободнорадикальных реакций.

Тем не менее в присутствии возрастающих концентраций экзогенной глюкозы при неизменном содержании других компонентов системы нами выявлено значительное снижение продолжительности периодов индукции иницированного медью свободнорадикального окисления ЛПНП и одновременное увеличение максимальной скорости окисления. Как известно, период индукции

**Рис. 3.** Влияние антиоксидантных ферментов и ингибитора свободнорадикальных процессов ВНТ на кинетику иницированного медью свободнорадикального окисления ЛПНП плазмы крови человека.



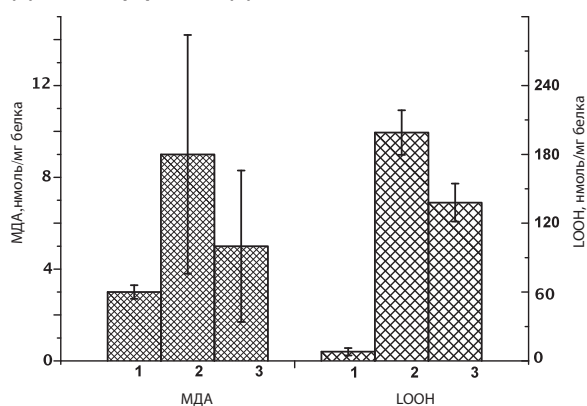
**Рис. 4.** Содержание продуктов свободнорадикального окисления полиеновых липидов в ЛПНП плазмы крови практически здоровых людей без признаков ИБС и СД (1), а также больных СД типа 2 до лечения (2) и после проведения двухмесячного курса сахароснижающей терапии препаратами сульфаниламочевины (3).



[МДА] - P1-2<0,05; P1-3<0,05; P2-3>0,05.  
[LOOH] - P11-2<0,001; P 1-3<0,001; P2-3<0,05.

$\tau = [InH]/w$ , где  $[InH]$  – концентрация ингибиторов свободнорадикальных процессов в системе, а  $w$  – скорость иницирования окисления [25]. В наших исследованиях все серии экспериментов проводили с использованием одних и тех же образцов свежесыведенных ЛПНП в стандартных условиях. Очевидно, что концентрация эндогенных ингибиторов свободнорадикальных процессов ( $[InH]$ ) во всех образцах ЛПНП была идентичной. Такой же должна была бы быть и скорость иницирования окисления ( $w$ ) изолированных из плазмы крови ЛПНП, если бы она зависела только от содержания в них преобразованных *in vivo* липогидропероксидов  $[LOOH]$ , которые в условиях наших опытов в присутствии ионов меди подвергаются распаду с образованием липидных радикалов (см. выше), способных иницировать дальнейшее окисление ненасыщенного субстрата – полиеновых липидов ЛПНП.

**Рис. 5. Содержание продуктов свободнорадикального окисления полиеновых липидов в ЛПНП плазмы крови больных СД типа 2 в период декомпенсации углеводного обмена (1) и после проведения двухмесячного курса сахароснижающей терапии препаратами сульфанилмочевины (2) или метформином (3).**



[MDA] – P1-2<0,05; P1-3<0,01; P2-3<0,01.  
[LOOH] – P1-2<0,05; P1-3<0,001; P2-3<0,001.

Обнаруженное нами уменьшение продолжительности периодов индукции инициированного медью свободнорадикального окисления ЛПНП в присутствии экзогенной глюкозы (см. рис. 1 и 2), таким образом, может быть логично объяснено образованием свободнорадикальных интермедиатов в процессе автоокисления глюкозы (увеличение  $w$  при  $[InH]=const.$ ), которые и индуцируют наблюдаемое нами (см. рис. 1 и 2) окисление полиненасыщенных липидов в частицах ЛПНП. Свободнорадикальные интермедиаты окисления ЛПНП, в свою очередь, могут вновь провоцировать автоокисление глюкозы с образованием соответствующих свободных радикалов, инициирующих окислительные процессы в липидах ЛПНП. Следовательно, на основании анализа кинетических параметров инициированного медью свободнорадикального окисления ЛПНП в присутствии экзогенной глюкозы можно утверждать, что в процессе автоокисления глюкозы образуются свободнорадикальные интермедиаты. Установление природы этих свободнорадикальных интермедиатов, учитывая сложность и многокомпонентность исследуемой системы окисления, в настоящее время не представляется возможным, однако можно предположить, что в процессе автоокисления глюкозы происходит последовательное образование супероксидного анион-радикала, пероксида водорода и гидрокси-радикала.

Увеличение окисленности ЛПНП (увеличение уровня LOOH в ЛПНП) было выявлено нами в крови больных СД типа 2 в период декомпенсации углеводного обмена ( $HbA_{1c}=8,1\pm 0,03\%$ ). Уровень липогидропероксидов в ЛПНП, изолированных из плазмы крови этих больных, почти в 25 раз (!) превышал таковой у практически здоровых людей без признаков ИБС и СД (рис. 4). Обращает на себя внимание тот факт, что окисленность ЛПНП плазмы крови больных СД2 при декомпенсации углеводного обмена была значительно выше, чем в ЛПНП плазмы крови больных ИБС с гиперхолестеринемией, высокий уровень окисленности ЛПНП у которых был отмечен нами ранее [26]. Стандартная сахароснижающая те-

рапия препаратами сульфанилмочевины в течение 2 мес приводила к существенному улучшению показателей углеводного обмена ( $HbA_{1c} 7,1\pm 0,18\%$ ) и сопровождалась, как видно из рис. 4, существенным снижением (почти в 1,5 раза) уровня липогидропероксидов в ЛПНП плазмы крови больных СД типа 2. Содержание вторичного продукта свободнорадикального окисления ненасыщенных липидов ЛПНП – МДА было увеличено в крови этих больных в период декомпенсации углеводного обмена по сравнению с контролем в 3 раза, а после достижения компенсации углеводного обмена уменьшалось в 1,8 раза (см. рис. 4). Следует отметить, что снижение уровня липогидропероксидов в ЛПНП больных СД типа 2 в процессе лечения не было связано с влиянием сахароснижающих препаратов на уровень холестерина, поскольку у исследованных больных СД содержание общего холестерина в плазме крови не изменялось и составляло до и после терапии достоверно  $6,5\pm 0,42$  и  $6,1\pm 0,36$  ммоль/л соответственно. Таким образом, только снижение уровня глюкозы в крови больных СД без какого-либо антиоксидантного воздействия приводит к весьма значительному уменьшению окисленности ЛПНП плазмы крови. Как видно, эти данные, полученные *in vivo*, хорошо согласуются с приведенными выше результатами модельных исследований *in vitro* (см. рис. 1 и 2) и убедительно свидетельствуют о важном вкладе радикальных продуктов автоокисления глюкозы в инициирование свободнорадикального окисления полиеновых липидов частиц ЛПНП, в том числе в условиях целостного организма.

Подтверждение высказанных положений было получено также при исследовании изменения содержания продуктов свободнорадикального окисления полиеновых липидов в ЛПНП плазмы крови больных с декомпенсированным ( $HbA_{1c}=8,24\pm 0,19\%$ ) СД типа 2 во 2-м клиническом исследовании в процессе отдельной сахароснижающей монотерапии либо производными сульфанилмочевины, либо метформином в течение 2 мес. Известно, что метформин помимо сахароснижающего действия способен вступать в реакцию с метилглиоксалем с образованием циклического производного – триазепинона, экскретируемого с мочой [27–29], причем показано, что лечение метформином действительно приводит к существенному снижению уровня метилглиоксала в крови больных СД [27]. Таким образом, метформин, вероятно, подавляет образование радикалов в крови больных СД за счет снижения уровня активных форм кислорода, которые могут образоваться при взаимодействии метилглиоксала с аминокислотными группами белков [14]. Как было установлено в нашем исследовании, метформин был не более эффективен в качестве сахароснижающего агента, чем производные сульфанилмочевины (снижение уровня  $HbA_{1c}$  за 2 мес лечения до  $6,69\pm 0,15\%$  и  $7,10\pm 0,18\%$  соответственно;  $p<0,1$ ). Также как и в предыдущем фрагменте исследования (см. рис. 4), в процессе лечения производными сульфанилмочевины и метформином в крови больных СД отмечено снижение уровня МДА (рис. 5), причем уменьшение содержания этого дикарбонила было более выражено (почти в 2,5 раза) при лечении метформином, чем при лечении производными сульфанилмочевины (сниже-



ние уровня МДА на 59 и 36% соответственно,  $p < 0,01$ ). В то же время уровень липогидропероксидов в ЛПНП плазмы крови больных СД при лечении метформином снижался в 5 раз больше, чем при лечении производными сульфаниламочевин (см. рис. 5), уменьшаясь на 87 и 29% соответственно ( $p < 0,001$ ). С нашей точки зрения, столь резкое снижение уровня окисленных ЛПНП в крови больных СД в процессе лечения метформином вполне объяснимо повышенной утилизацией потенциального образователя радикалов – метилглиоксаля [14].

Окислительный стресс при СД [8] сопровождается увеличением уровня дикарбониллов в крови больных, преимущественно МДА [8, 30, 31] (см. рис. 4 и 5), образующегося в процессе свободнорадикального окисления липидов при гиперлипидемии [4, 5, 8], а также глиоксаля и метилглиоксаля [27, 32], образующихся в процессе автоокисления глюкозы и фрагментации триозофосфатов [5, 8, 33] при гипергликемии. Таким образом, в процессе течения СД окислительный стресс переходит в карбонильный, что сопровождается накоплением более токсичных продуктов, способных вызывать значимое повреждение или модификацию молекул биополимеров. В соответствии с высказанной нами гипотезой [5] молекулярный механизм первичных повреждений стенки сосудов при атеросклерозе и СД идентичен и состоит в повышенном образовании модифицированных альдегидами ЛПНП, причем модифицированные ЛПНП, накапливающиеся при СД, как показано нами ранее, могут быть более атерогенными [5]. С нашей точки зрения, эти представления удовлетворительно объясняют известный факт усиленного прогрессирования тяжести атеросклеротических повреждений стенки сосудов при наличии СД, а также то, что смерть при СД типа 2 более чем в 70% случаев обусловлена сердечно-сосудистыми осложнениями [34].

Полученные в настоящей работе данные указывают на то, что сама диабетическая гипергликемия может быть фактором, усиливающим проявления окислительного и карбонильного стрессов, способствуя накоплению химически агрессивных дикарбониллов, включая МДА и метилглиоксаль. При этом накопление метилглиоксаля может провоцировать протекание автокаталитических реакций, сопровождающихся генерированием активных форм кислорода, что должно способствовать дальнейшей интенсификации свободнорадикальных процессов [14]. В соответствии с этим результаты нашего исследования указывают на возможность определенного ограничения окислительного стресса у больных СД типа 2 исключительно путем нормализации углеводного обмена, даже без назначения антиоксидантной терапии (см. рис. 4 и 5). Более того, сахароснижающие препараты, способствующие усилению клиренса дикарбониллов, вероятно, имеют преимущества перед сахароснижающими средствами с иным механизмом действия. Действительно, не исключено, что используемые в клинике антигипертензивное средство гидралазин, антидепрессанты фенелзин и ипрониазид, а также другие нетоксичные производные гидразинов, способные эффективно связывать диабетогенные токсичные дикарбонилы [35, 36], могут найти применение в комплексном лечении СД,

Как бы то ни было, представленные в настоящей работе данные убедительно свидетельствуют о непосредственном вовлечении глюкозы в процесс развития окислительного стресса при СД и ставят вопрос о необходимости учитывать эти результаты при разработке лечебных мероприятий, направленных на эффективное предотвращение сосудистых поражений при этом заболевании.

В то же время результаты нашего исследования показывают, что дополнительное использование антиоксидантов в комплексной терапии СД вполне оправдано, поскольку подавление свободнорадикального окисления ЛПНП *in vivo* должно способствовать уменьшению их атерогенности (способности к повреждению стенки сосуда). Очевидно, что оптимальным было бы использование природных фенольных антиоксидантов, в частности  $\alpha$ -токоферола (витамина Е). Тем не менее результаты клинических исследований свидетельствуют о том, что  $\alpha$ -токоферол, даже при применении в весьма высоких дозах, не предотвращает существенным образом прогрессирование повреждения стенки сосудов у больных атеросклерозом [37–40]. Полученные нами данные также свидетельствуют о том, что прием внутрь высоких доз витамина Е больными ИБС в течение 2,5 мес не приводит к достоверному изменению окисляемости ЛПНП из плазмы крови этих пациентов [4, 41]. Это объясняется тем, что транспортируемый частицами ЛПНП  $\alpha$ -токоферол не является эффективным антиоксидантом для этих липопротеидов, поскольку антиоксидантную функцию в ЛПНП, очевидно, выполняет восстановленная форма коэнзима  $Q_{10}$  – убинонол  $Q_{10}$  [41]. При использовании модели инициированного медью свободнорадикального окисления ЛПНП мы продемонстрировали весьма существенное снижение (увеличение продолжительности лаг-фазы окисления почти в 4,5 раза;  $p < 0,05$ ) окисляемости частиц ЛПНП, изолированных из плазмы крови больных СД типа 2 после введения синтетического фенольного антиоксиданта пробукола в течение 2 мес. Одновременно в ЛПНП больных, получавших пробукол, наблюдали почти двукратное снижение содержания липогидропероксидов ( $135 \pm 21,8$  и  $75 \pm 21,4$  мкмоль/мг апоВ в контрольной группе и группе с введением пробукола соответственно,  $p < 0,05$ ) и более чем трехкратное снижение содержания МДА ( $7,9 \pm 2,4$  и  $2,5 \pm 0,4$  нмоль/мг апоВ в контрольной группе и группе с введением пробукола соответственно,  $p < 0,05$ ). Следовательно, нетоксичные фенольные антиоксиданты могут быть весьма эффективны для подавления свободнорадикального окисления ЛПНП при СД и, наряду с производными гидразинов, способными связывать активные дикарбонилы, весьма перспективны для использования в комплексной терапии этого заболевания для снижения негативных последствий окислительного и карбонильного стрессов. Очевидно, что накопление высокотоксичных липогидропероксидов и дикарбониллов различного строения при диабетогенной гипергликемии, провоцируя атерогенную модификацию ЛПНП, является одним из основных факторов повреждения стенки сосудов при СД.

**Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ №07-04-00558а и №10-04-00294а.**



## Литература

1. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 88 (6): 1785–92.
2. Schwartz CJ, Valente AJ, Sprague EA et al. The pathogenesis of atherosclerosis: an overview. *Clin Cardiol* 1991; 14 (Suppl. 1): 11–6.
3. Yla-Herttuala S. Macrophages and oxidized low density lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis. *Ann Med* 1991; 23 (5): 561–7.
4. Lankin VZ, Tikbaze AK. Free radical lipoperoxidation during atherosclerosis and antioxidative therapy of this disease. In: *Free Radicals, Nitric Oxide, and Inflammation: Molecular, Biochemical, and Clinical Aspects*, NATO Science Series. Vol. 344 (Tomasi A. etc, eds) IOS Press. Amsterdam 2003: 218–31.
5. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Капелько В.И. и др. Механизмы окислительной модификации липопротеидов низкой плотности при окислительном и карбонильном стрессе. *Биохимия*. 2007; 72 (10): 1330–41.
6. Willcox BJ, Curb JD, Rodriguez BL. Antioxidants in cardiovascular health and disease: key lessons from epidemiologic studies. *Am J Cardiol* 2008; 101 (10A): 75D–86D.
7. Oberley LW. Free radicals and diabetes. *Free Radic Biol Med* 1988; 5 (2): 113–24.
8. Niedowicz DM, Daleke DL. The role of oxidative stress in diabetic complications. *Cell Biochem Biophys* 2005; 43 (2): 289–330.
9. Witz G. Biological interactions of alpha, beta-unsaturated aldehydes. *Free Radic Biol & Med* 1989; 7 (2): 333–49.
10. Donato H. Lipid peroxidation, cross-linking reactions, and aging. In: *Age pigments (Sobal RS, ed.) Elsevier/North-Holland Biomedical Press*. Amsterdam 1981: 63–81.
11. Furrh AJ. Glycated proteins in diabetes. *Br J Biomed Sci* 1997; 54 (3): 192–200.
12. Monnier VM, Mustata GT, Biemel KL et al. Cross-linking of the extracellular matrix by the maillard reaction in aging and diabetes: an update on «a puzzle nearing resolution». *Ann NY Acad Sci* 2005; 1043: 553–44.
13. Esper RJ, Vilarino JO, Machado RA et al. Endothelial dysfunction in normal and abnormal glucose metabolism. *Adv Cardiol* 2008; 45: 17–43.
14. Шумаев К.Б., Губкина С.А., Кумскова Е.М. и др. Механизм образования супероксидного радикала при взаимодействии L-лизина с дикарбонильными соединениями. *Биохимия*. 2009; 74 (4): 568–74.
15. Tertov VV, Kaplun VV, Dvoryantsev SN et al. Apolipoprotein B-bound lipids as a marker for evaluation of low density lipoprotein oxidation in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 214 (2): 608–13.
16. Esterbauer H, Striegl G, Puhl H et al. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic Res Commun* 1989; 6 (1): 67–75.
17. Ланкин В.З., Лисина М.О., Арзамасцева Н.Е. и др. Окислительный стресс при атеросклерозе и диабете. *Бюлл. экпер. биол. мед.* 2005; 140 (7): 48–52.
18. Nourooz-Zadeh J, Tajaddini-Sarmadi J, Wolff SP. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-xylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine. *Analyt Biochem* 1994; 220 (2): 403–9.
19. Hermes-Lima M, Willmore WG, Storey KB. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe(III)xylenol orange complex formation. *Free Radic Biol Med* 1995; 19 (3): 271–80.
20. Slater TF, Sawyer BC. The stimulatory effects of carbon tetrachloride on peroxidative reactions in rat liver fractions in vitro. Inhibitory effects of free-radical scavengers and other agents. *Biochem J* 1971; 123 (5): 805–14.
21. Kawamura M, Heinecke JW, Chait A. Pathophysiological concentrations of glucose promote oxidative modification of low density lipoprotein by a superoxide-dependent pathway. *J Clin Invest* 1994; 94 (2): 771–8.
22. Kuzuya M, Yamada K, Hayashi T. et al. Role of lipoprotein-copper complex in copper catalyzed-peroxidation of low-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1123 (3): 334–41.
23. Lankin VZ. The enzymatic systems in the regulation of free radical lipid peroxidation. In: *Free Radicals, Nitric Oxide, and Inflammation: Molecular, Biochemical, and Clinical Aspects*, NATO Science Series. Vol. 344 (Tomasi A et al, eds) IOS Press. Amsterdam etc 2003: 85–23.
24. Lankin VZ, Antonovsky VL, Tikbaze AK. Regulation of free radical lipoperoxidation and organic peroxides metabolism during normal station and pathologies. In: *Peroxides at the Beginning of the Third Millennium (Antonovsky VLet al, eds) Nova Science Publishers Inc.*, New York 2004: 85–111.
25. Эмануэль Н.М., Ляскова Ю.Н. Торможение процессов окисления жиров. М.: Пищепромиздат. 1961; с. 10–9.
26. Ланкин В.З., Коновалова Г.Г., Тихазе А.К. и др. Окисляемость липопротеидов низкой плотности из плазмы крови больных ИБС с различными формами гиперхолестеринемией. *Бюлл. экпер. биол. мед.* 2003; 136 (7): 49–52.
27. Beisswenger P, Howell S, Touchette A et al. Metformin reduces systemic methylglyoxal levels in type 2 diabetes. *Diabetes* 1999; 48 (1): 198–202.
28. Ruggiero-Lopez D, Lecomte M, Moinet G et al. Reaction of metformin with dicarbonyl compounds. Possible implication in the inhibition of advanced glycation end product formation. *Biochem Pharmacol* 1999; 58 (11): 1765–73.
29. Beisswenger P, Ruggiero-Lopez D. Metformin inhibition of glycation processes. *Diabetes Metab* 2003; 29 (4 pt 2): 6S95–103.
30. Jain SK, McVie R, Jackson R et al. Effect of hyperketonemia on plasma lipid peroxidation levels in diabetic patients. *Diabetes Care* 1999; 22 (7): 1171–5.
31. Slatter DA, Bolton CH, Bailey AG. The importance of lipid-derived malondialdehyde in diabetes mellitus. *Diabetologia* 2000; 43 (5): 550–7.
32. Negre-Salvayre A, Salvayre R, Auge N et al. Hyperglycemia and glycation in diabetic complications. *Antioxid Redox Signal* 2009; 11 (12): 3071–109.
33. Negre-Salvayre A, Coatrieux C, Ingueneau C et al. Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors. *Brit J Pharmacol* 2008; 153 (1): 6–20.
34. Laakso M. Cardiovascular disease in type 2 diabetes from population to man to mechanisms: the Kelly West Award Lecture 2008. *Diabetes Care* 2010; 33 (3): 442–9.
35. Galvani S, Coatrieux C, Elbaz M et al. Carbonyl scavenger and antiatherogenic effects of hydrazine derivatives. *Free Radic Biol Med* 2008; 45 (10): 1457–67.
36. Belkbeiri N, Bouguerne B, Bedos-Belval F et al. Synthesis and antioxidant activity evaluation of a syringic hydrazones family. *Eur J Med Chem* 2010; 45 (7): 3019–26.
37. Steinberg D. Is there a potential therapeutic role for vitamin E or other antioxidants in atherosclerosis? *Curr Opin Lipidol* 2000; 11 (6): 603–7.
38. Jialal I, Traber M, Devaraj S. Is there a vitamin E paradox? *Curr Opin Lipidol* 2001; 12 (1): 49–53.
39. Steinberg D, Witztum JL. Is the oxidative modification hypothesis relevant to human atherosclerosis? Do the antioxidant trials conducted to date refute the hypothesis? *Circulation* 2002; 105 (17): 2107–11.
40. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Антиоксиданты в комплексной терапии атеросклероза: pro et contra. *Кардиология*. 2004; 44 (2): 72–81.
41. Lankin VZ, Tikbaze AK, Kukbarchuk VV et al. Antioxidants decreases the intensification of low density lipoprotein free radical peroxidation during therapy with statins. *Mol Cell Biochem* 2003; 249 (1–2): 129–40.

К.А.Зыков, Э.Ю.Нуралиев, Е.И.Казначеева, Т.В.Кузнецова, Е.Б.Ярлова,  
В.П.Масенко, В.В.Кухарчук от имени исследовательской группы  
«Атеросклероз и воспаление»\*

## Динамика воспалительного процесса у больных с острым коронарным синдромом и стабильной стенокардией. Сообщение II. Биохимические, иммунологические и клинические аспекты

Институт клинической кардиологии им А.Л.Мясникова ФГУ РКНПК Минздравсоцразвития РФ, Москва

### Резюме

**Цель исследования.** Сравнить динамику параметров липидного обмена, воспалительного процесса и клинических проявлений у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС): с острым коронарным синдромом (ОКС) и стабильной стенокардией (СС) I–III ФК в течение 3-летнего периода наблюдения, изучить прогностическую значимость взаимосвязей некоторых маркеров воспаления.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 200 пациентов с ИБС (87 пациентов с ОКС и 113 со СС). Сначала больные находились на стационарном (21 сут), затем на амбулаторном наблюдении (в течение 3 лет). Пациенты получали стандартную терапию в соответствии с рекомендациями ВНОК по лечению ОКС и СС. Также больным проводили биохимические, иммунологические и гематологические исследования, включающие определение липидного статуса, маркеров воспаления: высокочувствительного С-реактивного белка (вЧСРБ), хемоаттрактантного белка 1 (MCP-1), интерлейкина 1α (IL-1α), α-фактора некроза опухоли, интерлейкина 6 (IL-6), молекул адгезии сосудистых клеток sVCAM, неоптерина, мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP). Инструментальные методы включали оценку толщины комплекса интима–медиа (ТИМ) и определяли кальциевый индекс в коронарных артериях.

**Результаты.** Отмечено достоверное снижение уровней ОХС и ХС ЛПНП, ТГ и индекса атерогенности в обеих группах. У пациентов с ОКС выявлены более высокие уровни маркеров воспаления (вЧСРБ, IL-6, IL-1α, TNF-α), которые статистически значимо снизились к окончанию исследования у пациентов со СС. Уровень sVCAM-1 статистически значимо снижался в группе ОКС, начиная с 24-го месяца исследования и далее, к 36-му месяцу. В группе СС уровень sVCAM-1 исходно был ниже и оставался на том же уровне. Повышенный уровень неоптерина сохранялся на протяжении 30 мес наблюдения в обеих группах и только к окончанию его достоверно снизился. Уровни MCP-1 статистически значимо возрастали к 18-му месяцу и продолжали увеличиваться к окончанию исследования в обеих группах. Выявлены статистически значимые прямые корреляционные зависимости между уровнями вЧСРБ, MCP-1 и неоптерина в обеих группах.

**Заключение.** Выраженность иммунновоспалительных реакций у пациентов с ИБС зависит от клинической формы заболевания. ОКС сопровождается более выраженной активностью воспалительного процесса. Длительное сохранение высоких уровней провоспалительных маркеров, чередующееся периодами снижения, свидетельствует о волнообразном течении атеросклеротического процесса.

**Ключевые слова:** острый коронарный синдром, стабильная стенокардия, атеросклероз, воспаление, маркеры внутрисосудистого воспаления.

KAZykov, E.Yu.Nuraliev, EI.Kaznacheeva, TV.Kuznecova, EB.Yarovaya, VP.Masenko, VKukharchuk,  
on behalf of the study «Atherosclerosis and Inflammation» group

**Time course of changes in an inflammatory process in patients with acute coronary syndrome and in those with stable angina pectoris. Communication 2. Biochemical, immunological and clinical aspects**

AL.Myasnikov Institute of Clinical Cardiology

### Abstract

**The aim of the study** was to compare the inflammatory markers, lipid profiles and clinical features in patients with ischaemic heart disease (IHD) (acute coronary syndrome (ACS) and stable angina pectoris (SA) I–III NYHA functional classes) during 3-years follow-up period and to evaluate the significance of inflammatory markers intercorrelations.

**Materials and methods:** 200 patients with IHD were included in the study (87 ACS patients and 113 with SA). All patients were in the hospital during first 21 days. Follow-up period was 3 years. All patients were treated in accordance with modern ACS and SA Russian guidelines. Biochemical, immunological parameters were observed, including lipid profile, inflammatory markers (hsCRP, MCP-1, IL-1α, IL-6, TNF-α, sVCAM, neopterin, NT-proBNP). Also the evaluation of intima-media thickness and coronary artery calcium scoring were performed.

**Results:** Levels of low-density lipoprotein cholesterol, triglycerides and atherogenicity index were lowered in both groups. In patients with ACS there were increased levels of inflammatory biomarkers (hsCRP, IL-6, IL-1α, TNF-α). These parameters significantly decreased in SA patients after the follow-up period. sVCAM-1 level reduced in ACS group after 24 months. In SA sVCAM-1 level was lower than in ACS group during all follow-up period. The neopterin level was elevated during 30 months in both groups. MCP-1 level were increasing during 18-months period. There were statistically significant correlations between hsCRP, MCP-1 and neopterin levels in both groups.

**Conclusion:** the intensity of inflammatory processes in patients with IHD depends on the clinical form of the disease. Acute coronary syndrome is characterized with more active inflammation. Long-term maintenance of increased levels of inflammatory biomarkers with the episodes of its temporary decreasing indicates the recurrent type of inflammatory process in atherosclerosis.

**Keywords:** acute coronary syndrome, stable angina pectoris, atherosclerosis, inflammation, biomarkers.

**Сведения об авторах**

Зыков Кирилл Алексеевич – д-р мед. наук, руководитель лаборатории иммунопатологии сердечно-сосудистых заболеваний ФГУ РКНПК НИИ кардиологии им. А.Л. Мясникова. Тел.: 414-61-50. E-mail: kirillaz@df.ru

Нуралиев Эрадж Юсуфович – канд. мед. наук врач-кардиолог, ФГУ РКНПК НИИ кардиологии им. А.Л. Мясникова, научно-диспансерный отдел. E-mail: doctornuraliev@list.ru

**Б**лезни сердца и сосудов, обусловленные атеросклерозом (АС), в большинстве стран мира представляют одну из важных социально-экономических проблем в связи с высокой заболеваемостью, стойкой инвалидизацией и смертностью трудоспособного населения, что наносит значительный ущерб обществу [1]. Представление об АС как о хроническом вялотекущем воспалительном заболевании окончательно сформировалось еще в прошлом веке [2, 3]. Это многофакторное заболевание со сложным патогенезом, в который, в частности, вовлечены несколько типов иммунокомпетентных клеток (моноциты, Т- и В-лимфоциты, тучные клетки) и гуморальные реакции. Реальность воспалительной теории АС подтверждается обнаружением в крови больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, прежде всего ишемической болезнью сердца (ИБС), повышенного уровня маркеров системного воспалительного ответа, из которых наиболее изучен С-реактивный белок (СРБ) [4–6]. В то же время при интерпретации лабораторных данных следует помнить, что, например, простое повышение уровня СРБ в сыворотке крови малоспецифично, поскольку может иметь место при недавних травмах, инфекционных и локальных воспалительных заболеваниях [7]. К потенциальным провоспалительным факторам также относятся окисленные липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) и провоспалительные цитокины, молекулы клеточной адгезии и неоптерин. Не вызывает сомнений, что каждый из этих факторов играет определенную роль в патогенезе АС и воспаления. Однако все еще нет четкого представления о взаимосвязи последнего с различными формами ИБС [острый коронарный синдром (ОКС) и стабильная стенокардия (СС)] и о роли медиаторов воспаления в дестабилизации атеросклеротического процесса и возникновении осложнений. Все вышесказанное диктует необходимость изучения как динамики уровней отдельных маркеров воспаления и цитокинов, влияющих на течение и прогноз АС, так и их взаимосвязей.

**Цель исследования**

Сравнить динамику параметров липидного обмена, воспалительного процесса и клинических проявлений в двух группах пациентов с ИБС: с ОКС и СС I–III ФК согласно классификации Канадской ассоциации кардиологов в течение 3-летнего периода наблюдения, изучить прогностическую значимость взаимосвязи некоторых маркеров воспаления.

**Материалы и методы исследования**

В простое открытое проспективное сравнительное исследование были включены 200 пациентов с ИБС (мужчины в возрасте 30–65 лет с ОКС и СС, давшие информированное согласие). В 1-ю группу вошли 87 больных с ОКС, во 2-ю – 113 пациентов со СС. Продолжительность наблюдения составила 36 мес. Критерии невключения в исследование:

- острый крупноочаговый инфаркт миокарда (ИМ);
- ИМ, перенесенный в 3-месячный период, предшествующий исследованию;
- артериальная гипертония (АГ) 3-й степени с поражением органов-мишеней;
- острые инфекционные и хронические воспалительные заболевания бронхолегочной системы, ревматоидный артрит, острые воспалительные процессы в других органах и системах, требующие постоянного приема внутрь нестероидных противовоспалительных препаратов, блокаторов циклической оксигеназы или глюкокортикоидов (даже при прекращении лечения этими препаратами за время госпитализации);
- нарушения ритма сердца высоких градаций, выраженная сердечная недостаточность (СН) III–IV ФК по NYHA, операции на сердце, АС периферических и сонных артерий, кардиомиопатии, пороки сердца; тяжелые заболевания других органов и систем, сахарный диабет (СД), требующий применения инсулина;
- нарушения липидного обмена – общий холестерин (ОХС) >9 ммоль/л, триглицериды (ТГ) >4,5 ммоль/л, злокачественные новообразования, заболевания печени, почек, эндокринных желез;
- вторичная нестабильная стенокардия (НС), в частности обусловленная анемией, тиреотоксикозом, тахикардиями.

Больных с ОКС госпитализировали в блок интенсивной терапии, в котором им в 1-й день проводили клиническое обследование – сбор анамнеза, физическое обследование, оценку факторов риска, запись электрокардиограммы (ЭКГ) в 12 стандартных отведениях, рентгенографию органов грудной клетки, эхокардиографию, измерение окружности талии. Кальциевый индекс коронарных артерий определяли методом электронно-лучевой томографии (ЭЛТ), толщину комплекса интима–медиа сонных артерий (ТИМ) измеряли методом высокоразрешающего ультразвука. Большинству больных с ОКС по показаниям была выполнена коронарная ангиография для определения дальнейшей тактики лечения – транслюминальная баллонная коронарная ангиопластика (ТБКА) со стентированием или аорто-коронарное шунтирование (АКШ).

Производили общий анализ крови и мочи, полный биохимический анализ крови, определяли активность креатинфосфокиназы (КФК), МВ КФК, трансаминаз (аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы), уровни тропонина. Диагноз ОКС ставили на основании клинической картины, изменений ЭКГ и повышения уровня в крови тропонина. Пациентам со СС проводили те же исследования, что и больным с ОКС, кроме определения активности МВ КФК и уровня тропонина. Определяли уровни ОХС, ТГ, ХС ЛПНП и липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), а также индекс атерогенности (отношение уровней ОХС и



Таблица 1. Клинико-демографическая характеристика больных

Показатели	Группа ОКС n=87	Группа СС n=113	p	Критерий
Возраст (лет) M±c	54,30±7,85	55,07±8,34	0,560	t-тест (равн. дисп.)
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> ) M±c	28,05±4,36	27,69±3,48	0,570	t-тест (равн. дисп.)
Курение	57,38%	33,68%	0,005*	Фишера (дв.)
ИМ в анамнезе	27,87%	58,95%	0,000*	Фишера (дв.)
АГ в анамнезе	63,33%	58,51%	0,614	Фишера (дв.)
Сахарный диабет	3,28%	9,47%	0,203	Фишера (дв.)
Гиперлипидемия	79,07%	67,26%	0,078	Фишера (дв.)
АКШ	3,28%	16,84%	0,010*	Фишера (дв.)
ТБКА	6,56%	26,88%	<0,001*	Фишера (дв.)
Кальциевый индекс КА (медиана, квартильный размах)	145 (24–512)	300 (44–721)	0,149	U-Манна–Уитни
ТИМ правой ВСА, мм M±c	0,83±0,20	0,85±0,20	0,503	t-тест (равн. дисп.)
ТИМ левой ВСА, мм M±c	0,92±0,25	0,94±0,32	0,454	t-тест (равн. дисп.)
β-блокаторы	88,52%	87,23%	1,00	Фишера (дв.)
ИАПФ	54,10%	63,16%	0,316	Фишера (дв.)
Статины	14,75%	56,84%	<0,001*	Фишера (дв.)

Сокращения. ИМТ – индекс массы тела.

Таблица 2. Динамика уровней липидов в группе ОКС

Показатели	Исходно	6 мес	12 мес	18 мес	24 мес	30 мес	36 мес
ОХС (M±m) (n=38)	5,96±1,22	4,76±0,98*	4,70±1,08*	4,69±1,11*	4,88±0,88*	5,01±1,0*	4,90±0,88*
ХС ЛПНП (M±m) (n=23)	3,95±1,19	2,70±0,79*	2,54±0,77*	2,84±1,04*	2,76±0,63*	3,19±1,03*	3,0±0,55*
ХС ЛПВП (M±m) (n=26)	1,08±0,20	1,19±0,25	1,25±0,35	1,20±0,36	1,20±0,30	1,30±0,32***	1,15±0,24
Индекс атерогенности (M±m) (n=26)	4,79±0,31	2,99±0,24*	2,77±0,23*	3,09±0,25*	3,24±0,25*	3,02±0,23*	3,30±0,20*
Липиды в ммоль/л; *p<0,00001 в сравнении с исходным показателем; **p<0,001 в сравнении с исходным показателем; ***p<0,01 в сравнении с исходным показателем							
Tг (n=37)							
медиана	1,95	1,41	1,52	1,56	1,63	1,53	1,53
квартили	1,27–3,00	0,92–1,9	1,15–2,4	0,95–1,9	1,15–2,1	0,99–1,8	1,0–1,85
*Значения p		0,0002	0,004	0,0001	0,002	0,00006	0,0002

Примечание. \*Сравнения с исходным уровнем значения p для критерия Даннета.

Таблица 3. Динамика уровня липидов у больных со СС

Показатели	Исходно	6 мес	12 мес	18 мес	24 мес	30 мес	36 мес
ОХС (M±m) (n=38)	5,90±0,94	4,99±1,16**	4,92±0,93**	4,78±0,93**	5,09±1,13**	5,01±1,12**	4,97±1,04**
ХС ЛПНП (M±m) (n=32)	3,67±0,87	2,83±1,04*	2,83±0,94*	2,68±0,80*	2,83±0,87*	2,81±0,89*	2,92±0,80**
ХС ЛПВП (M±m) (n=35)	1,26±0,37	1,48±0,69	1,37±0,40	1,34±0,37	1,41±0,38	1,45±0,38***	1,29±0,32
Индекс атерогенности (M±m) (n=35)	3,80±0,26	2,68±0,20*	2,83±0,20*	2,83±0,20*	2,81±0,22*	2,69±0,20*	3,01±0,17*
Липиды в ммоль/л; *p<0,00001 в сравнении с исходным показателем; **p<0,001 в сравнении с исходным показателем; ***p<0,01 в сравнении с исходным показателем							
Tг (n=38)							
медиана	1,97	1,21	1,35	1,31	1,30	1,24	1,33
квартили	1,13–2,56	0,97–1,87	1,0–1,88	0,96–2,18	0,88–2,10	0,93–1,75	0,91–2,0
*Значения p		0,02	0,04	0,04	0,21	0,12	0,04

Примечание. \*Сравнения с исходным уровнем значения p для критерия Даннета.

ХС ЛПВП). Уровень высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ) определяли нефелометрическим методом на анализаторе BN ProSpec производства Dade-Behring Marburg GmbH (Германия). Уровни моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1), интерлейкина-1 альфа (IL-1α), α-фактора некроза опухоли (α-ФНО), интерлейкина-6 (IL-6), растворимых молекул адгезии сосудистых клеток (sVCAM) определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов Bender MedSystems (Австрия, США). Концентрацию неоптерина (НП) в крови измеряли иммуноферментным методом с использованием коммерческого набора реагентов IBL (Германия). N-терминальный мозговой натрийуретический пептид (NT-proBNP) определяли хемиллюминесцентным иммуноферментным методом на приборе IMMULITE 1000, «Euro/DPC» (США).

Перечисленные выше параметры определяли у всех больных в 1-й день, через 72 ч, на 21-й день, на 6-й и 12-й месяцы и далее каждые полгода в течение последующих 2 лет (всего 9 контрольных точек со взятием проб крови). Кальциевый индекс коронарных артерий и ТИМ сонных артерий в течение 1-го года измеряли с интервалом в 6 мес, затем один раз в год. Все больные находились в стационаре 21 сут, затем под амбулаторным наблюдением. Пациентам проводили стандартную терапию в соответствии с рекомендациями ВНОК по лечению ОКС и СС.

Статистический анализ результатов проводили с использованием пакетов статистических программ «Statistica 8.0» и «SPSS 14.0». Гипотезу о нормальности распределения исследуемых показателей проверяли с использованием критерия Шапиро–Уилка. Для каждой из непрерыв-



Таблица 4. Динамика уровней гуморальных медиаторов воспаления и цитокинов у больных с ОКС

Показатели	Исходно	6 мес	12 мес	18 мес	24 мес	30 мес	36 мес
<b>вЧСРБ (n=40)</b>							
медиа́на	2,93	1,39	1,31	1,23	1,19	1,04	1,17
квартили 1,13–6,25	0,71–2,23	0,75–2,29	0,64–3,40	0,60–2,49	0,65–2,37	0,84–1,82	
*Значения <i>p</i>		0,02	0,03	0,006	0,001	0,001	0,046
<b>sVCAM-1 (n=44)</b>							
медиа́на	1030,3	830,0	960,0	1150	674,6	680,1	615,2
квартили	786,5–1192,25	650,0–1309,0	665,2–1224,0	701,2–1425,0	558,1–926,7	610,0–790,0	488,3–767,3
*Значения <i>p</i>		0,98	1,0	0,69	0,000095	0,00004	0,00002
<b>Неоптерин (n=40)</b>							
медиа́на	5,64	6,90	5,20	5,31	4,79	5,57	3,45
квартили	4,81–7,79	5,32–8,38	3,93–7,25	4,66–6,80	2,78–7,34	4,97–6,97	2,74–2,55
*Значения <i>p</i>		0,14	0,99	0,97	0,27	0,99	0,000003
<b>MCP-1 (n=40)</b>							
медиа́на	242,65	279,70	251,10	319,60	310,25	290,40	361,00
квартили	96,58–392,	191,75–320,15	208,35–324,70	243,10–414,00	269,15–379,50	217,25–264,25	287,45–445,45
*Значения <i>p</i>		1,0	0,99	0,006	0,078	0,59	0,0003

Примечание. вЧСРБ – мг/л, sVCAM-1 – нг/мл, неоптерин – нмоль/л, IL-6 – пг/мл, MCP-1 пг/мл. \*Сравнения с исходным уровнем значения *p* для критерия Даннета.

Таблица 5. Динамика уровней гуморальных медиаторов воспаления и цитокинов у больных со СС

Показатели	Исходно	6 мес	12 мес	18 мес	24 мес	30 мес	36 мес
<b>вЧСРБ (n=40)</b>							
медиа́на	1,25	1,47	1,16	1,93	1,88	1,30	1,89
квартили	0,56–3,93	0,44–4,01	0,69–3,04	0,63–3,19	0,48–3,56	0,69–4,64	0,77–4,47
*Значения <i>p</i>		0,98	0,99	0,99	0,85	0,80	0,98
<b>sVCAM-1 (n=41)</b>							
медиа́на	753,5	790,0	830,1	777,6	660,9	729,0	729,0
квартили	468,0–1038,0	675,0–1010,5	545,1–1103,5	587,3–1215,0	546,8–955,2	636,0–839,0	527,4–682,7
*Значения <i>p</i>		0,43	0,47	0,38	0,99	0,99	0,17
<b>Неоптерин (n=40)</b>							
медиа́на	6,22	6,78	5,31	5,35	5,67	5,67	5,92
квартили	3,40	5,27–7,53	5,72–7,57	4,17–7,52	4,25–6,93	3,0–7,0	2,73–4,84
*Значения <i>p</i>		0,9	0,16	0,05	0,18	0,64	0,00002
<b>MCP-1 (n=40)</b>							
медиа́на	302,35	265,50	280,15	362,85	365,20	309,70	341,10
квартили	101,49–382,05	222,75–324,30	226,40–359,55	299,65–414,73	247,75–404,90	224,15–373,80	263,30–445,4
*Значения <i>p</i>		1,0	0,98	0,017	0,034	0,54	0,009

Примечание. вЧСРБ – мг/л, sVCAM-1 – нг/мл, неоптерин – нмоль/л MCP-1 – пг/мл. \* Сравнения с исходным уровнем *p* значения для критерия Даннета.

ных величин в зависимости от их типа распределения определяли либо среднее (M) и стандартное отклонение (с), либо медиану и квартили распределения. Для анализа таблиц сопряженности 2x2 применяли двусторонний точный критерий Фишера. При проведении повторных сравнений уровней показателей внутри групп исходно и в последующие 6, 12, 18, 24, 30 и 36 мес применялся либо однофакторный анализ повторных измерений (ANOVA), либо его непараметрический аналог – однофакторный критерий Фридмана. Для сравнения динамики в течение 3-летнего периода наблюдения также использовали двухфакторный анализ повторных измерений при анализе уровней показателей при повторных измерениях для сравнения исходного уровня с последующими – критерий Даннета. Множественные сравнения значений параметров в динамике проводили методом Ньюмена–Кейлса. Для изучения взаимосвязи переменных применяли методы регрессионного и корреляционного анализа. Если не удавалось установить нормальность распределения хотя бы одного из сравниваемых показателей, то для оценки их взаимосвязи определяли коэффициент корреляции Спирмена. Для оценки прогностической значимости маркеров воспаления применяли модель логистической регрессии.

## Результаты

Характеристика обследованных больных представлена в табл. 1. Группы были сопоставимы по возрасту, индексу массы тела, наличию АГ и СД, гиперлипидемии, ТИМ общих сонных артерий. В группе СС наблюдалась тенденция к повышению кальциевого индекса коронарных артерий. Достоверные отличия между группами наблюдали по частоте курения, ИМ в анамнезе, АКШ и ТБКА. Курили чаще больные с ОКС. У больных со СС ИМ в анамнезе был в 2 раза чаще, в этой же группе статистически значимо чаще ранее были проведены операции АКШ и ТБКА. Больные обеих групп с одинаковой частотой получали β-адреноблокаторы и ИАПФ, однако частота назначения статинов была существенно выше в группе СС.

Сравнительный анализ динамики иммунологических и биохимических маркеров воспаления в течение первых 3 нед пребывания больных в стационаре был представлен нами ранее [8], поэтому в данной статье приведены результаты 3-летнего амбулаторного наблюдения пациентов, включавшего детальные обследования каждые 6 мес.

К окончанию периода наблюдения (36 мес) отмечалось достоверное снижение уровней ОХС и ХС ЛПНП в обеих группах. Средний уровень ХС ЛПВП достоверно повысился в обеих группах к 30-му месяцу наблюдения, но к окончанию иссле-

дования имел тенденцию к снижению. Концентрация ТГ в крови статистически значимо снижалась к 36-му месяцу в обеих группах. Индекс атерогенности в процессе наблюдения достоверно снижался в обеих группах наблюдения (табл. 2 и 3).

Уровень вЧСРБ в группе ОКС статистически значимо снизился к окончанию периода наблюдения по сравнению с исходным. В группе СС уровень вЧСРБ исходно был ниже, чем в группе ОКС и статистически значимого изменения его в течение исследуемого периода не наблюдалось. Уровень sVCAM-1 статистически значимо снижался в группе ОКС с 24-го месяца исследования и далее к 36-му месяцу. В группе СС уровень sVCAM-1 исходно был ниже и оставался таким же. Повышенный уровень неоптерина сохранялся на протяжении 30 мес наблюдения в обеих группах, и только к окончанию этого периода отмечено достоверное его снижение. Уровни МСР-1 статистически значимо возрастали к 18-му месяцу и продолжали увеличиваться к окончанию исследования в обеих группах (табл. 4 и 5).

Уровень NT-pro BNP исходно был выше в группе ОКС (медиана 151,3 пг/мл, n=44), чем СС (медиана 104,5 пг/мл, n=41). В течение всего периода наблюдения в группе ОКС сохранялась тенденция к снижению уровня NT-proBNP (медиана

96,7 пг/мл, n=44), в то время как в группе СС он имел тенденцию к увеличению (медиана 125,8 пг/мл, n=41).

Исходный уровень ИЛ-1α был значительно выше в группе ОКС, чем СС (9,45 и 1,41 пг/мл соответственно,  $p < 0,05$ ), при этом отмечалось достоверное снижение его к окончанию периода наблюдения в обеих группах. Уровень ИЛ-6 с 6-го месяца исследования статистически значимо снижался в группе ОКС (медианы 1,56 и 0,8 пг/мл, значение  $p$  для критерия Фридмана 0,0007), в группе СС статистически значимых изменений не было. Уровень α-ФНО с 6-го месяца исследования также статистически значимо снижался у больных с ОКС к окончанию исследования (медианы 4,49 и 2,76 пг/мл, значение  $p$  для критерия Фридмана 0,0004), а в группе СС статистически значимых изменений его не выявлено.

Клиническое состояние больных оценивалось на протяжении всего периода наблюдения. У 24 (27,6%) из 87 пациентов с ОКС возникли осложнения, связанные с сердечно-сосудистыми заболеваниями: у 9 пациентов возникла НС, 4 было проведено АКШ, 7 – ТБКА, 4 пациентов умерли. Группа СС по частоте осложнений существенно не отличалась от группы ОКС. Они возникли у 28 (24,8%) из 113 больных: у 5 возникла НС, 4 перенесли ОИМ, 3 больным было проведено АКШ, 11 – ТБКА, у 2 возникло острое нарушение мозгового кровообращения, 3 пациента умерли. Однако эти группы отличались по времени возникновения неблагоприятных исходов (рисунок).

У больных с ОКС большинство осложнений происходило преимущественно в первые 12 мес наблюдения, далее они возникали равномерно. В отличие от группы ОКС в группе СС неблагоприятные события регистрировались равномерно на протяжении всего периода наблюдения. Вероятность благоприятного исхода в обеих группах снижалась к окончанию этого периода, однако в группе ОКС она была ниже, чем в группе СС в течение всех 36 мес наблюдения.

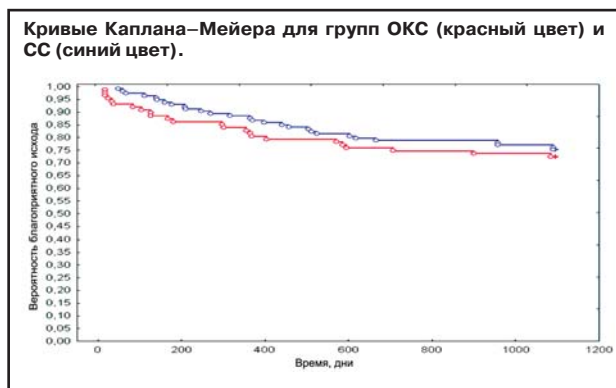


Таблица 6. Взаимосвязь МСР-1 и вЧСРБ при ОКС

	вЧСРБ-1	вЧСРБ-2	вЧСРБ-3	вЧСРБ-4	вЧСРБ-5	вЧСРБ-6	вЧСРБ-7	вЧСРБ-8	вЧСРБ-9
МСР1-1	0,42*	0,43*	0,37*	0,29	-0,06	0,34*	0,38*	0,24	0,26
МСР1-2	0,3	0,19	0,23	0,22	0,12	0,43*	0,47*	0,39*	0,24
МСР1-3	0,26	0,35*	0,19	0,12	-0,25	0,29	0,37*	0,04	0,21
МСР1-4	-0,2	-0,16	-0,04	-0,13	-0,11	-0,24	-0,14	-0,13	0,01
МСР1-5	-0,10	-0,04	-0,14	-0,19	-0,14	-0,09	0,15	-0,25	-0,16
МСР1-6	-0,06	0,09	-0,08	-0,07	-0,22	-0,22	0,09	-0,19	-0,08
МСР1-7	0,11	0,18	-0,04	-0,20	-0,27	-0,00	0,05	-0,17	0,15
МСР1-8	0,05	0,16	-0,06	0,02	0,02	0,01	0,30	0,21	0,08
МСР1-9	-0,14	-0,07	-0,04	-0,18	-0,12	-0,19	-0,02	-0,05	-0,11

Примечание. \* $p < 0,05$ .

Таблица 7. Взаимосвязь МСР-1 и вЧСРБ при СС

	вЧСРБ-1	вЧСРБ-2	вЧСРБ-3	вЧСРБ-4	вЧСРБ-5	вЧСРБ-6	вЧСРБ-7	вЧСРБ-8	вЧСРБ-9
МСР1-1	0,32*	0,38*	0,13	0,43*	0,28	0,34*	0,39*	0,26	0,28
МСР1-2	0,02	0,05	-0,13	0,19	-0,07	0,21	0,09	0,10	0,14
МСР1-3	0,09	0,01	-0,11	-0,01	0,02	-0,04	-0,04	0,16	0,07
МСР1-4	0,05	-0,05	-0,09	0,11	-0,06	0,11	0,16	0,23	0,08
МСР1-5	-0,03	0,06	-0,21	-0,09	0,11	-0,04	0,01	0,13	-0,01
МСР1-6	0,27	0,25	0,00	0,17	0,17	0,35*	0,17	0,25	0,12
МСР1-7	0,17	0,08	0,05	0,20	0,04	0,33*	0,23	0,26	0,28
МСР1-8	0,23	0,14	0,07	0,25	0,19	0,30	0,38*	0,32*	0,37*
МСР1-9	-0,06	-0,24	-0,08	-0,07	-0,15	0,05	-0,07	0,23	0,05

Примечание. \* $p < 0,05$ .

Результаты применения модели однофакторной логистической регрессии для вычисления шансов возникновения осложнений показали, что у пациентов с ОКС прогностически значимы изменения МСР-1 (OR=5,92,  $p<0,05$ ) и II-6 (OR=6,71,  $p<0,05$ ). В группе СС ни один из изучен-

Таблица 8. Взаимосвязь вЧСРБ и неоптерина при ОКС

	вЧСРБ-1	вЧСРБ-2	вЧСРБ-3	вЧСРБ-4	вЧСРБ-5	вЧСРБ-6	вЧСРБ-7	вЧСРБ-8	вЧСРБ-9
НП-1	0,19	0,31*	0,30*	0,11	-0,12	-0,1	0,01	0,06	-0,11
НП-2	0,41*	0,43*	0,31*	0,12	0,03	0,19	0,20	0,15	0,01
НП-3	0,32*	0,32*	0,47*	0,34*	0,06	0,13	0,25	0,11	0,21
НП-4	-0,03	0,33*	0,24	0,44*	0,20	0,04	0,02	0,17	-0,18
НП-5	0,01	0,12	0,03	0,09	0,22	-0,01	0,02	0,16	-0,19
НП-6	0,05	0,24	0,17	0,29	0,36*	0,14	0,17	0,23	-0,07
НП-7	-0,11	0,16	0,37*	0,23	0,16	0,21	0,39*	0,18	0,02
НП-8	0,09	0,03	0,12	0,32*	0,29	0,17	0,23	0,51*	0,25
НП-9	0,39*	0,23	0,41*	0,42*	0,28	0,27	0,13	0,42*	0,36*

Примечание. \* $p<0,05$ .

Таблица 9. Взаимосвязь неоптерин и вЧСРБ при СС

	вЧСРБ-1	вЧСРБ-2	вЧСРБ-3	вЧСРБ-4	вЧСРБ-5	вЧСРБ-6	вЧСРБ-7	вЧСРБ-8	вЧСРБ-9
НП-1	0,26	0,13	0,06	0,04	0,08	-0,08	0,03	0,15	-0,12
НП-2	0,27	0,31*	-0,04	0,06	0,09	0,03	0,16	0,18	-0,11
НП-3	0,09	0,03	0,17	0,09	0,23	0,02	0,16	0,15	-0,04
НП-4	0,27	0,33*	0,11	0,29	0,33*	0,22	0,39*	0,18	0,34*
НП-5	0,06	0,14	0,07	0,12	0,41*	0,02	0,27	0,22	0,26
НП-6	0,35*	0,45*	0,19	0,27	0,41*	0,22	0,45*	0,20	0,12
НП-7	0,08	0,02	-0,19	0,08	0,02	-0,3	0,09	0,18	-0,16
НП-8	-0,03	0,07	-0,05	-0,07	0,26	0,06	0,12	0,23	0,11
НП-9	-0,21	-0,03	-0,05	0,01	0,06	0,18	-0,07	-0,26	0,004

Примечание. \* $p<0,05$ .

Таблица 10. Взаимосвязь МСР-1 и неоптерина при ОКС

	МСР1-1	МСР1-2	МСР1-3	МСР1-4	МСР1-5	МСР1-6	МСР1-7	МСР1-8	МСР1-9
НП-1	0,35	0,25	0,21	-0,03	0,07	0,16	0,06	-0,02	-0,09
НП-2	0,44*	0,34*	0,39*	-0,04	0,03	0,07	0,05	0,16	0,19
НП-3	0,30*	0,07	0,32*	-0,01	-0,02	0,10	0,09	0,09	0,16
НП-4	-0,01	0,02	-0,02	0,03	0,01	0,17	0,08	0,20	-0,03
НП-5	0,08	0,24	0,06	0,06	0,20	0,18	0,06	0,09	0,18
НП-6	0,11	0,04	0,04	-0,07	0,00	0,17	-0,02	0,08	-0,01
НП-7	0,19	0,18	0,19	0,08	0,06	0,10	-0,04	0,13	-0,09
НП-8	0,13	0,15	0,04	0,09	-0,15	0,04	-0,01	0,25	0,08
НП-9	0,06	-0,01	-0,04	-0,09	-0,23	-0,18	-0,06	0,02	-0,09

Примечание. \* $p<0,05$ .

Таблица 11. Взаимосвязь МСР-1 и неоптерина при СС

	МСР1-1	МСР1-2	МСР1-3	МСР1-4	МСР1-5	МСР1-6	МСР1-7	МСР1-8	МСР1-9
НП-1	0,08	-0,02	0,09	-0,05	0,19	0,26	0,04	0,03	0,10
НП-2	0,19	0,09	0,18	0,12	0,20	0,35*	0,09	0,19	0,16
НП-3	0,06	0,03	-0,04	0,14	-0,07	0,02	-0,19	0,04	0,14
НП-4	0,26	0,08	0,04	0,14	0,40*	0,35*	0,33*	0,39*	0,23
НП-5	0,17	0,05	0,09	0,28	0,21	0,14	0,15	0,54*	0,13
НП-6	0,24	0,14	0,02	0,22	0,30	0,37*	0,09	0,33*	0,05
НП-7	0,44*	0,43*	0,10	0,30*	-0,02	0,21	-0,05	0,19	0,04
НП-8	0,07	0,002	0,13	0,28	0,11	0,21	0,11	0,30	0,20
НП-9	-0,06	0,14	-0,08	-0,01	-0,14	-0,09	-0,23	-0,02	-0,06

Примечание. \* $p<0,05$ .

Таблица 12. Лечение больных ОКС и СС (количество пациентов, принимающих препарат, %).

Препараты	Исходно			1 год			3 года		
	ОКС	СС	$p$	ОКС	СС	$p$	ОКС	СС	$p$
β-блокаторы	89,53	88,39	0,824	81,01	82,47	0,846	80,65	90,13	0,144
ИАПФ	52,33	64,60	0,109	50,63	59,79	0,286	53,23	60,49	0,399
Нитраты	80,23	33,63	0,000*	50,63	59,79	0,552	16,13	25,93	0,219
Антагонисты Са	9,30	15,93	0,205	18,99	17,53	0,846	16,13	19,75	0,664
Статины	16,28	59,29	0,000*	60,71	67,65	0,203	80,30	85,86	0,232
Тиенопиридины	76,74	5,31	0,000*	27,85	8,25	0,001*	6,45	8,64	0,757
Аспирин	95,35	91,07	0,278	86,08	83,51	0,679	85,48	85,19	1,000



ных маркеров воспаления не имел прогностической значимости.

Помимо исследования динамики уровней гуморальных медиаторов воспаления и цитокинов мы провели корреляционный анализ взаимосвязи этих показателей. Данные (коэффициент корреляции Спирмена) представлены в таблицах. В обеих группах наблюдалась статистически значимая положительная корреляционная зависимость между уровнями вЧСРБ и МСР-1. Количество корреляционных связей одинаково в обеих группах – 12,3% (табл. 6 и 7).

Отмечена статистически значимая корреляционная зависимость между уровнями вЧСРБ и неоптерина. Однако количество корреляционных связей было значительно выше в группе ОКС – 25,9%, чем в группе СС – 12,3% (табл. 8 и 9).

Количество достоверных прямых корреляционных связей между уровнями МСР-1 и неоптерина было в 2 раза выше в группе СС (13,6%), чем в группе ОКС – 6,2% (табл. 10 и 11).

К окончанию периода наблюдения (3 года) в обеих группах по сравнению с начальным периодом увеличилось число пациентов, принимающих статины, до 80,3% в группе ОКС и до 85,9% в группе СС. В обеих группах отмечено снижение потребности в приеме нитратов до 16,13 и до 25,93% соответственно. У больных с ОКС уменьшилась частота назначения тиенопиридинов до 6,45% (табл. 12).

### Обсуждение

В последние годы большое значение в патогенезе АС и ИБС придается иммуно-воспалительным реакциям, при этом существенная роль принадлежит активации системы цитокинов с индукцией молекул межклеточной адгезии, хемокинов и белков острой фазы воспаления [9, 10]. Признаки локального неспецифического воспалительного процесса при АС прослеживаются с самых ранних стадий развития поражения стенки сосуда до момента дестабилизации атеросклеротической бляшки [11].

Хорошо изучена роль дислипидемии (гиперхолестеринемии, повышения концентрации в крови ХС ЛПНП, ЛП очень низкой плотности, снижения концентрации ХС ЛПВП) в возникновении и поддержании воспалительного процесса. Модифицированные ЛПНП – это потенциально провоспалительные факторы, которые являются важной причиной повреждений эндотелия [12]. ЛПВП, напротив, проявляют себя как противовоспалительные факторы. Их дисбаланс приводит к прогрессированию тяжести атеросклеротического процесса. В настоящем исследовании к окончанию периода наблюдения (36 мес) отмечалось статистически значимое снижение уровней ОХС и ХС ЛПНП и ТГ в обеих группах по сравнению с исходными, что можно объяснить существенным увеличением числа больных, принимавших статины (10–20 мг/сут симвастатина или аторвастатина) – 80,3% в группе ОКС и 85,9% в группе СС. Средний уровень ХС ЛПВП достоверно повысился в обеих группах к 30-му месяцу наблюдения, но к окончанию исследования имел тенденцию к снижению. Индекс атерогенности в процессе наблюдения достоверно снижался в обеих группах больных, но в группе СС сохранялся целевым в течение всего периода наблюдения, в то время как

в группе ОКС – только в течение 1-го года, затем он имел тенденцию к росту.

В патогенезе воспаления, АС и ИБС большое значение имеет повышение адгезивных свойств эндотелия. Образование растворимой формы клеточно-сосудистой молекулы адгезии 1-го типа (sVCAM-1) обычно ассоциировано с активацией и/или повреждением клеток, и, таким образом, содержание этого показателя в плазме крови может отражать функциональное состояние эндотелия. Известно, что у больных с ОКС уровни адгезивных белков в плазме крови служат прогностическими факторами прогрессирования тяжести заболевания и могут выступать в качестве маркеров нарушения эндотелиальной функции [13, 14]. Ранее было отмечено увеличение концентраций sVCAM-1 у больных с ОКС и хронической ИБС [15–17]. В нашем исследовании концентрация sVCAM-1 была исходно повышенной у пациентов с ОКС, что свидетельствовало о повышении адгезивных свойств эндотелия. С 24-го месяца и далее, к 36-му месяцу наблюдения, этот показатель статистически значимо снижался. Было показано, что у больных ИБС после эпизодов НС или ОИМ без зубца Q высокий уровень sVCAM-1 сохранялся на протяжении 3–6 мес, что указывает на персистенцию воспаления в сосудистой стенке [18, 19], а затем к окончанию 12-го месяца наблюдения он снижается [20]. В нашем исследовании у больных со СС уровень sVCAM-1 исходно был ниже и оставался на том же уровне к окончанию периода наблюдения. Эти данные свидетельствуют о важной роли sVCAM-1 как гуморального маркера эндотелиальной дисфункции при ОКС, отражающего степень воспалительного процесса.

В участке воспаления активированные эндотелиальные клетки секретируют хемокины, которые в свою очередь вызывают активацию нейтрофилов и моноцитов. Моноцитарный хемоаттрактантный белок 1 (МСР-1) – один из хемокинов, регулирующих миграцию и инфильтрацию моноцитов-макрофагов и Т-лимфоцитов из кровотока в артериальную стенку, что является ключевым моментом в развитии АСБ [21]. Повышенный уровень МСР-1 выявляли у пациентов с НС и связывали его с повышенным риском фатального ИМ [22–24]. Известно, что МСР-1 индуцирует свою собственную продукцию в моноцитах, что еще больше увеличивает локальное накопление моноцитов [25].

В экспериментальных исследованиях показано, что МСР-1 стимулирует синтез провоспалительных цитокинов (IL-6) в гладкомышечных клетках артерий человека, матриксных металлопротеиназ в фибробластах и молекул адгезии в моноцитах больных ИБС [26, 27]. В нашем исследовании в обеих группах больных уровни МСР-1 исходно были высокими и статистически значимо возрастали к 18-му месяцу исследования, продолжая увеличиваться к его окончанию. Таким образом, можно предположить, что повышение концентрации МСР-1 отражает постепенное прогрессирование атеросклеротического процесса в стенках коронарных артерий.

Многие цитокины присутствуют в биологических жидкостях в достаточно высоких концентрациях, а изменение их уровня не только характеризует преимущественную направленность иммунного ответа, но и ассоциируется с актив-

ностью и прогрессированием воспаления. Из медиаторов межклеточного взаимодействия наибольшее значение при АС придается ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-6. ИЛ-1 $\alpha$  может индуцировать большую часть местных и общих проявлений воспаления, что способствует развитию экссудативной и пролиферативной составляющих воспалительной реакции [11]. В нашей работе исходный уровень ИЛ-1 $\alpha$  был значительно выше в группе ОКС, чем СС, и к окончанию наблюдения в обеих группах отмечалось достоверное его снижение. Исследование провоспалительных цитокинов показало, что уровни ИЛ-6 и  $\alpha$ -ФНО были исходно выше в группе ОКС и достоверно снижались к окончанию исследования, что совпадает с данными других авторов [28]. Таким образом, исходно повышенные уровни провоспалительных цитокинов у больных обеих групп подтверждали наличие системной воспалительной реакции, активность которой была значительно выше у больных с ОКС.

В последние годы внимание акцентируется на более стабильных лабораторных показателях, отражающих динамику зависимого от цитокинов воспаления, таких как вЧСРБ и неоптерин [5]. ВЧСРБ – белок острой фазы воспаления, в основном синтезируется гепатоцитами под влиянием ИЛ-6, а также ИЛ-1 $\alpha$  и  $\alpha$ -ФНО, однако он может также продуцироваться альвеолярными и присутствующими в АСБ макрофагами и лимфоцитами. ВЧСРБ – высокочувствительный маркер воспаления и тканевой деструкции. Повышение его концентрации даже в пределах, ранее рассматриваемых как нормальные, связано с повышенным риском развития ОКС [29–32]. У лиц со СС и НС высокий уровень СРБ является предиктором ИМ и смерти от сердечно-сосудистых заболеваний [33–36]. В нашем исследовании в группе ОКС концентрация белка была исходно выше, чем в группе СС, и статистически значимо снизилась к окончанию периода наблюдения по сравнению с исходной. В группе СС уровень вЧСРБ исходно был ниже, чем в группе ОКС и статистически значимо не менялся в течение всего периода наблюдения. Таким образом, исходно в группе ОКС выраженность воспалительного процесса была значительно выше, чем в группе СС, а динамика уровня вЧСРБ позволяла проследить течение воспалительного процесса.

Одним из наиболее чувствительных и информативных серологических маркеров активации Th 1-го типа иммунного ответа при заболеваниях человека является НП [37]. Основным индуктором его синтеза выступает ИФН $\gamma$ , при этом другие Th1-цитокины ( $\alpha$ -ФНО и ИЛ-2) резко усиливают стимулированную ИФН $\gamma$  выработку НП. Th2-цитокины (ИЛ-4, ИЛ-10) и глюкокортикоиды, наоборот, подавляют его продукцию активированными макрофагами [38]. Кроме того, НП может вырабатываться эндотелиальными клетками, стимулированными  $\alpha$ -ФНО [39]. Это дает основание рассматривать НП в качестве интегрального показателя зависимой от цитокинов активации моноцитов-макрофагов и эндотелиальных клеток [40]. Отмечено, что концентрация циркулирующего НП у пациентов с ОКС выше, чем у больных со СС напряжения и у практически здоровых лиц [41]. Повышение уровня НП ассоциируется с наличием нестабильных или поврежденных АСБ [42–44] и представляет собой маркер повышен-

ного риска сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ОКС [45, 46]. Более того, показано, что повышенный уровень НП является предиктором развития больших коронарных осложнений у пациентов со СС [48, 49]. Исходные уровни этого показателя в нашем исследовании в обеих группах больных были повышенными, что отмечалось и другими авторами [50]. При сравнении уровней НП у больных обеих групп мы не выявили статистически значимых различий. Повышенный его уровень сохранялся на протяжении 30 мес наблюдения в обеих группах и только к окончанию периода наблюдения было отмечено достоверное его снижение. Вероятно, длительное повышение концентрации НП отражает активацию системы клеточного иммунитета.

В настоящее время признанным лабораторным маркером острой и хронической дисфункции миокарда является мозговой натрийуретический пептид, зарекомендовавший себя в качестве независимого прогностического признака в отношении выживаемости и развития сердечной недостаточности у больных с ОКС. В нашем исследовании в группе ОКС концентрация NT-pro BNP исходно была выше, чем в группе СС. Показано, что уровень NT-pro BNP выше у пациентов с НС, чем у больных со СС и у здоровых людей [51, 52]. Динамика изменения этого показателя в период наблюдения была разнонаправленной: у больных с ОКС сохранялась тенденция к его снижению, а у больных со СС он имел тенденцию к повышению. Вероятно, это служит подтверждением вялотекущего персистирующего воспалительного процесса у больных со СС и может рассматриваться в качестве предиктора появления клинически значимой сердечной недостаточности, но, возможно, что эти различия были случайными и нужны дальнейшие исследования для подтверждения настоящего предположения.

При оценке различных процессов, в частности воспалительного, следует учитывать, что в его основе часто лежат не количественные изменения, а формирование новых качественных характеристик и свойств. Естественно, что их выявление требует не тривиальных количественных сравнений, а анализа внутренних взаимосвязей. С этой целью нами был проведен корреляционный анализ полученных показателей. Отмечены корреляционные связи разной силы при обоих клинических вариантах течения ИБС между уровнями НП, цитокинов и вЧСРБ. Выявлена положительная корреляция содержания МСР-1 и вЧСРБ, свидетельствующая о взаимосвязи между выраженностью воспалительного процесса и концентрацией хемотаксических факторов, имеющих большое значение в атерогенезе. При ОКС и СС уровень воспалительного ответа при госпитализации был связан с концентрацией МСР-1, т.е. уровень хемотаксиса в начале процесса является предиктором выраженности воспаления в дальнейшем. При дальнейшем развитии воспаления при ОКС уровень вЧСРБ выступает предиктором дальнейшего изменения уровня МСР-1; при СС определяющая роль вЧСРБ не столь очевидна. При этом количество корреляционных связей одинаково в обеих группах. Также как и другие исследователи [53–55], мы обнаружили тесную корреляционную зависимость между выраженностью воспалительного процесса (вЧСРБ) и НП,

являющегося маркером активации макрофагов, уровень которого связан с распространенностью атеросклеротического поражения. В нашем исследовании при ОКС уровни vСРБ и неоптерина слабо связаны друг с другом на первой точке, т.е. в момент госпитализации ( $r=0,19$ ), поскольку концентрация НП нарастает позже, нежели концентрация vСРБ. Это отмечено и в других источниках [5, 36]. Уровень первичного воспалительного ответа определял концентрацию НП на 2, 3 и 4-й точках, т.е. активацию системы клеточного иммунитета на протяжении как минимум еще 6 мес наблюдения.

Процесс взаимодействия этих факторов двусторонний – при дальнейшем развитии воспаления уровень vСРБ является предиктором последующего изменения уровня НП, а уровень НП – предиктором выраженности воспаления в дальнейшем. При СС зависимость этих параметров выражена гораздо слабее, что свидетельствует о том, что активация макрофагов не предопределяет активность воспаления. Обращает на себя внимание тот факт, что количество корреляционных связей было значительно выше у больных с ОКС, что свидетельствует о более остро протекающем воспалительном процессе. У пациентов с ОКС положительная корреляционная зависимость между уровнями МСР-1 и НП, подтверждающая наличие связи между активностью хемотаксиса и макрофагальной системой при АС, была найдена только на начальном этапе исследования, далее эти связи исчезали. У пациентов со СС количество корреляционных связей между этими показателями было больше, однако они были сильно разобщены.

### Заключение

Проведенное нами клинико-лабораторное исследование выявило существенные различия между двумя клиническими формами ИБС. Так, исходные уровни гуморальных медиаторов воспаления (vСРБ, IL-6, IL-1 $\alpha$ ,  $\alpha$ -ФНО) были выше у больных с ОКС, что свидетельствует о наличии более выраженного воспалительного процесса в интима КА. Снижение уровня этих показателей к окончанию периода наблюдения, вероятно, свидетельствует об уменьшении активности воспаления. Однако исходно повышенный уровень МСР-1 и дальнейшее его повышение в течение всего периода наблюдения, а также длительно высокие сохраняющиеся концентрации sVCAM и НП в обеих группах больных с чередующимися периодами понижения говорят об обратном, т.е. о персистенции воспаления и о волнообразном течении атеросклеротического процесса. Этот факт подтверждается данными клинического наблюдения о возникновении сердечно-сосудистых осложнений в 27,6% случаев в группе ОКС и в 24,8% случаев в группе СС. Вероятность благоприятного исхода в обеих группах снижалась к окончанию периода наблюдения, в большей степени у больных с ОКС. На наш взгляд, это не является противоречием, поскольку изучение уровней отдельно взятых неспецифических маркеров системного воспаления не позволяет судить о всех аспектах воспалительного процесса у пациентов с ИБС. Это положение подтверждается данными корреляционного анализа о наличии положительных связей между уровнями НП, цитокинов и vСРБ при обоих клинических вариантах течения

ИБС, более выраженных при ОКС. Таким образом, проведенные нами исследования показали, что для уточнения механизмов патогенеза АС и его осложнений, развития новых терапевтических подходов к лечению ИБС необходимо дальнейшее изучение не только новых лабораторных маркеров воспаления, но качества и количества их внутренних взаимосвязей.

### Литература

1. Lee HS, Cross SJ, Rawles JM et al. Patients with suspected myocardial infarction who present with ST depression. *Lancet* 1993; 342: 1204–7.
2. Tracy RP. Inflammation in cardiovascular disease. *Circulation* 1998; 97: 2000–2.
3. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115–26.
4. Закирова Н.Э., Хафизов Н.Х., Карамова И.М. и др. Иммуно-воспалительные реакции при ишемической болезни сердца. *Рац. фармакотерапия в кардиологии*. 2007; 2: 16–9.
5. Насонов Е.Л. Перспективы лабораторной диагностики хронических воспалительных и аутоиммунных болезней человека. *Рос. мед. вестн.* 2001; 6 (3): 20–6.
6. Gabay C, Kushner I. Acute phase proteins and other systemic responses to inflammation. *Engl J Med* 1999; 340: 448–54.
7. Карпов Ю.А., Сорокин Е.В. Первичная профилактика сердечно-сосудистых заболеваний: новые ориентиры? *Рос. мед. журн.* 2002; 10 (19): 847–51.
8. Кухарчук В.В., Зыков К.А., Масенко В.П. и др. Динамика воспалительного процесса у больных с острым коронарным синдромом и больных со стабильной стенокардией. *Сообщение 1. Биохимические и иммунологические аспекты. Кардиол. вестн.* 2007; 2 (2): 48–54.
9. Насонов Е.Л. Иммунологические маркеры атеросклероза. *Тер. арх.* 2002; 5: 80–5.
10. Bachetti J, Ferrari R. The dynamic balance between heart function and immune activation. *Eur Heart J* 1998; 19 (5): 681–2.
11. Лутай М.И. Атеросклероз, современный взгляд на патогенез. *Укр. кардиол. журн.* 2004; 1: 22–34.
12. Титов В.В. Общность атеросклероза и воспаления: специфичность атеросклероза как воспалительного процесса. *Рос. кардиол. журн.* 1999; 5: 48–56.
13. Воскобой И.В., Семенов А.В., Мазуров А.В. и др. Активность тромбоцитов и функциональное состояние эндотелия у больных нестабильной стенокардией. *Кардиология*. 2002; 94: 4–10.
14. Васина Л.В. Маркеры апоптоза и дисфункция эндотелия при остром коронарном синдроме. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2004; 4 (12): 5–10.
15. Guray U, Erbay AR, Guray Y. Levels of soluble adhesion molecules in various clinical presentations of coronary atherosclerosis. *Int J Cardiol* 2004; 2: 235–40.
16. Postadzbiyan AS, Tzontcheva AV. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and their association with clinical outcome, troponin T and C-reactive protein in patients with acute coronary syndromes. *Clin Biochem* 2008; 3: 126–33.
17. Yip HK, Wu CJ, Hang H. Levels and values of inflammatory markers in patients with angina pectoris. *W Int Heart J* 2005; 46: 4: 571–81.
18. Гусев Д.Е., Пальцева Е.М., Потиевский Б.Г. и др. Молекулы адгезии sVCAM-1 и sICAM-1 при различных формах ишемической болезни сердца. *Kardiol serde no-sosud bir* 2009; 2: 11–4.
19. Malik I, Danesh J, Whincup P et al. Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Lancet* 2001; 358: 971–5.
20. Mulvihil NT, Foley JB, Murphy R et al. Evidence of prolonged inflammation in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000. 36 (4): 1210–6.



21. Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D et al. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1991; 88: 1121–7.
22. Aukrust P, Berge RK, Ueland T et al. Interaction between chemokines and oxidative stress: Possible pathogenic role in acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 485–91.
23. Hojo Y, Ikeda U, Takahashi M et al. Increased levels of monocyte related cytokines in patients with unstable angina. *Atherosclerosis* 2002; 161: 403–8.
24. DeLemos JA, Morrow DA, Sabatine MS et al. Association between levels of monocyte chemoattractant protein-1 and long-term clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 107: 690–5.
25. Vestergaard C, Gesser B, Lobse N et al. Monocyte chemotactic and activating factor (MCAF/MCP-1) has an autoinductive effect in monocytes, a process regulated by IL-10. *J Dermatol Sci* 1997; 15: 14–22.
26. Terkeltaub R, Boisvert W, Curtiss L. Chemokines and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1998; 9: 397–405.
27. Egashira K. Molecular mechanisms mediating inflammation in vascular diseases. Special reference to monocyte chemoattractant protein-1. *Hypertension* 2003; 41: 834–41.
28. Лутай МИ, Голикова СИ, Деяк ВА и др. Системное воспаление у пациентов с ишемической болезнью сердца: взаимосвязь с клиническим течением и наличием факторов риска. *Укр. мед. журн.* 2006; 52: 280–3.
29. Koenig W. Atherosclerosis involves more than just lipids: focus on inflammation. *Eur Heart J* 1999; 1 (Suppl. T): 19–26.
30. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in patients with severe unstable angina. *New Engl J Med* 1994; 331: 417–24.
31. Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation* 1998; 97: 2007–11.
32. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE et al. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342: 836–43.
33. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation* 2001; 103: 1813–8.
34. Ridker PM, Rifai N, Rose L et al. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002; 347: 1557–65.
35. Danesh J, Whincup P, Walker M et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analysis. *BMJ* 2000; 321: 199–204.
36. Королева О.С., Затеищников Д.А. Биомаркеры в кардиологии: регистрация внутрисосудистого воспаления. *Фарма-тека*. 2007; 8 (9): 30–6.
37. Насонов ЕЛ, Самсонов МЮ, Тилз Г и др. Неоптерин: новый иммунологический маркер аутоиммунных ревматических заболеваний. *Клин. мед.* 2000; 8: 43–6.
38. Свиридов ЕА, Телегина ТА. Неоптерин и его восстановленные формы: биологическая роль и участие в клеточном иммунитете. *Успехи биол. химии*. 2005; 45: 355–90.
39. Насонов ЕЛ, Баранов АА, Шилкина Н.П. Васкулиты и васкулопатии. Ярославль: Верхняя Волга, 1999; с. 616.
40. Александрова ЕН, Новиков АА, Решетняк Т.М. и др. Цитокины и неоптерин при антифосфолипидном синдроме. *Науч.-практ. ревматология*. 2009; 2: 10–6.
41. Котица Н.П., Литвин Е.И., Петюнина О.В. и др. Роль неоптерина в прогнозировании сердечной недостаточности у больных, перенесших инфаркт миокарда. *Укр. тер. журн.* 2006; 4: 19–22.
42. Garcia Moll X, Coccolo F, Cole D et al. Serum neopterin and complex stenosis morphology in patients with unstable angina. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 956–62.
43. Tatzber F, Rabl H, Koriska K et al. Elevated serum neopterin levels in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1991; 89: 203–8.
44. Van Haelst PL, Liem A, van Boven AJ et al. Usefulness of elevated neopterin and C-reactive protein levels in predicting cardiovascular events in patients with non-Q-wave myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2003; 92: 1201–3.
45. Garcia Moll X, Coccolo F, Cole D et al. Serum neopterin and complex stenosis morphology in patients with unstable angina. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 956–62.
46. Garcia Moll X, Cole D, Zouridakis E et al. Increased serum neopterin: a marker of coronary artery disease activity in women. *Heart* 2000; 83: 346–50.
47. Gupta S, Fredericks S, Schwartzman RA et al. Serum neopterin in acute coronary syndromes. *Lancet* 1997; 349: 1252–3.
48. Walter RB, Fuchs D, Weiss G et al. HMG-CoA reductase inhibitors are associated with decreased serum neopterin levels in stable coronary artery disease. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 1314–9.
49. Zouridakis E, Avanzas P, Arroyo Espliguero R et al. Markers of inflammation and rapid coronary artery disease progression in patients with stable angina pectoris. *Circulation* 2004; 110: 1747–53.
50. Доржиева Л.В., Кушхова Д.Х., Орлова О.В. и др. Клиническое и диагностическое значение уровня неоптерина у больных с ишемической болезнью сердца. *Кардиоваск. тер. и профилактика*. 2007; 6 (5): 88–9.
51. Kikuta K, Yasue H, Yoshimura M et al. Increased plasma levels of B-type natriuretic peptide in patients with unstable angina. *Am Heart J* 1996; 132: 101–7.
52. Sun T, Wang L, Zhang Y. Prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndrome. *Arch Med Res* 2006; 37: 502–5.
53. Гайсина Э.Ш., Дударев М.В., Чучкова Н.Н. и др. Динамика показателей острой воспалительной реакции и липидного обмена у больных ишемической болезнью сердца под влиянием глюкозаминилмурамилдипептида. *Кардиоваск. тер. и профилактика*. (Прил.). 2009; 8 (4): 15, ШВ–8.
54. Шевченко О.П., Харламова Л.В., Кушхова Д.Х. и др. Уровень неоптерина в крови у больных ишемической болезнью. *Якутский мед. журн.* 2008; 1: 12–5.
55. Лысак Н.В., Бугрова О.В. Неоптерин у больных на ранних стадиях ревматоидного артрита. *Науч.-практ. ревматология*. 2008; 1: 31–6.

\*

О.Н.Свирида, А.Г.Овчинников, Ф.Т.Агеев

# Патогенетический подход к терапии пациентов с хронической сердечной недостаточностью и сохраненной систолической функцией левого желудочка

Институт клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова ФГУ РКНПК Минздравсоцразвития РФ, Москва

## Резюме

Патогенетическое лечение диастолической сердечной недостаточности (ДСН) до сих пор не разработано. Имеется предположение, что в основе развития хронической сердечной недостаточности (ХСН) в большинстве случаев лежит диастолическая дисфункция (ДД) левого желудочка (ЛЖ), вызванная фиброзом его миокарда.

**Цель исследования.** Оценить эффективность воздействия комбинированного приема блокаторов рецепторов ангиотензина и конкурентных антагонистов альдостерона на баланс коллагена у больных с ДСН.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 69 больных с ХСН и сохраненной систолической функцией ЛЖ (фракция выброса >45%). Пациенты случайным образом были распределены на две группы: 35 человек принимали кандесартан (32 мг/сут) и 34 кандесартан в сочетании со спиронолактоном (25 мг/сут). Исходно, а также спустя 6 мес после начала исследования были проведены клиническое обследование, трансторакальная эхокардиография в покое [оценка диастолической функции (ДФ) ЛЖ], анализ крови на определение уровня Nt-proBNP, биохимических маркеров баланса коллагена PIP, TIMP-1, TGF- $\beta$  и C1TP.

**Результаты.** Реверсия фиброза наблюдалась лишь при комбинированной терапии кандесартаном и спиронолактоном, что проявлялось в виде снижения уровней NT-proBNP на 15% и TIMP-1 на 12%, а также повышением уровня C1TP на 21% (во всех случаях  $p < 0,05$ ). Прием только кандесартана не влиял на баланс коллагена: уровни PIP, TIMP-1 и C1TP практически не изменились, а значимое повышение содержания TGF- $\beta$  на 15% ( $p < 0,05$ ) свидетельствовало о продолжении эндогенной стимуляции синтеза коллагена. Положительное влияние комбинированной терапии на фиброз сопровождалось отсутствием прогрессирования ДД (отсутствие повышения E/E и E/Vp в отличие от такового в группе приема только кандесартана) и достоверным снижением среднего функционального класса (ФК) ХСН (на 24%), причем в наибольшей степени у пациентов с исходно выраженной ДД.

**Вывод.** Результаты исследования свидетельствуют о необходимости применения у больных ДСН более мощной антифибротической терапии.

**Ключевые слова:** диастолическая сердечная недостаточность, фиброз миокарда, блокаторы рецепторов ангиотензина, антагонисты альдостерона, коллаген.

O.N.Svirida, A.G.Ovchinnikov, F.T.Ageev

## Pathogenetic approach to therapy for patients with chronic heart failure and preserved left ventricular systolic function

AL Myasnikov Institute of Clinical Cardiology

## Summary

Pathogenetic treatment of diastolic heart failure (DHF) has not yet been developed. There is an assumption that the basis for the development of congestive heart failure (CHF) in most cases is diastolic dysfunction (DD) of the left ventricle (LV) due to myocardial fibrosis.

**The aim of the study.** To assess the effectiveness of the combined effects of taking angiotensin receptor blockers and competitive antagonists of aldosterone on the balance of collagen in patients with DHF.

**Materials and methods.** The study included 69 patients with CHF and preserved LV systolic function (ejection fraction >45%). Patients were randomly divided into two groups: 35 people received candesartan (32 mg/day) and 34 candesartan in combination with spironolactone (25 mg/day). At baseline, and after 6 months after the start of the study were carried out clinical examination, transthoracic echocardiography [assessment of diastolic function (DF) LV], a blood test to determine the level of Nt-proBNP, the balance of biochemical markers of collagen PIP, TIMP-1, TGF- $\beta$  and C1TP.

**Results.** Reversal of fibrosis was observed only with combination therapy candesartan and spironolactone, which was manifested in the form of reduced levels of NT-proBNP by 15% and TIMP-1 by 12% and an increase in the level of C1TP in 21% (in all cases  $p < 0,05$ ). Receiving only candesartan did not affect the balance of collagen: Levels of PIP, TIMP-1 and C1TP remained virtually unchanged, but significant increase in the content of TGF- $\beta$  by 15% ( $p < 0,05$ ) indicating the continuation of the endogenous stimulation of collagen synthesis. Positive effect of combination therapy on the progression of fibrosis was accompanied by a lack of progression of DD (no increase of E/E and E/Vp unlike that in the group receiving only candesartan) and a significant decrease in mean functional class CHF (24%), with the greatest degree patients with initially severe DD.

**Conclusion.** The findings suggest the need for patients with a more powerful DHF antifibrotic therapy.

**Key words:** diastolic heart failure, myocardial fibrosis, angiotensin receptor blockers, antagonists of aldosterone, collagen.

**Сведения об авторах**

*Свирида Ольга Николаевна – лаборант-исследователь научно-диспансерного отд. Института клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова ФГУ РКНПК Минздравсоцразвития РФ. E-mail: olgasvirida@yandex.ru*

*Овчинников Артем Германович – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. научно-диспансерного отд. Института клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова ФГУ РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел.: 414-69-73.*

*Агеев Фаиль Таитович – д-р мед. наук, проф., руководитель научно-диспансерного отд. Института клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова ФГУ РКНПК Минздравсоцразвития РФ. Тел./факс: (495) 414-66-12.*

У каждого второго пациента с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) при обследовании выявляется нормальная систолическая функция левого желудочка (ЛЖ). Патогенетическое лечение диастолической сердечной недостаточности (ДСН) до сих пор не разработано. Предполагается, что в основе развития ХСН в большинстве случаев лежит диастолическая дисфункция (ДД) ЛЖ. Основной причиной высокого давления наполнения ЛЖ является снижение податливости миокарда, в основе которого лежит увеличение числа волокон коллагена. Наибольшие перспективы в отношении улучшения механических свойств миокарда связывают с препаратами, блокирующими активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), поскольку именно ангиотензину II и альдостерону принадлежит ключевая роль в образовании фиброзной ткани. В экспериментальных и клинических исследованиях была показана высокая эффективность блокаторов ренин-ангиотензиновой системы в предотвращении/реверсии фиброза миокарда [1–4]. Тем не менее в трех крупных многоцентровых исследованиях с пациентами с ХСН и нормальной фракцией выброса ЛЖ (CHARM-Preserved Study, I-Preserve и PEP-CHF Study) не было выявлено влияния блокаторов РААС на снижение смертности [14–16]. По всей видимости, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ) и блокаторы рецепторов ангиотензинов (БРА), подавляя лишь один из многочисленных путей образования фиброзной ткани, неспособны «в одиночку» приводить к значимой реверсии фиброза. Не исключено, что для достижения положительного влияния на клиническое течение и прогноз заболевания необходимо оказывать более мощное воздействие на фиброз, например с помощью комбинированного приема БРА и конкурентных антагонистов альдостерона.

В данном исследовании мы оценили влияние на баланс коллагена у больных ДСН двух антифибротических стратегий: менее сильной – с помощью БРА кандесартана и более мощной – его комбинации с конкурентным антагонистом альдостерона – спиронолактоном.

**Материалы и методы**

В исследование отобрали больных старше 18 лет с ХСН и сохранной систолической функцией ЛЖ (фракция выброса >45%). Для подтверждения диагноза требовалось наличие у пациента в анамнезе декомпенсации СН: рентгенологических признаков артериально-венозной легочной гипертензии и/или парентерального введения петлевых диуретиков. Мы постарались свести до минимума вероятность включения в исследование пациентов, у которых ХСН была связана не с ДД, а с другими причинами: острым коронарным синдромом, изолированной правожелудочковой не-

достаточностью и с состояниями, протекающими с высоким сердечным выбросом (гипертиреозом, анемией). Из-за возможного риска развития гиперкалиемии в исследование также не включали пациентов с хронической почечной недостаточностью. Вместе с тем допускалось включение в исследование пациентов, у которых основной причиной обострения СН была пароксизмальная мерцательная аритмия (МА), которая в данном случае рассматривалась нами как фактор, способствующий развитию СН у больных со скрытой ДД.

В исследование были включены 69 больных (средний возраст – 67±1 лет; из них 39 мужчины). Все больные имели артериальную гипертензию и большинство (90%) – ишемическую болезнь сердца, 54% – нарушения углеводного обмена, 26% ранее перенесли инфаркт миокарда без патологических зубцов Q. У всех пациентов наблюдались симптомы незначительной/умеренной ХСН, 53% из них имели II функциональный класс (ФК) ХСН, 33% – I ФК, 15% – III ФК. У большинства больных (82%) уровень Nt-proBNP превышал 220 пг/мл – точку «разделения», используемую при диагностике ДСН.

Больные случайным образом были распределены на две группы: принимающие кандесартан (n=35) и принимающие кандесартан в сочетании со спиронолактоном (n=34). По исходным значениям клинических, эхокардиографических и биохимических показателей больные обеих групп достоверно не различались. На момент включения в исследование все больные принимали лекарственные препараты по поводу ХСН; при этом терапия не менялась (по группам препаратов) на протяжении по меньшей мере 6 последних месяцев. Начальная доза кандесартана составила 16 мг, спиронолактона – 25 мг/сут. Через 2 нед при отсутствии побочных эффектов (гипотонии, гиперкалиемии, дисфункции почек) доза кандесартана была увеличена вдвое, до 32 мг. Продолжительность приема применяемых препаратов составила 6 мес.

Все пациенты исходно, а также спустя 6 мес от начала исследования заполняли Миннесотский вопросник качества жизни, прошли клиническое обследование, всем была проведена трансторакальная эхокардиография в покое (определение структурных показателей сердца, оценка систолической и диастолической функции ЛЖ). Лабораторные исследования: определение в сыворотке крови уровня калия, натрия, креатинина, N-концевого фрагмента предшественника мозгового натрийуретического гормона (Nt-proBNP), биохимических маркеров баланса коллагена: маркеров синтеза коллагена – C-концевого пропептида проколлагена типа I (PIP); тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 (ТИМП-1) и трансформирующего ростового фактора-β (ТРФ-β) и маркера дегградации коллагена – C-концевого телопептида коллагена типа I (C1TP).



**Таблица 1. Сравнение исходных значений клинических, инструментальных и биохимических показателей у больных с ХСН, сохранной фракцией выброса ЛЖ и различной степенью тяжести ДД**

Показатель	Больные с синусовым ритмом		Больные с МА (n=18)
	незначительная ДД ЛЖ (n=35)	выраженная ДД ЛЖ (n=16)	
Средний ФК ХСН	1,38±0,11	1,85±0,16**	2,00±0,19**
Вопросник MLHFQ, баллы	34±4	45±5	49±5**
E/A	0,71±0,02	1,29±0,10***	–
DT, мс	238±10	198±8***	142±9***†††
ВИВР, мс	113±4	92±4***	69±3***†††
E/E'	10,2±0,5	13,5±1,0***	13,3±0,9***
E/Vp	1,52±0,07	1,95±0,09***	2,27±0,15***
<b>Лабораторные данные</b>			
ТИМП-1, нг/мл	389±66	327±58	562±126*†
TRF-β, нг/мл	7343±319	7775±709	6791±539*
PIР, мкг/л	98±5	105±11	106±6*
СИТР, мкг/л	3,4±0,4	3,7±0,7	5,4±1,0**
Nt-proBNP, пг/мл	265 (199; 435)	403 (207; 1045)*	1305 (747; 2092)***†††

*Примечание.* Клинические, инструментальные и лабораторные данные представлены как среднее значение по группе ± стандартная ошибка среднего (за исключением Nt-proBNP, где данные представлены как медиана – 25 и 75 процентиля).

\* $p < 0,1$ , \*\* $p < 0,05$  и \*\*\* $p < 0,01$  по сравнению с подгруппой незначительной ДД ЛЖ;

† $p < 0,1$ , †† $p < 0,05$  и ††† $p < 0,01$  по сравнению с подгруппой выраженной ДД ЛЖ.

Статистическая обработка полученных результатов была выполнена независимым медико-биологическим статистиком с помощью пакета прикладных статистических программ SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., США) с использованием стандартных алгоритмов вариационной статистики.

## Результаты

Мы стремились с помощью лекарственных препаратов воздействовать на основное звено патогенеза ДД – фиброз миокарда. Однако прежде чем понять, как изучаемые препараты влияют на баланс коллагена, мы провели одномоментное исследование, в котором сделали попытку оценить исходное содержание маркеров фиброза миокарда в зависимости от тяжести ДД.

Итак, у всех 69 участников исследования были выявлены эхокардиографические признаки ДД ЛЖ (у 35 больных – изолированное замедление расслабления, у 16 – псевдонормализация; у 18 больных признаки ДД регистрировались на фоне МА). Повышение давления наполнения ЛЖ – ключевой гемодинамический признак естественного течения ДД, которое означает собой переход от замедленного расслабления к псевдонормализации и используется для разграничения незначительных диастолических нарушений от выраженных. Поэтому пациентов с замедленным расслаблением в дальнейшем мы рассматривали как имевших незначительную ДД, а пациентов с псевдонормализацией – выраженную.

Различия в показателях ДФ ЛЖ у больных с незначительной и выраженной ДД были закономерными. Так, пациенты с выраженной дисфункцией характеризовались меньшими значениями ВИВР, DT, а также большим значением E/A по сравнению с этими показателями у больных с незначительной дисфункцией ЛЖ. Что касается подгруппы пациентов с МА, то именно у них были зарегистрированы самые низкие значения ВИВР и DT. Также как и у пациентов с выраженной ДД и у больных с МА соотношения скоростей E/E' и E/Vp были достоверно выше, чем у пациентов с незначительной ДД (табл. 1).

Как известно, повышение напряжения в стенке ЛЖ во время его диастолического наполнения является стимулом к выработке мозгового натрийу-

ретического гормона [5]. Средний уровень Nt-proBNP у больных с МА достоверно превосходил таковой у больных с незначительной и выраженной ДД ЛЖ, при этом практически у всех больных с МА содержание Nt-proBNP было выше 220 пг/мл – диагностического порога ДСН [6].

Основной причиной повышения давления наполнения ЛЖ считается снижение податливости ЛЖ из-за фиброза его миокарда. Поэтому мы предполагали, что пациенты с выраженной ДД ЛЖ, имеющие более тяжелую СН с более выраженными функциональными ограничениями и худшим качеством жизни, должны отличаться от пациентов с незначительной ДД и по выраженности фиброза миокарда. Однако выяснилось, что исходно указанные подгруппы не различались по содержанию биохимических маркеров баланса коллагена (табл. 1).

У больных же с МА баланс коллагена был смещен в сторону фиброза, что проявилось в тенденции к более высокому содержанию ТИМП-1 по сравнению с больными с синусовым ритмом ( $p < 0,1$ ). Уровни PIР и СИТР у больных с МА были выше, чем у больных с незначительной ДД (соответственно  $p < 0,1$  и  $p < 0,05$ ) и не отличались от таковых у больных с выраженной ДД (см. табл. 1).

Таким образом, оценивая исходные параметры изучаемых подгрупп, мы обнаружили важные особенности: пациенты с выраженной ДД ЛЖ характеризуются более тяжелой СН с более выраженными функциональными ограничениями и худшим качеством жизни, но не отличаются по содержанию биохимических маркеров баланса коллагена от пациентов с незначительной ДД. Пациенты с МА, СН и нормальной систолической функцией ЛЖ имеют выраженную ДД ЛЖ: по сравнению с пациентами с незначительной ДД у них тяжелее СН, выше давление наполнения ЛЖ (соотношение E/E' и E/Vp) и уровень Nt-proBNP.

Теперь, когда мы охарактеризовали исходное состояние пациентов с ДСН, перейдем к проспективной части нашего исследования. Применив антагонист ангиотензиновых рецепторов кандесартан и более мощную антифибротическую комбинацию его с спиронолактоном, мы стремились достичь реверсии фиброза миокарда, и тем самым улучшения механических свойств ЛЖ, а значит, и самочувствия больных.

**Таблица 2. Влияние различных режимов блокады РААС на биохимические показатели баланса коллагена и NT-proBNP у больных СН, сохранной систолической функцией ЛЖ и различной степенью тяжести ДД**

Показатель	Кандесартан		Кандесартан + спиронолактон	
	исходно	6 мес	исходно	6 мес
<b>ТИМП-1, нг/мл</b>				
Все больные	437±66	457±97	391±68	306±35 <sup>††</sup>
С незначительной ДД ЛЖ	543±134*	604±227	268±39	235±39 <sup>††</sup>
С выраженной ДД ЛЖ	266±55	293±59 <sup>†</sup>	375±94	387±85
С мерцательной аритмией	415±79	417±72	456±98	349±49 <sup>†</sup>
<b>ТРФ-β, нг/мл</b>				
Все больные	7017±340*	7246±304 <sup>†††</sup>	7577±391	6979±199
С незначительной ДД ЛЖ	7601±409	7480±673	7130±480	6820±242
С выраженной ДД ЛЖ	7058±1163	7516±475 <sup>†</sup>	8313±900	7236±441
С мерцательной аритмией	6077±575*	6844±425 <sup>†††</sup>	7862±925	6887±394
<b>РІР, мкг/л</b>				
Все больные	103±7	99±6	105±6	96±4
С незначительной ДД ЛЖ	100±7	93±9	96±7	92±4
С выраженной ДД ЛЖ	87±10	84±10	119±17	100±10
С мерцательной аритмией	103±8	109±12	111±6	99±9
<b>СІТР, мкг/л</b>				
Все больные	5,0±0,8	3,9±0,4	3,5±0,4	4,1±0,5 <sup>†</sup>
С незначительной ДД ЛЖ	4,1±0,8	4,1±0,7	3,0±0,3	3,9±0,4
С выраженной ДД ЛЖ	3,2±0,7	2,6±0,5	4,1±1,1	4,3±1,6
С мерцательной аритмией	6,3±1,5	3,6±0,5	4,1±0,8	4,4±0,8
<b>NT-proBNP, пг/мл</b>				
Все больные	382 (259; 977)	433 (208; 843)	455 (203; 1313)	432 (195; 1229) <sup>††</sup>
С незначительной ДД ЛЖ	285 (215; 415)	312 (190; 534)	230 (185; 455)	215 (173; 438)
С выраженной ДД ЛЖ	489 (382; 977)	454 (208; 716)	476 (119; 1112)	353 (83; 694)
С мерцательной аритмией	1808 (747; 3387)	1931 (843; 2201)	1259 (1150; 1656)	1339 (768; 1669)

Примечание. Данные представлены как среднее значение по группе ± стандартная ошибка среднего (за исключением NT-proBNP, где данные представлены как медиана – 25-й и 75-й процентиля).

<sup>†</sup> $p < 0,1$ , <sup>††</sup> $p < 0,05$ , <sup>†††</sup> $p < 0,01$  по сравнению со значением показателя на начальном визите.

\* $p < 0,1$ , \*\* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,01$  по сравнению с группой кандесартана на данном визите.

Лечение, вызывающее реверсию фиброза, должно сопровождаться повышением уровня СІТР и/или снижением ТИМП, РІР и ТРФ-β. Соответственно при прогрессировании фиброза будут наблюдаться противоположные изменения. У больных с ХСН и сохранной СФ ЛЖ кандесартан не влиял на баланс коллагена: показатели, отражающие синтез коллагена (РІР) и его распад (ТИМП-1 и СІТР), практически не изменились (табл. 2). Однако значимое повышение уровня ТРФ-β на 15% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с исходным значением свидетельствует о продолжении эндогенной стимуляции синтеза коллагена.

Комбинированная терапия также не влияла на синтез коллагена (уровни РІР и ТРФ-β практически не изменились), однако ускоряла его распад [снижение уровня ТИМП-1 на 12,4% ( $p < 0,05$ ) и повышение уровня СІТР на 21% ( $p < 0,1$ )], т.е. способствовала реверсии фиброза (см. табл. 2).

У пациентов с незначительной ДД препараты не влияли на синтез коллагена (уровни РІР и ТРФ-β практически не изменились). При комбинированной терапии отмечалось достоверное снижение уровня ТИМП-1 (на 16%). У больных с выраженной ДД препараты не влияли на уровень РІР. Вместе с тем под влиянием кандесартана выявлена тенденция к повышению уровней ТИМП-1 и ТРФ-β соответственно на 21 и 23%; в обоих случаях  $p < 0,1$  по сравнению с исходным значением, что говорит о некотором усилении фиброза. При комбинированной терапии отмечено повышение уровня СІТР ( $p < 0,05$  по сравнению с влиянием кандесартана), что говорит о реверсии фиброза.

У пациентов с МА при приеме кандесартана повысился уровень ТРФ-β (на 26%,  $p < 0,05$  по сравнению с исходным значением и  $p < 0,05$  по сравнению с действием комбинированной терапии), что указывает на усиление эндогенной стимуляции

синтеза коллагена. При комбинированной терапии отмечено снижение уровня ТИМП-1 на 29% ( $p < 0,1$  по сравнению с исходным значением) и РІР на 17% ( $p < 0,1$  по сравнению с действием кандесартана) и повышение уровня СІТР на 49% ( $p < 0,05$  по сравнению с действием кандесартана), что свидетельствует о реверсии фиброза (см. табл. 2).

За время лечения уровень NT-proBNP в группе кандесартана увеличился на 15%, а при комбинированной терапии, наоборот, уменьшился на 15% ( $p < 0,05$  по сравнению с исходным значением). При этом снижение уровня NT-proBNP при комбинированной терапии было достигнуто во всех трех подгруппах пациентов с различной степенью тяжести ДД (см. табл. 2).

Таким образом, реверсия фиброза наблюдалась лишь при комбинированной терапии кандесартаном и спиронолактоном, что проявлялось в виде снижения уровней NT-proBNP на 15% и ТИМП-1 на 12% и повышения уровня СІТР на 21% (во всех случаях  $p < 0,05$ ).

Считается, что реверсия фиброза приводит к улучшению податливости ЛЖ и соответственно улучшению ДФ [7, 8], которое у пациентов с незначительной и выраженной ДД проявляется по-разному. Так, у пациентов с выраженной ДД улучшение ДФ будет сопровождаться удлинением ВІВР и ДТ, уменьшением соотношения Е/А трансмитрального кровотока (табл. 3). Улучшение же ДФ у больных с незначительными диастолическими нарушениями (замедленным расслаблением) должно приводить к противоположным изменениям. Поэтому показатели трансмитрального кровотока целесообразно сопоставлять лишь у пациентов с одинаковой степенью тяжести ДД. Улучшение же ДФ у пациентов с незначительной и с выраженной ДД будет сопровождаться снижением соотношений Е/Е' и Е/√р.

Таблица 3. Влияние различных режимов блокады РААС на показатели ДФ ЛЖ у больных с различной степенью тяжести ДД

Показатель	Кандесартан		Кандесартан + спиронолактон	
	исходно	6 мес	исходно	6 мес
<b>Е/А</b>				
Все больные	0,97±0,08	0,94±0,08	0,81±0,06	0,85±0,07
С незначительной ДД ЛЖ	0,74±0,03	0,78±0,03	0,68±0,03	0,76±0,08
С выраженной ДД ЛЖ	1,42±0,15	1,35±0,18	1,13±0,11	0,99±0,13 <sup>††</sup>
С мерцательной аритмией	–	–	–	–
<b>DT, мс</b>				
Все больные	196±9	216±10 <sup>††</sup>	208±12	232±12 <sup>†††</sup>
С незначительной ДД ЛЖ	224±11	241±12	256±18	267±15
С выраженной ДД ЛЖ	190±11	204±12	208±9	265±27 <sup>††</sup>
С мерцательной аритмией	133±14	141±14	147±11	178±8 <sup>†††</sup>
<b>ВИВР, мс</b>				
Все больные	96±4	93±4	97±5	93±4
С незначительной ДД ЛЖ	110±4	103±5 <sup>††</sup>	116±6	108±5
С выраженной ДД ЛЖ	89±7	87±9	95±4	96±7
С мерцательной аритмией	70±3	74±5	68±4	73±4 <sup>††</sup>
<b>Е/Е'</b>				
Все больные	11,2±0,6	12,0±0,7 <sup>††</sup>	12,2±0,7	12,4±0,6
С незначительной ДД ЛЖ	10,1±0,5	10,6±0,7	10,3±0,8	10,9±0,8
С выраженной ДД ЛЖ	12,2±1,6	14,0±1,9 <sup>††</sup>	13,9±1,2	13,2±1,3
С мерцательной аритмией	11,4±1,0	13,0±1,1	14,6±1,2	14,2±1,4
<b>Е/Ур</b>				
Все больные	1,66±0,07	1,76±0,07 <sup>††</sup>	1,97±0,11	2,08±0,14
С незначительной ДД ЛЖ	1,47±0,07	1,55±0,06	1,59±0,14	1,59±0,08
С выраженной ДД ЛЖ	1,92±0,14	1,90±0,16	1,99±0,11	1,98±0,21
С мерцательной аритмией	1,82±0,18	2,14±0,10 <sup>††</sup>	2,59±0,17	2,90±0,27

Примечание. Данные представлены как среднее значение по группе ± стандартная ошибка среднего.

<sup>†</sup> $p < 0,1$ , <sup>††</sup> $p < 0,05$ , <sup>†††</sup> $p < 0,01$  по сравнению со значением показателя на начальном визите.

\* $p < 0,1$ , \*\* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,01$  по сравнению с группой кандесартана на данном визите.

Таблица 4. Влияние различных режимов блокады РААС на функциональный статус больных СН, сохранной систолической функцией ЛЖ и различной степенью тяжести ДД

Показатель	Кандесартан		Кандесартан + спиронолактон	
	исходно	6 мес	исходно	6 мес
<b>Средний ФК ХСН</b>				
Все больные	1,63±0,10	1,53±0,14	1,97±0,13	1,49±0,10 <sup>†††</sup>
С незначительной ДД ЛЖ	1,33±0,17	1,25±0,37	1,43±0,30	1,14±0,14
С выраженной ДД ЛЖ	1,63±0,11	1,56±0,13	2,13±0,17	1,43±0,14 <sup>†††</sup>
С мерцательной аритмией	2,00±0,30	1,83±0,40	2,00±0,26	1,80±0,20
<b>Вопросник MLHFQ, баллы</b>				
Все больные	45±4	39±4 <sup>††</sup>	42±3	34±3 <sup>†††</sup>
С незначительной ДД ЛЖ	33±8	34±10	35±5	27±6
С выраженной ДД ЛЖ	50±6	41±5 <sup>†</sup>	38±5	26±4 <sup>††</sup>
С мерцательной аритмией	47±7	40±11	51±7	45±3

Примечание. Данные представлены как среднее значение по группе ± стандартная ошибка среднего.

<sup>†</sup> $p < 0,1$ , <sup>††</sup> $p < 0,05$ , <sup>†††</sup> $p < 0,01$  по сравнению со значением показателя на начальном визите.

За время исследования моноприем кандесартана не препятствовал прогрессированию выраженности ДД ЛЖ, что проявлялось и повышением соотношений Е/Е' и Е/Ур (табл. 3). При этом наиболее заметное ухудшение ДФ отмечалось у пациентов с выраженной ДД и МА; у пациентов же с незначительной ДД показатели ДФ практически не изменились.

Прием кандесартана в сочетании со спиронолактоном предотвращал прогрессирование тяжести ДД ЛЖ, причем как у пациентов с незначительной, так и с выраженной ДД и МА, что подтверждается отсутствием значимого повышения соотношений Е/Е' и Е/Ур. Кроме того, у пациентов с выраженной ДД характер наполнения ЛЖ даже несколько улучшился (достоверно снизилось соотношение Е/А и увеличилось DT) (см. табл. 3). Таким образом, изменения показателей ДФ ЛЖ точно отражали изменения баланса коллагена.

Поскольку повышение диастолического давления в ЛЖ – универсальный механизм возникно-

вения сердечной одышки, мы вправе были ожидать, что изменение состояния пациентов будет идти параллельно изменению ДФ, как и оказалось. Лишь прием комбинированной терапии сопровождался улучшением ФК, причем этот эффект был наиболее заметен у пациентов с выраженной ДД (табл. 4). И изолированный прием кандесартана и его сочетание со спиронолактоном достоверно улучшали качество жизни.

Совместное применение БРА и конкурентного антагониста альдостерона было относительно безопасным: несмотря на достоверное повышение средних уровней биохимических показателей функции почек, число больных с гиперкалиемией и креатининемией увеличилось незначительно, а все случаи гиперкалиемии и креатининемии были клинически незначимыми.

### Обсуждение

В настоящем исследовании пациенты с выраженной ДД ЛЖ характеризовались более тяжелой



ХСН с более выраженными функциональными ограничениями и худшим качеством жизни, что выглядит вполне закономерным, поскольку именно степень тяжести ДД определяет уровень давления наполнения ЛЖ, а значит, и клиническую картину заболевания. Однако при этом данные пациенты не различались по содержанию биохимических маркеров баланса коллагена от больных с незначительной ДД.

Отсутствие различий между пациентами с замедленным расслаблением и псевдонормализацией по содержанию биохимических маркеров баланса коллагена, по-видимому, связано с тем, что, несмотря на достоверные отличия по уровню диастолического давления в данных подгруппах, достаточно большая доля больных с незначительной и выраженной ДД имела сопоставимое давление наполнения.

У больных с МА уровни PIP и C1TR были выше, чем у больных с незначительной ДД, и сопоставимы с таковыми у больных с выраженной ДД. Казалось бы, более высокое содержание C1TR (фрагмента деградации коллагена) говорит о смещении баланса коллагена в сторону его распада. Однако здесь нет никакого противоречия с предположением о высокой активности фибротических процессов в миокарде у пациентов МА. И вот почему. Принято считать, что фиброз происходит за счет повышения скорости синтеза коллагена и снижения скорости его распада. В нашем исследовании при проведении однофакторного регрессионного анализа была выявлена высокодостоверная и прямо пропорциональная зависимость между уровнем PIP и C1TR ( $r=+0,71$ ;  $p<0,001$ ), что говорит о том, что скорость распада коллагена зависит от скорости его образования: чем быстрее синтезируется коллаген (выше уровень PIP), тем быстрее он разрушается (выше уровень C1TR), и наоборот. По-видимому, подобным образом организм реагирует на значимое смещение баланса коллагена в ту или иную сторону, пытаясь «смягчить» это отклонение и придать ему более «физиологический» характер. В нашем исследовании показано, что чем выше уровень NT-proBNP, тем выше и содержание не только PIP, но и C1TR (соответственно  $r=+0,50$  и  $r=+0,45$ ; в обоих случаях  $p<0,01$ ). Уровень NT-proBNP четко соотносится с податливостью ЛЖ и, соответственно, косвенно отражает выраженность фиброза. При избыточном же распаде коллагена (например, при перегрузке объемом) организм, наоборот, пытается предотвратить неконтролируемое его разрушение, чередуя чрезмерным увеличением объема ЛЖ, для чего «запускает» синтез коллагена. Таким образом, и при избыточном отложении соединительной ткани, и при ускоренном ее распаде возрастает «кругооборот» коллагена: он быстрее синтезируется и быстрее разрушается.

Несмотря на активизацию обоих звеньев баланса коллагена, до тех пор пока не будет достигнуто новое состояние равновесия («баланса»), одно звено всегда будет преобладать над другим: при перегрузке давлением скорость синтеза будет превышать скорость распада, а при перегрузке объемом, наоборот, распад будет опережать синтез. О достижении истинного «баланса» можно будет говорить лишь когда скорости обоих процессов сравняются. Тот факт, что пациенты с МА и незначительной ДД имели сопоставимое соотно-

шение PIP/C1TR, говорит о том, что у первых было достигнуто состояние «баланса коллагена» (правда, на более высоком уровне). Осталось только понять, в какую сторону сместился баланс: в сторону фиброза или в сторону распада коллагена? Обнаружение высокого уровня PIP и C1TR не позволяет сделать вывод о том, активизация какого процесса (синтеза или распада) была первичным проявлением основного патологического процесса, а какого – компенсаторным ответом со стороны организма (вторичной реакцией). Однако поскольку у пациентов с МА в крови отмечался высокий уровень мозгового натрийуретического гормона, который четко соотносится с давлением наполнения ЛЖ и податливостью его [9], можно предположить, что у пациентов с МА патологический процесс идет именно в направлении ускоренного синтеза коллагена, в то время как активизация его распада является «сдерживающим» ответом.

Применение препаратов, способных повлиять на содержание ангиотензина II и альдостерона, который отводится ключевая роль в образовании соединительной ткани, должно было как минимум сыграть сдерживающую роль в накоплении коллагена и тем самым улучшить механические свойства ЛЖ, а значит, самочувствие больных.

Реверсия фиброза наблюдалась лишь при комбинированной терапии кандесартаном и спиронолактоном, что проявлялось в виде снижения уровней NT-proBNP (на 15%) и ТИМП-1 (на 12%) и повышения уровня C1TR (на 21%; во всех случаях  $p<0,05$ ). Прием только кандесартана не влиял на баланс коллагена: уровни PIP, ТИМП-1 и C1TR практически не изменились, а значимое повышение уровня TRF-β (на 15%;  $p<0,05$ ) свидетельствует о «продолжении» эндогенной стимуляции синтеза коллагена. Различие между двумя группами больных по влиянию на баланс коллагена объясняется различной силой воздействия на процессы фиброза. Все довольно просто: более мощная антифибротическая стратегия (два препарата) оказалась эффективнее. Иными словами, применение одного кандесартана не предотвращало дальнейшее прогрессирование фиброза. Добавление же к нему спиронолактона позволило не только приостановить фиброз, но и добиться его реверсии.

Различия между двумя группами лечения по влиянию на баланс коллагена в основном касались больных с выраженной ДД и МА. Наиболее выраженные различия между препаратами в этих подгруппах больных были выявлены в отношении C1TR и TRF-β, где прием препаратов сопровождался разнонаправленной динамикой этих показателей. Что касается синтеза коллагена, то ни кандесартан, ни комбинированная терапия практически не повлияли на этот процесс за исключением подгруппы больных с МА, где комбинированная терапия сопровождалась тенденцией к снижению уровня PIP. То, что наибольшие различия между препаратами по влиянию на баланс коллагена были выявлены у больных с выраженной ДД и МА, можно объяснить следующим образом. По всей видимости, у этих больных процесс фиброза миокарда оказался более «запущенным», то есть имелся необходимый морфологический «субстрат» (в виде «критического» объема коллагена) для реализации антифибротического эф-

фекта кандесартана и спиронолактона. Что же касается больных с незначительной ДД, то они, вероятно, практически не имели «излишнего» коллагена в своем сердце, и поэтому лечение этими препаратами не привело к сколько-нибудь значимому изменению содержания биохимических маркеров баланса коллагена. Образно выражаясь, у препаратов попросту не было возможности «проявить» себя в полной мере.

Отсутствие значимого влияния препаратов на синтез коллагена у включенных в исследование больных также требует отдельного объяснения, поскольку и ангиотензин II, и альдостерон способны усиливать синтез коллагена как за счет прямого воздействия на фибробласты, так и опосредованно, через влияние на ростовые факторы [10, 11]. В ряде исследований было показано, что блокаторы РААС уменьшают выработку коллагена у пациентов с артериальной гипертензией [12–13]. Однако в этих исследованиях наблюдали пациентов с бессимптомной артериальной гипертензией, то есть той стадией заболевания, при которой синтетическая активность фибробластов обычно незначительна и ее можно легко подавить с помощью блокаторов РААС. При ДСН же фибробласты, по всей видимости, настолько активно синтезируют коллаген, что «антифибротической» силы применявшихся нами препаратов хватило лишь на то, чтобы предотвратить дальнейшее увеличение выработки коллагена. В то же время прием этих препаратов пусть и не привел к снижению уровня С-концевого фрагмента предшественника коллагена, но по крайней мере не сопровождался его повышением, что можно расценить как стабилизацию скорости синтеза коллагена.

Важно, что реверсия фиброза при комбинированном приеме кандесартана и спиронолактона сопровождалась отсутствием прогрессирования ДД (отсутствие повышения E/E и E/Vp в отличие от такового при изолированном приеме кандесартана) и достоверным снижением среднего ФК ХСН. Такое комплексное воздействие позволяет говорить о необходимости использования у пациентов с ДСН более мощной антифибротической стратегии.

#### Литература

1. Brilla, Janicki, Weber K. *Cardioreparative effects of lisinopril in rats with genetic hypertension and left ventricular hypertrophy. Circulation* 1991; 83: 1771–9.

2. Aronow W, Kronzon I. *Effects of enalapril on congestive heart failure treated with diuretics in elderly patients with prior myocardial infarction and normal left ventricular function. Am J Cardiol* 1993; 71: 602–4.

3. Cuocolo A, Storto G, Izzo R et al. *Effects of valsartan on left ventricular diastolic function in patients with mild or moderate essential hypertension: comparison with enalapril. J Hypertens* 1999; 17: 1759–66.

4. Haber H, Powers E, Gimble L et al. *Intracoronary angiotensin-converting enzyme inhibition improves diastolic function in patients with hypertensive left ventricular hypertrophy. Circulation* 1994; 89: 2616–25.

5. Iwanaga Y, Nishi I, Furuiichi S et al. *B-type natriuretic peptide strongly reflects diastolic wall stress in patients with chronic heart failure: comparison between systolic and diastolic heart failure. J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 742–8.

6. Tschöpe C, Kaner M, Westermann D et al. *The role of NT-proBNP in the diagnostics of isolated diastolic dysfunction: correlation with echocardiographic and invasive measurements. Eur Heart J* 2005; 26: 2277–84.

7. Brilla C, Funck R, Rupp H. *Lisinopril mediated regression of myocardial fibrosis in patients with hypertensive heart disease. Circulation* 2000; 102: 1388–93.

8. Weber K, Brilla C, Janicki J. *Myocardial fibrosis: functional significance and regulatory factors. Cardiovasc Res* 1993; 27: 341–8.

9. Nishikumi T, Matsuoka H. *Routine measurement of natriuretic peptide to guide the diagnosis and management of chronic heart failure. Circulation* 2004; 109: e325–6.

10. Lopes B, Gonzalez A, Varo N et al. *Biochemical assessment of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. Hypertension* 2001; 38: 1222–6.

11. Kawano H, Do Y, Kawano Y et al. *Angiotensin II has multiple profibrotic effects in human cardiac fibroblast. Circulation* 2000; 101: 1130–7.

12. Querejeta R, Varo N, Lopez B et al. *Serum carboxy-terminal propeptide of procollagen type I is a marker of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. Circulation* 2000; 101: 1729–35.

13. DTez J, Querejeta R, Lopes B et al. *Losartan-dependent regression of myocardial fibrosis is associated with reduction of left ventricular chamber stiffness in hypertensive patients. Circulation* 2002; 105: 2512–7.

14. Solomon SD, Wang D et al. *Effect of candesartan on cause-specific mortality in heart failure patients: the Candesartan in Heart failure Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) program. Circulation* 2004; 110 (15): 2180–3.

15. Bernal J, Pitta SR, Thatai D. *Role of the renin-angiotensin-aldosterone system in diastolic heart failure: potential for pharmacologic intervention. Am J Cardiovasc Drugs* 2006; 6 (6): 373–81.

16. Cleland JG, Tendera M et al. *The perindopril in elderly people with chronic heart failure (PEP-CHF) study. Eur Heart J* 2006; 27 (19): 2338–45.

———— \* ————

И.Е.Чазова<sup>1</sup>, В.В.Фомин<sup>2</sup>, М.А.Разуваева<sup>2</sup>, А.В.Вигдорчик<sup>3</sup>

## Резистентная и неконтролируемая артериальная гипертензия в Российской Федерации: эпидемиологическая характеристика и подходы к лечению (Российский регистр неконтролируемой и резистентной артериальной гипертензии РЕГАТА «РЕзистентная Гипертензия АрТериАльная»)

<sup>1</sup>Институт клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова РКНПК Минздрава России;

<sup>2</sup>Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России, Москва;

<sup>3</sup>НОВАРТИС ФАРМА

### Резюме

**Цель.** Эпидемиологическая характеристика и оптимизация антигипертензивной терапии резистентной и неконтролируемой артериальной гипертензии (АГ) в Российской Федерации.

**Материалы и методы.** Проект РЕГАТА состоял из 2 этапов. Первый этап – РЕГАТА-ПРИМА, включил 532 пациента с неконтролируемой и резистентной АГ, у которых оценивали наличие ее вторичных форм, сердечно-сосудистых факторов риска, поражения органов-мишеней и ассоциированных клинических состояний, а также проводимую антигипертензивную терапию. Второй этап – РЕГАТА-ЭКСТРА, представлял собой многоцентровое открытое интервенционное исследование эффективности и переносимости фиксированной комбинации амлодипина и валсартана у 102 пациентов с неконтролируемой/резистентной эссенциальной АГ (56 мужчин и 46 женщин, средний возраст 59,8±7,6 года). В течение первых 4 нед пациенты получали фиксированную комбинацию валсартана и амлодипина (5/80, 5/160 или 10/160 мг/сут), после 4-й недели доза препаратов могла быть увеличена до 10/160 мг/сут и, кроме того, допускалось присоединение гидрохлоротиазида (до 25 мг/сут).

**Результаты.** В исследовании РЕГАТА-ПРИМА возраст пациентов составил от 29 до 96 лет (в среднем 59,3±11,1 года), из них 244 (45,9%) мужчины и 288 (54,1%) женщины. 210 (39,5%) из 532 пациентов относились к категории лиц пожилого возраста (мужчины старше 55 лет, женщины старше 65 лет). Уровни АД были очень высокими (в среднем 197,6±28,1/111,9±15,4 мм рт. ст.). У 10,7% пациентов была выявлена вторичная АГ. Значительная часть больных имели поражения органов-мишеней и/или ассоциированных клинических состояний. Максимальное число применяемых антигипертензивных препаратов составляло 7. В исследовании РЕГАТА-ЭКСТРА фиксированная комбинация валсартана и амлодипина обусловила достоверное снижение АД, достигшее максимума к концу 12-й нед лечения. У 67,6% больных было достигнуто целевое АД, у 72,5% – целевое систолическое АД (САД), у 96,1% – целевое диастолическое АД (ДАД). На эффективность фиксированной комбинации валсартана и амлодипина не оказывали влияния курение и наличие сахарного диабета (СД) типа 2. Переносимость фиксированной комбинации валсартана и амлодипина была хорошей.

**Заключение.** Резистентная и неконтролируемая АГ в Российской Федерации (РФ) характеризуется очень высоким риском осложнений и является вторичной у 10,7% пациентов. Фиксированная комбинация валсартана и амлодипина эффективна у больных резистентной и неконтролируемой АГ.

**Ключевые слова:** резистентная артериальная гипертензия, неконтролируемая артериальная гипертензия, эпидемиология, лечение.

IE.Chazova<sup>1</sup>, V.V.Fomin<sup>2</sup>, M.A.Razuvayeva<sup>2</sup>, A.V.Vigdorcbik<sup>3</sup>

### Resistant and uncontrolled essential hypertension in the Russian Federation: epidemiological characteristics and treatment approaches (Russian register of uncontrolled and resistant arterial hypertension – REGATA «Resistant essential hypertension»)

<sup>1</sup>ALMyasnikov Institute of Clinical Cardiology, Russian Cardiology Research-and-Production Complex;

<sup>2</sup>IMSechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health and Social Development of Russia;

<sup>3</sup>Novartis Farma

### Summary

**Aim:** to study the epidemiological characteristics and optimization of antihypertensive therapy for resistant and uncontrolled essential hypertension in the Russian Federation.

**Subjects and methods.** The REGATA project consisted of 2 steps. Step 1 is the REGATA-PRIMA project that enrolled 532 patients with uncontrolled and resistant essential hypertension who were assessed for secondary forms of essential hypertension, cardiovascular risk factors, target organ lesions, and associated clinical states, as well as the antihypertensive therapy performed. Step 2 is the REGATA-EXTRA project - a multicenter, open-label, observational non-interventional study of amlodipine/valsartan fixed dose combination efficacy and tolerability, which included 102 patients (56 men and 46 women; mean age 59,8±7,6 years) with uncontrolled/resistant essential hypertension. Within the first four weeks they received a fixed-dose



combination of amlodipine and valsartan (5/80, 5/160, or 10/160 mg/day); after 4 weeks the dosage of the drugs might be increased up to 10/160 mg/day and, in addition, hydrochlorothiazide (as high as 25 mg/day) may be added.

**Results.** In the REGATA-PRIMA study, the patients' age was 29 to 96 years (mean 59,3±11,1 years), of them there were 244 (45,9%) men and 288 (54,1%) women. Two hundred and ten (39,5%) of the 532 patients were an elderly group (men >55 years; women >65 years). Blood pressures (BP) were very high (mean 197,6±28,1/111,9±15,4 mm Hg). Secondary hypertension was detected in 10,7%. Most of the patients showed target organ damage and/or associated clinical states. The maximum number of used antihypertensive drugs was 7. In the REGATA-EXTRA study, the fixed-dose combination of valsartan and amlodipine caused a significant BP lowering that peaked by the end of 12 weeks of therapy. 67,6, 72,5, and 96,1% of the patients achieved goal BP, goal systolic BP, and goal diastolic BP, respectively. Smoking and type 2 diabetes mellitus had no impact on the efficacy of the fixed-dose combination of valsartan and amlodipine. This combination was well tolerated.

**Conclusion.** Resistant and uncontrolled essential hypertension in the Russian Federation is characterized by a very high risk of complications and it is secondary in 10,7%. The fixed-dose combination of valsartan and amlodipine is effective in patients with resistant and uncontrolled essential hypertension.

**Key words:** resistant essential hypertension, uncontrolled essential hypertension, epidemiology, treatment.

#### Сведения об авторах

Чазова ИЕ. – д-р мед. наук, проф., д-р. Института клинической кардиологии им. АЛМясникова РКНПК Минздрава-соцразвития РФ, президент Российского медицинского общества по артериальной гипертензии.

Фомин В.В. – д-р мед. наук, проф. каф. терапии и профболезней МПФ, декан фак. довузовского образования ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава-соцразвития РФ. Тел.: (499)248-72-77. E-mail: fomin\_vic@mail.ru

Разуваева МА. – аспирант каф. терапии и профболезней ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава-соцразвития РФ.

Вигдорчик АВ. – канд. мед. наук, ст. медицинский советник по кардиологии НОВАРТИС ФАРМА.

#### Введение

Увеличение числа больных артериальной гипертензией (АГ), у которых удается достичь и стойко поддерживать целевое артериальное давление (АД), крайне актуально прежде всего с точки зрения оптимизации управления их долгосрочным прогнозом. Решению этой задачи во многом способствует рациональная комбинированная антигипертензивная терапия [1]. Тем не менее число пациентов, у которых можно констатировать стойкое снижение АД до целевых уровней, в нашей стране по-прежнему не превышает 15%, что во многом связано с нерациональным выбором лекарственных средств, ошибками в выборе режима их применения, а также недостаточным использованием их приоритетных комбинаций [2]. Аналогичные данные, свидетельствующие о значительной частоте недостаточно адекватного контроля АД в общей популяции, демонстрируют и эпидемиологические исследования, проводимые в других странах [3].

Особую проблему представляет собой резистентная АГ, диагностируемая при невозможности снижения АД с помощью комбинации из 3 антигипертензивных препаратов, обязательно включающей диуретик, и немедикаментозных методов лечения [4]. Резистентная АГ, очевидно, не является казуистически редкой. Частота ее, по данным специализированных клинических центров, может достигать 20% [5, 6], и этот показатель остается высоким даже после исключения случаев так называемой псевдорезистентной АГ [5], среди причин которой лидируют АГ «белого халата», использование манжеты тонометра неадекватного размера у пациентов с большой окружностью плеча, а также выраженное увеличение жесткости стенки периферических сосудов, присущее части пожилых больных [4]. Группу больных резистентной АГ зачастую удается выделить и при проведении крупных клинических исследований (например, исследования ALLHAT [7]), включающих только больных эссенциальной АГ.

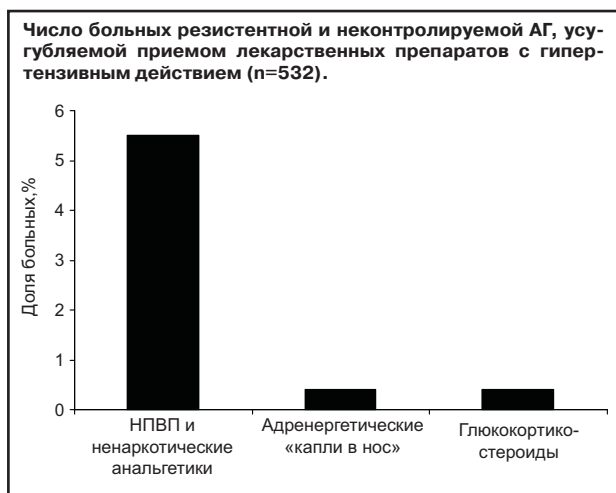
Обследование больных резистентной АГ бывает направлено в первую очередь на поиск вторичных ее форм, что всегда предопределяет увеличе-

ние продолжительности пребывания в стационарах и частоты госпитализаций, количества амбулаторных визитов к врачу, а также применение не всегда доступных в полном объеме и дорогостоящих методов исследования, результаты которых зачастую малоинформативны и неоднозначны, тем более что истинно вторичную АГ удается подтвердить далеко не у всех больных [8].

Особое значение приобретают оптимизация подходов к своевременной диагностике резистентной и неконтролируемой АГ и обследования этой категории пациентов и выработка рациональных подходов к проведению у них комбинированной антигипертензивной терапии. Формированию более объективных представлений о частоте резистентной и неконтролируемой АГ, факторах, обуславливающих ее возникновение, и особенностях ее течения может в определенной степени способствовать проведение оригинальных отечественных клинико-эпидемиологических исследований. Их результаты могут быть в дальнейшем использованы для определения оптимальных схем антигипертензивной терапии, а также для разработки национальных рекомендаций по диагностике и лечению неконтролируемой и резистентной АГ, аналогичных разработанным комитетом экспертов American Heart Association [9]. В связи с этим с целью характеристики причин и механизмов развития резистентной и неконтролируемой АГ в Российской Федерации (РФ), а также для изучения возможности оптимизации лечения этих пациентов с использованием фиксированной комбинации амлодипина и валсартана Российское Медицинское Общество по Артериальной Гипертензии (РМОАГ) при поддержке Научного Общества Нефрологов России начало формирование национального регистра пациентов с резистентной и неконтролируемой АГ – открытую наблюдательную программу – Регистр Резистентной Артериальной Гипертензии – РЕЗистентная Гипертензия АрТериАльная, с анализом эффективности лечения препаратом Эксфорж (РЕГАТА). Программа РЕГАТА включала 2 этапа: эпидемиологический ретроспективный

Таблица 1. Варианты вторичной АГ у больных резистентной и неконтролируемой АГ (n=532)

Вариант	Число больных	Частота среди других вариантов вторичной АГ, % (n=57)	Частота среди всех больных резистентной АГ, % (n=532)
Хроническое заболевание почек	31	54,4	5,8
Стенозирующее поражение почечных артерий	12	21,1	2,3
Первичный гиперальдостеронизм	9	15,8	1,7
Заболевание щитовидной железы с нарушением ее функции	4	7,0%	0,08
Коарктация аорты	1	1,7%	0,02



анализ пациентов с резистентной/неконтролируемой АГ (РЕГАТА-ПРИМА) и открытое наблюдательное интервенционное проспективное исследование эффективности и переносимости фиксированной комбинации амлодипина и валсартана (Эксфорж) у пациентов с резистентной/неконтролируемой АГ (РЕГАТА-ЭКСТРА) [10].

### Материалы и методы

Открытая наблюдательная программа Регистр Резистентной Артериальной Гипертонии – РЕЗИСТЕНТНАЯ ГИПЕРТОНИЯ АРТЕРИАЛЬНАЯ, с анализом эффективности лечения препаратом Эксфорж представляла собой многоцентровое открытое наблюдательное исследование. Решение о включении в программу принималось наблюдающим пациентом врачом.

Программа РЕГАТА проводилась в соответствии с требованиями Хельсинской декларации и других международных документов, регламентирующих права человека и пациента, а также законодательством РФ. Процедура включения в программу подразумевала обязательное подписание пациентом формы информированного согласия. Пациент имел право в любое время отказаться от участия в программе без объяснения причин.

1-й этап проекта РЕГАТА (РЕЗИСТЕНТНАЯ ГИПЕРТОНИЯ АРТЕРИАЛЬНАЯ – ПРИЧИНЫ И МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ – РЕГАТА-ПРИМА) был посвящен эпидемиологическому ретроспективному анализу пациентов с резистентной/неконтролируемой АГ. В исследование включали больных с резистентной (не уступающей комбинации из представителей 3 классов антигипертензивных препаратов, включая диуретик) АГ или неконтролируемой (не уступающей комбинации из представителей 2 классов антигипертензивных препаратов в полной дозе) АГ. Объем обследования конкретного пациента определялся исследователем и зависел от возможностей клинического центра. Информацию о паци-

ентах вносили в специальную регистрационную карту, включавшую демографические характеристики и данные, необходимые для соблюдения полного протокола обследования больного АГ согласно рекомендациям РМОАГ [4], в том числе параметры, отражающие поражение органов-мишеней и ассоциированные клинические состояния.

2-й этап проекта РЕГАТА представлял собой наблюдательное интервенционное проспективное исследование эффективности и переносимости фиксированной комбинации амлодипина и валсартана (Эксфорж) у пациентов с резистентной/неконтролируемой АГ (РЕГАТА-ЭКСТРА).

Пациентов, обследованных на 1-м этапе (РЕГАТА-ПРИМА), которым, по мнению экспертов РМОАГ, было показано и назначено лечение фиксированной комбинацией амлодипина и валсартана (Эксфорж 5/80 или 5/160 или 10/160 мг 1 раз в сутки), включали во 2-й этап исследования. Визит назначения терапии считался первым. При последующих визитах исследователь мог изменять дозу препарата, основываясь на достигнутом уровне АД и переносимости препарата пациентом. В соответствии с обычной клинической практикой ожидалось, что 2-й визит будет осуществлен через 1 мес после начала лечения.

На 2-м визите проводили измерение АД, частоты сердечных сокращений (ЧСС) и регистрацию отеков. При недостаточном снижении АД допускалось присоединение гидрохлоротиазида (до 25 мг/сут).

Завершающий 3-й визит 2-го этапа проводился спустя 12 нед с момента начала исследования. Наряду с динамикой АД, ЧСС, наличия и степени выраженности отеков, а также параметров, характеризующих риск сердечно-сосудистых осложнений и поражения органов-мишеней, также оценивалась переносимость фиксированной комбинации амлодипина и валсартана пациентом.

Статистический анализ результатов осуществлялся исследовательским комитетом РМОАГ с использованием параметрических и непараметрических статистических методов; достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты

#### Общая характеристика пациентов

По завершении исследования РЕГАТА-ПРИМА оказалась доступной для анализа информация о 532 больных в возрасте от 29 до 96 лет (в среднем  $59,3 \pm 11,1$  года), из них 244 (45,9%) мужчины и 288 (54,1%) женщины. 210 (39,5%) из 532 пациентов относились к категории лиц пожилого возраста (мужчины старше 55 лет, женщины старше 65 лет).

У 475 (89,3%) пациентов была констатирована эссенциальная, у 57 (10,7%) – вторичная АГ, варианты которой представлены в табл. 1. Как видно, самыми частыми из них оказались хронические заболевания почек, стенозирующее поражение

**Таблица 2. Ассоциированные клинические состояния у больных резистентной и неконтролируемой АГ (n=532)**

Ассоциированные клинические состояния	Частота, n (%)
Стабильная стенокардия	39 (7,3)
Острый инфаркт миокарда/острый коронарный синдром	69 (13,0)
Вмешательство на коронарных артериях	27 (5,1)
Ишемический мозговой инсульт	36 (6,8)
Геморрагический мозговой инсульт	3 (0,6)
Транзиторная ишемическая атака	34 (6,4)
Расслаивающаяся аневризма аорты	1 (0,2)
Хроническая сердечная недостаточность	143 (26,9)

**Таблица 3. Количество антигипертензивных препаратов, принимаемых больными резистентной АГ (n=532)**

Число препаратов	Количество больных, n (%)
2*	76 (14,3)
3	249 (46,8)
4	147 (27,6)
5	41 (7,7)
6	14 (2,6)
7	5 (0,9)

Примечание. \*Пациенты с неконтролируемой АГ.

почечных артерий и первичный гиперальдостеронизм, реже развитие АГ удавалось напрямую связать с нарушениями функции щитовидной железы и коарктацией аорты.

30 (6,3%) из 475 пациентов с эссенциальной АГ принимали лекарственные препараты, которые могли приводить к нарастанию АГ вплоть до формирования ее резистентности к лечению. Доля таких пациентов среди всех включенных в исследование больных резистентной АГ составила 5,6%. Чаще всего (см. рисунок) при детальном знакомстве с анамнезом констатировали длительный прием нестероидных противовоспалительных препаратов и ненаркотических анальгетиков, иногда неконтролируемый врачами, а также глюкокортикостероидов и адренергических «капель в нос».

У 272 (51,1%) из 532 больных резистентной АГ при обследовании подозревали синдром обструктивного апноэ во время сна. У 217 (79,8%) пациентов он был диагностирован клинически, 7 (2,6%) пациентам была выполнена полисомнография.

468 (88,0%) пациентам была проведена диагностика метаболического синдрома исходя из общепринятых критериев [4, 12]. У 286 (61,1%) обследованных был диагностирован метаболический синдром.

516 (96,7%) из 532 больных были обследованы с целью выявления сахарного диабета (СД) типа 2. Его наличие было подтверждено у 19,2% из них.

У 512 (96,2%) из 532 больных были определены параметры, характеризующие обмен липопротеидов, у 405 (79,1%) из них были нарушения обмена липопротеидов.

### Поражение органов-мишеней

У 511 (96,1%) из 532 больных был предпринят целенаправленный поиск гипертрофии левого желудочка (ЛЖ) с помощью соответствующих электрокардиографических (индекс Соколова–Луон, индекс Cornell) или эхокардиографических (индекс массы миокарда ЛЖ) критериев. Признаки гипертрофии ЛЖ были зарегистрированы у 305 (57,3%) больных.

311 (58,4%) из 532 пациентов был проведен качественный тест на микроальбуминурию. Его результаты оказались положительными у 71 (22,8%) больного.

455 (85,5%) из 532 больных была определена сывороточная концентрация креатинина. Гиперкреатининемия (мужчины выше 133 мкмоль/л, женщины выше 124 мкмоль/л) была отмечена у 37 (8,1%) из них.

### Ассоциированные клинические состояния

Ассоциированные клинические состояния были диагностированы у 176 (33,1%) из 532 больных, нередко в сочетаниях. Частота их отдельных вариантов представлена в табл. 2. Как видно, самым частым оказался острый инфаркт миокарда/острый коронарный синдром в анамнезе. Частота ишемического инсульта и транзиторных ишемических атак была близка к частоте стабильной стенокардии. У 1 (0,2%) больного была выявлена расслаивающаяся аневризма аорты, 1 (0,2%) пациент перенес эпизод тромбоемболии легочной артерии.

### Фармакотерапия

Большинство пациентов получали 3 и более (табл. 3) антигипертензивных препарата. Максимальное число применявшихся представителей

**Таблица 4. Частота приема отдельных классов антигипертензивных препаратов пациентами с резистентной и неконтролируемой АГ (n=532)**

Антигипертензивные препараты*	Частота приема, n (%)
Тиазидные и тиазидоподобные диуретики	386 (72,6)
Петлевые диуретики	38 (7,1)
Спиронолактон	46 (8,6)
β-адреноблокаторы	364 (68,4)
ИАПФ	355 (66,7)
БРА	168 (31,6)
Дигидропиридиновые антагонисты кальция	280 (52,6)
Недигидропиридиновые антагонисты кальция	60 (11,3)
Агонисты имидазолиновых рецепторов	63 (11,8)
α-адреноблокаторы	24 (4,5)
Препараты центрального действия**	3 (0,6)

Примечание. \*Общая частота не соответствует 100%, поскольку все пациенты принимали комбинации антигипертензивных препаратов; \*\*неселективные, в том числе клонидин и комбинированные препараты на его основе.



**Таблица 5. Динамика САД и ДАД под действием фиксированной комбинации валсартана и амлодипина у больных неконтролируемой и резистентной АГ (n=102)**

Показатель	2-й визит (4 нед лечения)	3-й визит (12 нед лечения)
САД, мм рт. ст.	142,6±12,4*	133,2±5,7**
ДАД, мм рт. ст.	88,3±6,4**	86,9±4,7**
ЧСС, уд/мин	80,7±5,9	81,3±7,9

Примечание. \* $p < 0,05$  против исходного; \*\* $p < 0,01$  против исходного.

**Таблица 6. Число больных неконтролируемой и резистентной АГ, у которых было достигнуто целевое АД (n=102)**

Показатель	Число больных n (%)	
	2-й визит (4-я неделя лечения)	3-й визит (12-я неделя лечения)
АД < 140/90 мм рт. ст.	51 (50,0)	69 (67,6)*
САД < 140 мм рт. ст.	53 (51,9)	74 (72,5)*
ДАД < 90 мм рт. ст.	87 (85,2)	98 (96,1)

Примечание. \* $p < 0,05$  против 2-го визита.

классов антигипертензивных препаратов достигало 7. Как видно из табл. 3, почти половина пациентов принимали 3 антигипертензивных препарата, более четверти – 4, почти 8% – 5; заметно реже применяли комбинации, состоящие из 6 или 7 антигипертензивных препаратов.

В табл. 4 представлено распределение по частоте приема отдельных классов антигипертензивных препаратов пациентами с неконтролируемой и резистентной АГ. Как видно, более 70% больных принимали тиазидные или тиазидоподобные диуретики, чуть более 7% – петлевые диуретики, почти 9% – спиронолактон, около 70% –  $\beta$ -адреноблокаторы и ингибиторы АПФ (ИАПФ), около трети больных – блокаторы рецепторов ангиотензина II (БРА). Более 50% больных резистентной и неконтролируемой АГ получали дигидропиридиновые антагонисты кальция, более 11%, соответственно, недигидропиридиновые антагонисты кальция и агонисты имидазолиновых рецепторов, почти 5% –  $\alpha$ -адреноблокаторы, менее 1% – клонидин и комбинированные препараты на его основе.

#### **Эффективность фиксированной комбинации валсартана и амлодипина в лечении неконтролируемой и резистентной АГ**

Участие в исследовании РЕГАТА-ЭКСТРА успешно завершили согласно протоколу 102 пациента. Все включенные в исследование страдали эссенциальной АГ; выделенные на 1-м (РЕГАТА-ПРИМА) этапе проекта. Больные вторичными формами АГ из исследования были исключены ввиду заведомо низкой эффективности любой антигипертензивной терапии и потребности в большей степени в специфическом, направленном на устранение причины стойкого повышения АД лечении. Все больные, включенные в исследование РЕГАТА-ЭКСТРА, страдали неконтролируемой АГ (согласно критериям, принятым для проекта РЕГАТА, таковой считали не уступающую комбинации из представителей 2 классов антигипертензивных препаратов в полной дозе), в том числе 38 (37,2%) – истинно резистентной АГ, т.е. не отвечающей на терапию комбинацией из 3 антигипертензивных препаратов, включающей диуретик [4]. Возраст пациентов составлял от 42 до 74

лет, из них пожилых больных (мужчины старше 55 лет, женщины старше 65 лет) – 59 (57,8%), из них 41 мужчина и 18 женщин. Документированная длительность АГ составляла от 3 до 43 лет. Только у 8 (7,8%) пациентов была констатирована изолированная систолическая АГ, у остальных она была систолодиастолической. Все больные, включенные в исследование РЕГАТА-ЭКСТРА, имели очень высокий риск осложнений.

Исходно 22 (21,6%) пациентам была назначена фиксированная комбинация валсартана и амлодипина в дозе 5/80 мг/сут, 42 (41,2%) – в дозе 5/160 мг/сут, 38 (37,2%) – в дозе 10/160 мг/сут. После 2-го визита 44 (43,1%) продолжили фиксированную комбинацию валсартана и амлодипина в дозе 5/160 мг/сут; 58 (56,9%) – в дозе 10/160 мг/сут. 45 (44,1%) больных был присоединен гидрохлоротиазид; в эту группу вошли все 38 больных с истинно резистентной АГ.

Как видно из табл. 5, достоверного снижения систолического и диастолического АД (САД и ДАД) удалось достичь уже ко 2-му визиту. Однако увеличение дозы валсартана и амлодипина, а у части больных – присоединение гидрохлоротиазида – позволило добиться дополнительного достоверного снижения к окончанию 12-й недели лечения (3-й визит). Существенной динамики ЧСС при этом не отмечалось.

Переход на более высокий дозовый уровень комбинации валсартана и амлодипина сопровождался достоверным увеличением числа пациентов, у которых были констатированы величины АД, соответствующие целевым в общей популяции (<140/90 мм рт. ст.) (табл. 6). Увеличение числа этих пациентов произошло преимущественно за счет прироста группы пациентов, у которых стали соответствовать целевым величины САД. В группе больных СД типа 2, у курильщиков и пациентов с истинно резистентной АГ достигнутая к концу 12-й недели лечения степень снижения САД и ДАД была практически одинаковой (табл. 7).

Частота нежелательных явлений была невысокой и не возрастала по мере увеличения продолжительности применения комбинации валсартана и амлодипина, а также при присоединении гидрохлоротиазида. Увеличение дозы амлодипина не приводило к достоверному росту числа отеков лодыжек; ни у одного из больных они не

Таблица 7. Достигнутая степень снижения АД к 12-й неделе лечения у больных неконтролируемой и резистентной АГ

Динамика АД, мм рт. ст.	В целом по группе обследованных (n=102)	Курильщики (n=24)	СД типа 2 (n=22)	Истинно резистентная АГ (n=38)
САД	-34,0±7,8	-33,6±9,2	-34,2±10,6	-32,8±12,4
ДАД	-13,5±4,6	-13,7±5,8	-12,9±9,5	-13,1±8,9

стали причиной отмены назначенных антигипертензивных препаратов или снижения их дозы.

Следует отметить, что все 15 больных, у которых отеки отмечались в начале исследования РЕГАТА-ЭКСТРА, исходно получали дигидропиридиновые антагонисты кальция (8 – амлодипин, 5 – нифедипин пролонгированного действия, 2 – фелодипин).

### Обсуждение

Основными задачами проекта РЕГАТА было уточнение эпидемиологических характеристик и оптимизация антигипертензивной терапии при резистентной и неконтролируемой АГ. Очевидно, что эти пациенты составляют значительную часть среди повторно обращающихся в специализированные амбулаторные и стационарные медицинские учреждения, а реализация программы их обследования, предполагающей в первую очередь настойчивый поиск вторичных форм АГ, требует значительных временных и финансовых затрат прежде всего за счет применения разнообразных высокотехнологических методов обследования.

Больные, включенные в проект РЕГАТА-ПРИМА, были близки по основным параметрам к жителям нашей страны, страдающим эссенциальной АГ [13]. Обращал на себя внимание очень большой диапазон значений возраста обследованных (от 29 до 96 лет). Среди больных резистентной и неконтролируемой АГ было констатировано некоторое преобладание женщин, что в целом согласуется с общепринятыми представлениями [9]. Величины САД и ДАД у больных резистентной и неконтролируемой АГ были очень высокими (максимальные величины САД составляли 290 мм рт. ст., ДАД – 230 мм рт. ст.). Анализ средних величин индекса массы тела и окружности талии позволял сделать вывод, что у большинства больных резистентной и неконтролируемой АГ наблюдается абдоминальное ожирение (это отражает общепопуляционную тенденцию роста частоты абдоминального ожирения в нашей стране именно у женщин [14]). Ожирение, прежде всего абдоминальное, занимает особое место среди ассоциированных с АГ факторов риска, поскольку играет одну из ведущих ролей в становлении и нарастании повышенного АД вплоть до приобретения рефрактерности к проводимому лечению [15].

Вторичная АГ была констатирована у 10,7% пациентов с неконтролируемой и резистентной АГ, включенных в проект РЕГАТА-ПРИМА. Данные, полученные при обследовании отечественной популяции больных неконтролируемой и резистентной АГ, близки к результатам тех немногочисленных исследований, в которых были приняты целенаправленные попытки характеристики причин резистентной АГ [16]. Понятно, что констатация трудноконтролируемой и тем более резистентной АГ всегда должна рассматриваться как первоочередной аргумент в пользу исключе-

ния вторичных ее вариантов, хотя предпринимаемое в этой ситуации обследование зачастую является дорогостоящим, затратным по времени и труднодоступным, особенно на амбулаторном этапе.

В исследовании РЕГАТА-ПРИМА было проведено изучение этиологической структуры вторичной АГ. Оказалось, что более чем у половины представителей группы пациентов со вторичной АГ ее развитие связано с наличием хронических заболеваний почек. Очевидно, их по-прежнему нередко выявляют впервые, ориентируясь именно на неконтролируемую или резистентную АГ, часто наблюдаемую на этапе хронической почечной недостаточности, когда эффективность большинства патогенетических методов лечения полностью утрачена или заметно уменьшена. Несколько реже (21,1% всех случаев вторичной АГ) резистентная АГ была связана со стенозирующим поражением почечных артерий. У 15,8% больных вторичными формами АГ ее резистентность к антигипертензивной терапии оказалась связанной с первичным гиперальдостеронизмом, который, по некоторым данным [17], лидирует в структуре причин неконтролируемой АГ. Среди других вариантов эндокринных АГ в исследовании РЕГАТА-ПРИМА у 7,0% пациентов группы вторичной АГ были отмечены заболевания щитовидной железы с нарушением ее функции. Их частота у пациентов с неконтролируемой и резистентной АГ составила в целом менее 1%. В исследовании РЕГАТА-ПРИМА не выявлено ни одного случая феохромоцитомы и катехоламин-продуцирующих опухолей внадпочечниковой локализации. Повидимому, драматичность развития клинических проявлений феохромоцитомы (прежде всего гипертонический криз с чертами злокачественности) и относительная ее редкость обуславливают то обстоятельство, что подобные пациенты нечасто становятся объектом эпидемиологических исследований [18]. 1 (1,7% среди больных вторичной АГ и 0,02% от общего числа пациентов с резистентной и неконтролируемой АГ) пациент имел коарктацию аорты, которую называют среди причин резистентной и неконтролируемой АГ. При этом необходимо иметь в виду, что при ее расположении ниже аортальной дуги характерные клинические признаки могут быть менее выражены, а ведущим из них может стать АГ [19].

Наряду со вторичными вариантами АГ в клинической оценке резистентной и неконтролируемой АГ необходимо обращать особое внимание на потенциально устранимые причины, способствующие ее нарастанию, к которым относятся прежде всего прием лекарственных препаратов с потенциально гипертензивным действием [9]. 5,5% больных резистентной и неконтролируемой АГ постоянно принимали нестероидные противовоспалительные препараты и ненаркотические анальгетики, зачастую не по назначению врача; 0,4% больных самостоятельно принимали адре-

нергические «капли в нос». Детальное уточнение лекарственного анамнеза, таким образом, можно рассматривать в ряду наиболее реальных подходов к устранению феномена резистентной АГ.

По результатам исследования РЕГАТА-ПРИМА, одной из наиболее частых причин формирования неконтролируемой и резистентной АГ в нашей стране является синдром обструктивного апноэ во время сна, значительно чаще диагностируемый клинически, чем на основании специальных методов обследования (полисомнографии). Вклад синдрома обструктивного апноэ во время сна в развитие и нарастание АГ сегодня не вызывает сомнения. Ему сопутствуют выраженная гиперактивация симпатической нервной системы, продукция компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и эндотелина-1, способствующие росту АД и значительному ускорению темпа поражения органов-мишеней [11]. Эти данные определяют необходимость прицельного обследования на наличие синдрома обструктивного апноэ во время сна всех больных с неконтролируемой и резистентной АГ – своевременное применение специальных методов лечения (прежде всего CPAP-терапии) у этих пациентов, как правило, приводит к заметному снижению АД, повышению массы тела, а также коррекции инсулинорезистентности.

Исследование РЕГАТА-ПРИМА показало, что почти 90% пациентам с выявленной резистентной и неконтролируемой АГ проводят целенаправленную диагностику метаболического синдрома [12]. Подтвердить его наличие удастся более чем у 60% – очевидно, что наряду с комбинированной антигипертензивной терапией эти пациенты нуждаются и в терапевтических воздействиях, направленных на устранение соответствующих обменных нарушений.

Результаты отечественных эпидемиологических исследований четко свидетельствуют о том, что целенаправленного клинико-лабораторного обследования, направленного на выявление общепринятых признаков поражения органов-мишеней (гипертрофия ЛЖ, микроальбуминурия, атеросклеротическое поражение сонных артерий, умеренная гиперкреатининемия) [4], зачастую не проводят, даже если вероятность их наличия очень велика, например при СД типа 2 и доказанной ишемической болезни сердца [29]. Результаты исследования РЕГАТА-ПРИМА свидетельствуют о том, что при неконтролируемой и резистентной АГ прицельный поиск признаков поражения органов-мишеней, как правило, осуществляется: у подавляющего большинства больных с помощью электро- или эхокардиографического критериев была диагностирована гипертрофия ЛЖ, почти 60% выполняли качественный тест на микроальбуминурию, более чем 85% – определяли концентрацию креатинина в сыворотке крови. Можно констатировать, что частота признаков поражения органов-мишеней у больных резистентной и неконтролируемой АГ очень высока – более чем у 55% удается выявить гипертрофию ЛЖ, почти у 23% – микроальбуминурию, более чем у 8% – стойкую гиперкреатининемия. Значительная распространенность поражения органов-мишеней у больных неконтролируемой и резистентной АГ закономерна [21]. Не вызывает сомнения, что всех таких пациентов необходимо целенаправленно и

максимально обследовать с целью выявления признаков поражения органов-мишеней.

Установлено, что выживаемость больных резистентной АГ заметно снижается, а риск сердечно-сосудистых осложнений возрастает не менее чем в 2,5 раза по сравнению с пациентами, у которых АГ уступает стандартным схемам антигипертензивной терапии [22]. В связи с этим распространенность ассоциированных клинических состояний при резистентной и неконтролируемой АГ, очевидно, должна быть велика, что подтверждают данные исследования РЕГАТА-ПРИМА. Ассоциированные клинические состояния были диагностированы у трети пациентов, нередко в сочетаниях. Чаще всего встречались ишемическая болезнь сердца, в том числе ее осложненные формы – острый коронарный синдром/острый инфаркт миокарда, а также процедура коронарной реваскуляризации, хроническая сердечная недостаточность. У значительной части пациентов были отмечены осложненные формы цереброваскулярных заболеваний – ишемический/геморрагический инсульт и транзиторная ишемическая атака. Наличие ассоциированных клинических состояний всегда позволяет отнести резистентную/неконтролируемую АГ к категории очень высокого риска осложнений.

Число антигипертензивных препаратов, применяемых у больных неконтролируемой и резистентной АГ, составляет от 3 до 7; большинство пациентов получали 3 или 4 антигипертензивных препарата. Чаще всего использовали тиазидные и тиазидоподобные диуретики, ИАПФ и  $\beta$ -адреноблокаторы. Обращала на себя внимание сравнительно высокая (>30%) частота применения БРА. Более половины больных резистентной и неконтролируемой АГ получали дигидропиридиновые антагонисты кальция. Понятно, что если число используемых антигипертензивных препаратов составляет 4 и более, приходится использовать те их классы, которые не относятся к числу первоочередных, в частности  $\alpha$ -адреноблокаторы, агонисты имидазолиновых рецепторов, а также препараты центрального действия, в частности клофидин. В целом пациенты с неконтролируемой и резистентной АГ заведомо нуждаются в большем количестве лекарственных препаратов, а применение части из них далеко не всегда удается обосновать с точки зрения общепринятых рекомендаций, регламентирующих антигипертензивную терапию.

Необходимо подчеркнуть, что нерациональная антигипертензивная терапия и отсутствие приверженности ей остаются одними из главных факторов, обуславливающих отсутствие контроля АД [23]. При резистентной АГ с успехом применяют высокотехнологичные инвазивные методы лечения, например катетерную симпатическую денервацию почек [24] и принципиально новые лекарственные препараты, в частности антагонисты эндотелиновых рецепторов дарусентан [25]. Тем не менее эти лечебные стратегии, очевидно, в ближайшие годы останутся малодоступными. В связи с этим особенно актуальной с точки зрения повышения качества ведения больных резистентной и неконтролируемой АГ становится оптимизация применения существующих классов антигипертензивных препаратов, особенно продемонстрировавших эффективность при АГ вы-



сокого и очень высокого риска. Необходимо отметить, что с этих позиций особые перспективы можно связать с комбинацией длительно действующего дигидропиридинового антагониста кальция и блокатора ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, как показало крупное исследование ACCOMPLISH [26], существенно улучшающей долгосрочный прогноз больных АГ высокого риска. С точки зрения максимального повышения приверженности лечению особый интерес представляет фиксированная комбинация амлодипина с БРА валсартаном (Эксфорж). Ее применение отличается наименьшей частотой нежелательных явлений, в частности индуцируемых дигидропиридиновым антагонистом кальция периферических отеков [27]. Как показало исследование Ex-FAST [28], фиксированная комбинация амлодипина и валсартана высокоэффективна при АГ, не уступающей полнотерапии.

В исследовании REGATA-ЭКСТРА в качестве базисного сочетания антигипертензивных препаратов, применяемых для лечения неконтролируемой/резистентной АГ, была использована фиксированная комбинация валсартана и амлодипина которая в целом продемонстрировала свою эффективность, возраставшую по мере увеличения дозы препаратов и усиления их гидрохлоротиазидом. Эффективность фиксированной комбинации валсартана и амлодипина при неконтролируемой/резистентной АГ была предсказуема, поскольку эти препараты потенцируют антигипертензивное действие друг друга за счет непосредственного влияния на тонус сосудистой стенки, а также прямой (для валсартана) и опосредованной (для амлодипина) стимуляции натрийуреза [29]. Так, T.Smith и др. (2010 г.) [30] показали, что комбинация валсартан/амлодипин в дозе 5/160 и 10/160 мг/сут позволяет поддерживать АД на уровне менее 135/85 мм рт. ст. в течение длительного (52 нед) периода, при этом «ускользания» антигипертензивного действия не наблюдается. С помощью высокодозовой комбинации валсартана и амлодипина удалось не только достоверно снизить АД, но и улучшить показатели, характеризующие диастолическую функцию миокарда ЛЖ (определяемая при эхокардиографии скорость расслабления миокарда ЛЖ), у пациентов, исходно имевших ее нарушение и страдавших неконтролируемой АГ II стадии [31]. Необходимо отметить, что по степени достигаемого снижения АД комбинация валсартана с амлодипином имеет существенные преимущества перед комбинацией амлодипина с другими БРА, например с лозартаном [32].

Результаты исследования REGATA-ЭКСТРА четко свидетельствуют в пользу того, что при неконтролируемой и резистентной АГ с целенаправленно исключенными вторичными формами АГ фиксированная комбинация валсартана и амлодипина позволяет добиться достоверного снижения АД, в максимальной дозе у значительной степени пациентов способствует достижению его целевых величин. Обращает на себя внимание способность фиксированной комбинации валсартана и амлодипина снижать до целевых величин САД более чем у 70% пациентов, включенных в исследование REGATA-ЭКСТРА. Эти данные полностью согласуются с результатами масштабного отече-

ственного клинического исследования ЭКСТРА-2 [33], показавшего высокую эффективность фиксированной комбинации валсартана и амлодипина у 2824 Российских пациентов с АГ, в том числе при изолированной систолической АГ. Следует отметить, что даже в высокой дозе пациенты хорошо ее переносят: частота периферических отеков была относительно невелика и не возрастала по мере увеличения дозы амлодипина; при этом ни у одного из больных периферические отеки не стали причиной отмены лечения. В целом можно говорить о том, что комбинация с валсартаном, особенно фиксированная, наиболее эффективна при нивелировании нежелательных явлений, сопряженных с назначением амлодипина [34]. В исследовании REGATA-ЭКСТРА частота отеков, наблюдавшаяся исходно и отмеченная при назначении фиксированной комбинации валсартана и амлодипина, достоверно не отличалась, что еще раз свидетельствует в пользу замены на фиксированную комбинацию с валсартаном – один из наиболее реальных подходов к повышению не только эффективности, но и безопасности амлодипина.

В исследовании REGATA-ЭКСТРА фиксированная комбинация валсартана с амлодипином оказалась эффективной при истинно резистентной АГ, а также при наличии факторов, всегда снижающих эффективность антигипертензивной терапии (курение, СД типа 2). Тем не менее определенной части пациентов, включенных в исследование REGATA-ЭКСТРА, потребовалось присоединение гидрохлоротиазидов. Ориентируясь на опыт современных клинических исследований [35, 36], можно утверждать, что комбинация с гидрохлоротиазидом, особенно фиксированная, позволяет существенно повысить эффективность сочетания валсартана с амлодипином, что особенно необходимо в первую очередь у больных неконтролируемой и резистентной АГ.

В исследовании REGATA-ЭКСТРА неконтролируемая и резистентная АГ была использована как модель для демонстрации способности фиксированной комбинации валсартана с амлодипином снижать АД в «трудных» клинических ситуациях. Эта комбинация в целом показала высокую эффективность и хорошую переносимость. Тем не менее не следует рассматривать комбинацию валсартана с амлодипином как препарат для лечения только тяжелой АГ. В целом все случаи АГ, не отвечающей на монотерапию и тем более на комбинацию антигипертензивных препаратов, можно рассматривать как повод для назначения фиксированной комбинации валсартана и амлодипина («тройная» комбинация с гидрохлоротиазидом может в этой ситуации считаться резервной). Очевидно, что подобная схема эскалации антигипертензивной терапии обоснована у многих пациентов с исключенными вторичными формами АГ и, следовательно, на снижение АД можно рассчитывать только с помощью оптимизации схем применения лекарственных препаратов. По результатам проекта REGATA-ПРИМА, подобные пациенты составляют большинство среди тех, у кого констатируют резистентную и/или неконтролируемую АГ, и это означает, что задача по коррекции высокого риска осложнений с помощью снижения АД у них может быть успешно решена.

## Литература

1. Чазова ИЕ, Ратова ЛГ. Комбинированная терапия артериальной гипертензии: просто о сложном. *Cons. med.* 2006; 8 (5): 5–11.
2. Шальнова СА. Проблемы лечения артериальной гипертензии. *Кардиоваск. тер. и профилактикт.* 2003; 3: 17–21.
3. Hajjar J, Kotchen TA. Trends in prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in the United States, 1988–2000. *JAMA* 2003; 290: 199–206.
4. Комитет экспертов РМОАГ/ВНОК. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Системные гипертензии. 2010; 3: 5–26.
5. Garg JP, Elliott WJ, Folker A et al. Resistant hypertension revisited: a comparison of two university-based cohorts. *Am J Hypertens* 2005; 18 (5 Pt. 1): 619–26.
6. Brown MA, Buddle ML, Martin A. Is resistant hypertension really resistant? *Am J Hypertens* 2001; 14 (12): 1263–9.
7. Cushman WC, Ford CE, Cutler JA et al for the ALLHAT Collaborative Research Group. Success and predictors of blood pressure control in diverse North American Settings: the Antihypertensive and Lipid-Lowering and Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *J Clin Hypertens* 2002; 4: 393–404.
8. Чазова ИЕ., Фомин ВВ. Резистентная артериальная гипертензия. *Тер. арх.* 2008; 6: 72–9.
9. Calhoun DA, Jones D, Textor S et al. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation and treatment: A scientific statement from the American Heart Association professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Circulation* 2008; 117: e510–26.
10. Чазова ИЕ., Фомин ВВ., Разуваева МА., Вигдорчик АВ. от имени исследователей. Регистр резистентной артериальной гипертензии – РЕЗИСТЕНТНАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ АРТТЕРИАЛЬНАЯ (РЕГАТА): программа исследования. *Cons. Med.* 2009; 11 (10): 5–9.
11. Чазова ИЕ., Литвин АЮ. Артериальная гипертензия и синдром обструктивного апноэ во время сна. Вкн.: Чазов ЕИ, Чазова ИЕ. Руководство по артериальной гипертензии. М.: *Media Medica*, 2005; с. 182–200.
12. Комитет экспертов ВНОК. Диагностика и лечение метаболического синдрома. *Кардиоваск. тер. и профилактикт.* 2007; 6 (Прил. 2).
13. Шальнова СА, Баланова ЮА, Константинов ВВ. и др. Артериальная гипертензия: распространенность, осведомленность, прием антигипертензивных препаратов и эффективность лечения среди населения Российской Федерации. *Рос. кардиол. журн.* 2006; 4: 45–50.
14. Шальнова СА, Девя АД. Масса тела у мужчин и женщин (результаты обследования российской национальной представительной выборки населения). *Кардиоваск. тер. и профилактикт.* 2008; 6: 28–32.
15. Чазова ИЕ., Мычка ВБ. Метаболический синдром. М, 2004.
16. Garg JP, Elliott WJ, Folker A et al. Resistant hypertension revisited: a comparison of two university-based cohorts. *Am J Hypertens* 2005; 18 (5 Pt. 1): 619–26.
17. Rossi GP, Bernini G, Caliumi C et al. PAPY Study Investigators. A prospective study of the prevalence of primary aldosteronism in 1125 hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48 (11): 2293–300.
18. van Duinen N, Steenvoorden D, Bonsing BA et al. Pheochromocytomas detected by biochemical screening in predisposed subjects are associated with lower prevalence of clinical and biochemical manifestations and smaller tumors than pheochromocytomas detected by signs and symptoms. *Eur J Endocrinol* 2010; 163 (1): 121–7.
19. Hager A. Hypertension in aortic coarctation. *Minerva Cardioangiolog* 2009; 57 (6): 733–42.
20. Оганов РГ., Лепехин ВК, Фитилев СБ. и др. Качество профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений у больных сахарным диабетом 2 типа в амбулаторных условиях. *Кардиоваск. тер. и профилактикт.* 2008; 7 (7): 9–14.
21. Muxfeldt ES, Bloch KV, Nogueira AR et al. Twenty-four hour ambulatory blood pressure monitoring pattern of resistant hypertension. *Blood Press Monit* 2003; 8 (5): 181–5.
22. Pierdomenico SD, Lapenna D, Di Tommaso R et al. Cardiovascular risk in patients receiving double therapy with false and true non-responder hypertension. *Blood Press Monit* 2006; 11 (6): 303–7.
23. Shee S, Misra D, Ebrlich MH et al. Predisposing factors for severe, uncontrolled hypertension in an inner-city minority population. *N Engl J Med* 1992; 327 (11): 776–81.
24. Krum H, Schlaich M, Whitbourn R et al. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: a multicentre safety and proof-of-principle cohort study. *Lancet* 2009; 373: 1275–81.
25. Weber MA, Black H, Bakris G et al. A selective endothelin-receptor antagonist to reduce blood pressure in patients with treatment-resistant hypertension: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2009; 374: 1423–31.
26. Jamerson K, Weber MA, Bakris GL et al.; ACCOMPLISH Trial Investigators. Benazepril plus amlodipine or hydrochlorothiazide for hypertension in high-risk patients. *N Engl J Med* 2008; 359 (23): 2417–28.
27. Fogari R, Zoppi A, Derosa G et al. Effect of valsartan addition to amlodipine on ankle oedema and subcutaneous tissue pressure in hypertensive patients. *J Hum Hypertens* 2007; 21 (3): 220–4.
28. Alleman Y, Fraile B, Lambert M et al. Efficacy of the combination of amlodipine and valsartan in patients uncontrolled with monotherapy: the Exforge in Failure after Single Therapy (EXFAST) Study. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2008; 10 (3): 185–94.
29. Frampton JE, Scott IJ. Amlodipine/valsartan single-pill combination: a review of its use in the management of hypertension. *Am J Cardiovasc Drugs* 2009; 9 (5): 309–30.
30. Smith TR, Glazer RD, Koren MJ et al. Combination therapy with amlodipine/valsartan in essential hypertension: a 52-week, randomised, open-label, extension study. *Int J Clin Pract* 2010; 64 (10): 1367–74.
31. Solomon SD, Verma A, Desai A et al. Effect of intensive versus standard blood pressure lowering on diastolic function in patients with uncontrolled hypertension and diastolic dysfunction. *Hypertension* 2010; 55 (2): 241–8.
32. Fogari R, Mugellini A, Preti P et al. Valsartan addition to amlodipine is more effective than losartan addition in hypertensive patients inadequately controlled by amlodipine. *Vasc Health Risk Manag* 2010; 6: 87–93.
33. Карпов ЮА, Чазова ИЕ., Вигдорчик АВ. от лица исследовательской группы. Эффективность и безопасность фиксированной комбинации амлодипина и валсартана в лечении артериальной гипертензии в условиях реальной клинической практики: результаты Российского наблюдательного исследования ЭКСТРА-2. *Системные гипертензии* 2010; 4: 14–20.
34. Fogari R, Zoppi A, Derosa G et al. Effect of valsartan addition to amlodipine on ankle oedema and subcutaneous tissue pressure in hypertensive patients. *J Hum Hypertens* 2007; 21 (3): 220–4.
35. Barrios V, Escobar C. Valsartan-amlodipine-hydrochlorothiazide: the definitive fixed combination? *Expert Rev. Cardiovasc Ther* 2010; 8 (11): 1609–18.
36. Destro M, Crikelair N, Yen J, Glazer R. Triple combination therapy with amlodipine, valsartan, and hydrochlorothiazide vs dual combination therapy with amlodipine and hydrochlorothiazide for stage 2 hypertensive patients. *Vasc Health Risk Manag* 2010; 6: 821–7.

Авторы выражают благодарность всем участникам исследования: Г.П. Арутюнову, М.В. Архипову, Э.Г. Волковой, А.С. Галаявичу, Я.П. Довгалевскому, Д.В. Дуплякову, С.Я. Ерегину, К.В. Злодееву, А.Я. Ивлиной, И.М. Карамовой, С.Г. Кечеджиевой, Л.Б. Лазебнику, Т.В. Мартынюк, И.В. Медведевой, С.В. Недогаде, В.И. Подзолкову, Ю.М. Позднякову, В.В. Скибицкому, А.Л. Сыркину, В.В. Теплицкой, Т.В. Тюриной, И.И. Чукаевой, А.О. Шевченко, С.В. Шлык, Д.А. Яхонтову.

Е.В.Грачева, Н.Н.Самовилова, Н.К.Голованова, Н.В.Проказова

## Нейтральные липиды интимы артерий при атеросклерозе

НИИ экспериментальной кардиологии РКНПК Минздравсоцразвития РФ, Москва

### Резюме

**Цель исследования.** Изучение качественного и количественного состава нейтральных липидов интимы аорты, сонной и коронарной артерий человека при атеросклерозе (АС).

**Материалы и методы.** Нейтральные липиды были экстрагированы из фрагментов интимы аорты и артерий смесью хлороформа с метанолом (2:1) и проанализированы с помощью метода высокоэффективной тонкослойной хроматографии с последующим определением их содержания в интиме с помощью денситометрии.

**Результаты.** Протестированы образцы интимы 10 фрагментов грудных аорт (4 непораженных АС участка и 6 атеросклеротических бляшек); 11 сонных артерий (5 непораженных АС участков и 6 атеросклеротических бляшек) и 7 коронарных артерий (2 непораженных АС участка и 5 атеросклеротических бляшек). Установлено, что количественное содержание нейтральных липидов в интиме без атеросклеротических поражений индивидуально. Выявлены различия между этими сосудами относительно увеличения содержания отдельных классов нейтральных липидов в атеросклеротических поражениях интимы.

**Заключение.** Уровень накопления нейтральных липидов различен в образцах интимы грудной аорты, сонных и коронарных артерий. Предложен микрометод качественного и количественного определения нейтральных липидов тканей.

**Ключевые слова:** аорта, сонная артерия, коронарная артерия, интима, атеросклероз, эфиры холестерина, триглицериды, холестерин.

*E.V.Gracheva, N.N.Samovilova, N.K.Golovanova, N.V.Prokazova*

### Neutral lipids of arterial intima in human atherosclerosis

*Institute of Experimental Cardiology, Cardiology Research Center of Ministry of Public Health and Social Development*

### Summary

**Objective.** To study a quantitative and qualitative composition of neutral lipids in aortic intima and intima of carotid and coronary arteries.

**Methods.** Neutral lipids were extracted from intima fragments by the mixture of chloroform-methanol (2:1) and analyzed by high performance thin layer chromatography followed by densitometry.

**Results.** Ten fragments of thoracic aortas (4 unaffected intimal areas and 6 fibrous plaques), 11 carotid arteries (5 unaffected intimal areas and 6 fibrous plaques) and 7 coronary arteries (2 unaffected and 5 atherosclerotic) were analyzed for neutral lipids content and composition. It was found that quantitative content of neutral lipids in unaffected intima was individual for each arterial type studied. The differences between the content of some classes of neutral lipids in atherosclerotic intima were revealed among arterial types.

**Conclusion.** The level of neutral lipids accumulation in intima in atherosclerosis depends on the type of arteries. Micromethod for tissue quantitative and qualitative lipid analysis is proposed.

**Key words:** aorta, carotid and coronary arteries, intima, atherosclerosis, cholesterol esters, triglycerides, fatty acids, cholesterol.

### Сведения об авторах

Грачева Елена Викторовна – канд. хим. наук, ст. науч. сотр. лаборатории биохимической инженерии НИИЭК РКНПК РФ. Тел.: (495) 414-67-14.

Самовилова Неля Николаевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории биохимической инженерии НИИЭК РКНПК РФ. Тел.: (495) 414-67-14.

Голованова Наталья Кирилловна – канд. хим. наук, ст. науч. сотр. лаборатории биохимической инженерии НИИЭК РКНПК РФ. Тел.: (495) 414-67-14.

Проказова Нина Викторовна – канд. хим. наук, вед. науч. сотр. лаборатории биохимической инженерии НИИЭК РКНПК РФ. E-mail: prokazova@cardio.ru

Атеросклеротическая бляшка (АСБ) представляет собой липидное образование в субэндотелиальном пространстве артерий человека. При гиперхолестеринемии и ее осложнениях накопление липидов в интиме артерий происходит из-за проникновения в нее апо-В-содержащих липопротеидов (ЛП) крови [1] и в результате их взаимодействия с протеогликанами, хондроитинсульфатами и др. приводит к удержанию ЛП в интиме [2]. Поскольку в непораженной

интиме клетки практически отсутствуют, то накопившиеся липиды не подвергаются метаболическому расщеплению и тканевой утилизации, образуя липидные капли, характерные для липидных полос [3]. Следствием привлечения иммунных клеток крови в области накопления липидов является образование макрофагов из моноцитов крови, которые поглощают липидные капли и формируют пенные клетки. На этой стадии развития атеросклеротического пораже-



Таблица 1. Состав нейтральных липидов интимы аорты сонных и коронарных артерий (в мг/г сырой интимы).

Липиды	Грудная аорта		Сонная артерия		Коронарная артерия	
	норма (n=4)	атеросклероз (n=6)	норма (n=5)	атеросклероз (n=6)	норма (n=2)	атеросклероз (n=5)
Эфиры холестерина	41±7,4	104±53,4*	17±5,6	40±25,4*	21±3,7	23±12
Триглицериды	следы	8±4,0	4±3,0	11±12,8	3±1,5	24±+27,1
Свободные жирные кислоты		следы	следы	2±0,3	7±5,8	следы
4±2,6						
Свободный холестерин		6±3,6	25±13,5**	6±4,2	29±12,3**	13±4,2
21±8,2**						
Сумма нейтральных липидов		47	143	29	87	37 72

Примечание. Сравнение показателей АСБ и неизменной интимы артерий: \*грудная аорта,  $p < 0,03$ ; сонная артерия,  $p < 0,07$ ; \*\*грудная аорта,  $p < 0,01$ ; сонная артерия,  $p < 0,004$ ; коронарная артерия,  $p < 0,16$ .

ния липиды подвергаются частичному метаболизму в клетках, благодаря чему соотношение отдельных липидов и холестерина (ХС) в них изменяется и становится отличным от липидного состава ЛП [4]. В результате апоптоза пенистых клеток макрофагального происхождения образуются массы внеклеточных липидов, формирующих липидное ядро АСБ.

Изучение липидного состава атеросклеротических поражений проводились достаточно интенсивно и с использованием разнообразных подходов. Были применены различные методы экстракции, разделения смесей липидов, их идентификации и количественного определения [5–14]. В частности, использовали предварительное разделение липидных смесей на колонках с адсорбентами, что сопровождалось частичной потерей их компонентов. Однако определение липидных классов различными колориметрическими методами не позволяло получить точных данных об их соотношениях.

Возможность анализа профилей липидов отдельных атеросклеротических поражений или их участков может способствовать формированию более точного представления о типах АСБ и их происхождении. Анализ индивидуальных бляшек из одного и того же сосуда может способствовать пониманию причин превращения жировых полостей в атерому и осложненное поражение.

В настоящей работе проведен качественный и количественный анализ содержания нейтральных липидов атеросклеротических поражений артерий человека с использованием высокоразрешающей тонкослойной хроматографии (ВТСХГ) с последующей денситометрией в специальной компьютерной программе «Сорбфил» (Россия). Предлагаемый анализ может быть проведен на образцах от 100 до 20 мг сырой ткани, прост и не требует продолжительного времени.

### Материалы и методы

В работе использованы стандартные липиды – олеат ХС, триолеин, олеиновая кислота и ХС (Sigma, США). Органические растворители (хлороформ, метанол, эфир, гексан, уксусная кислота) производства ряда российских производителей были очищены и перегнаны в нашей лаборатории. Для ВТСХГ были использованы готовые пластинки DC фирмы Merck (Германия) толщиной 0,2 мм.

*Аутопсийный материал артерий человека.* Сосуды артериального типа мужчин и женщин, умерших от инфаркта миокарда, извлекали в течение 24 ч после смерти. В работе использовали грудной отдел аорты, сонные и коронарные

артерии. Сосуды вскрывали продольно и промывали физиологическим раствором, интиму отделяли механически.

*Выделение АСБ и неповрежденных участков интимы из аутопсийного материала.* Участки интимы аорты и артерий с выраженными атеросклеротическими изменениями (АСБ) и внешне неизменные участки их интимы с гладкой люминальной поверхностью (условная норма) вырезали и взвешивали.

*Качественный и количественный анализ липидов АСБ человека.* Экстракция суммарных липидов интимы. Свежеотделенную интиму измельчали механически, помещали в экстрагирующую смесь хлороформа с метанолом (2:1). При массе интимы от 0,2 до 1 г использовали 10 мл экстрагирующей смеси, при массе менее 0,2 г – 5 мл. Экстракцию проводили в течение 2 ч при температуре 22°C при встряхивании. Затем образцы ткани с экстрагирующим раствором оставляли на 12 ч при температуре 4°C. Полученный экстракт ткани использовали для анализа.

*Высокоразрешающая тонкослойная хроматография липидов.* Липидные экстракты анализировали с помощью ВТСХГ на готовых пластинках фирмы Merck (Германия) DC толщиной 0,2 мм с соответствующими стандартными липидами: олеатом ХС, триолеином, олеиновой кислотой и ХС. Для анализа готовили смесь стандартных липидов (1 мг каждого) в мл смеси хлороформа с метанолом (2:1). На пластинки, помещенные на специальный хроматографический столик, с помощью калиброванного капилляра фирмы Camag (Швейцария) наносили 5 мкл липидного экстракта каждого образца интимы и 5 мкг раствора смеси стандартных липидов. Каждый образец был проанализирован трижды. Хроматографию проводили в системе гексан–эфир–уксусная кислота (85:15:1) в камере для вертикальной хроматографии фирмы ИМИД (Россия). Разделенные компоненты обнаруживали опрыскиванием хроматограмм 5% спиртовым раствором фосфорно-молибденовой кислоты с последующим нагреванием при 100°C в течение 15 мин.

Количественное содержание липидов определяли денситометрированием хроматограмм после их введения в компьютер через сканер в программе Fotoshop, используя компьютерную программу Сорбфил 1.0. Содержание каждого липида определяли в мкг по интенсивности окрашивания пятна в сравнении с интенсивностью окрашивания пятна соответствующего стандартного липида.

**Таблица 2. Молярные соотношения внутри пула холестерина в атеросклеротической бляшке и неизменной интиме артериальных сосудов**

Сосуды	Непораженная интима, моль/г интимы			Атеросклеротическая бляшка, моль/г интимы			
	ОХС	СХС, % от ОХС	Кк СХС/ЭХС	ОХС	СХС, % от ОХС	Кк СХС/ЭХС	соотношение между СХС в АСБ и неизменной интиме
Грудная аорта	79,8	21,1	0,96* (n=4)	229,9	30,5	-0,89** (n=6)	1,45
Сонная артерия	42,9	39,2	0,86 (n=4)	142,9	57,0	0,68 (n=4)	1,45
Коронарная артерия	68,8	53,0	-	94,3	62,5	0,88 (n=5)	1,18

*Примечание.* Достоверность корреляции между СХС и ЭХС АСБ и неизменной интиме сосудов: \*грудная аорта, непораженная интима,  $p < 0,03$ ; \*\*грудная аорта, АСБ,  $p < 0,01$ ; СХС – свободный холестерин, моль/г сырой интимы; ЭХС – эфиры холестерина, моль/г сырой интимы; ОХС – общий холестерин – сумма СХС и ЭХС, моль/г сырой интимы; Кк СХС/ЭХС – коэффициент корреляции между содержанием СХС и ЭХС; n – кол-во обследованных сосудов.

## Результаты и обсуждение

Нейтральные липиды (эфиры ХС триглицериды, жирные кислоты и свободный ХС) были определены ВТСХГ на одной хроматограмме для неизмененных участков и АСБ. Каждое хроматографическое разделение было повторено трижды. Для идентификации исследуемых видов липидов использовали стандартные липиды в разведении 1 мг в мл смеси хлороформа с метанолом (2:1). В табл. 1 приведены средние значения, полученные для указанного количества образцов интимы.

Вес образцов составлял от 0,1 г до 1,5 г. Экстракт суммарных липидов, полученный обработкой образцов интимы 10 мл смеси хлороформа с метанолом (2:1), наносили по 5 мкл в каждую точку хроматограммы. Данные о содержании нейтральных липидов в макроскопически неизменной интиме и АСБ аорты коронарных и сонных артерий приведены в табл. 1.

Неизменная интима всех трех типов сосудов содержала примерно одинаковое количество суммарных нейтральных липидов. При этом эфиром ХС (ЭХС) (мг/г сырой ткани) наблюдалось больше, а сонные и коронарные артерии содержали в 2,4 и 1,9 раза соответственно меньшее количество ЭХС. Свободный холестерин (СХС) был вторым липидным компонентом, наибольшим содержанием которого отличалась неизменная интима коронарных артерий, тогда как аорта и сонная артерия содержали его в 2,2 раза меньше. В неизменной интиме грудной аорты имелись следовые количества триглицеридов (ТГ), в то время как в сонных и коронарных артериях они присутствовали в малых количествах. В неизменной интиме аорты и артерий практически отсутствовали свободные жирные кислоты (ЖК).

Таким образом, количественный и качественный состав нейтральных липидов в неизменной интиме аорты, сонных и коронарных артерий заметно различался. Полученные нами данные о содержании отдельных липидов в пересчете на 1 г сырой интимы соответствуют данным E. Marinello и соавт. [14], но превышают величины, приведенные в одной из давно опубликованных работ [6], что можно объяснить различием методов экстракции, разделения и анализа, применяемых в этих работах. Некоторые авторы приводят данные по содержанию липидов на 1 г сухой интимы либо только процентные соотношения между классами [9, 11], что не позволяет сравнить их с нашими результатами. Однако тот факт, что основными нейтральными липидами интимы являются ХС и его эфиры, подтверждается результатами абсолютного большинства исследований.

В табл. 1 отражено резкое увеличение содержания нейтральных липидов в АСБ по сравнению с их содержанием в неизменной интиме одного и того же типа артериальных сосудов (грудная аорта и сонная артерия – в 3 раза, коронарная артерия – в 1,9 раза). Наблюдалось накопление практически всех нейтральных липидов за исключением ЭХС в коронарных артериях. Содержание СХС возрастает в фиброзных бляшках аорты и сонных артерий (4,2 и 4,8 раз соответственно), а в коронарной артерии – всего в 1,6 раза. Это не противоречит результатам других исследований, полученных при изучении интимы аорты иными методами [8–14]. В настоящее время известно, что содержание ХС в АСБ достоверно коррелирует с содержанием белковых маркеров развития АС [15].

В интиме аорты при АС имеется измеряемое количество ТГ, которое резко возрастает в некоторых образцах атеросклеротической измененной интимы коронарных артерий. В результате этого стандартное отклонение, рассчитанное для содержания ТГ в АСБ коронарных артерий, превышает их средние значения, и различия в содержании ТГ в неизменной интиме коронарных артерий и АСБ при статистическом анализе оказываются недостоверными. Имеющиеся в настоящее время данные о накоплении ТГ в атеросклеротических поражениях сосудов [7] столь же неоднородны, как и наши результаты – есть сообщения как об отсутствии, так и сравнительно высоком содержании ТГ. Несмотря на низкую достоверность, полученную при статистической обработке данных по содержанию ТГ, наши результаты свидетельствуют об их накоплении в атеросклеротически измененной интиме, особенно коронарных артерий.

При анализе полученных данных мы рассчитали коэффициенты корреляции между содержанием СХС и ЭХС. В неизменной интиме трех типов артериальных сосудов наблюдается положительная корреляция между содержанием этих двух пулов липидов (табл. 2), что с наибольшей вероятностью свидетельствует о метаболической связи между ними.

Корреляция между содержанием ЭХС и СХС в АСБ сонной и коронарной артерий была также положительной, однако ее коэффициент оказался немного ниже, чем в неизменной интиме. В АСБ аорты обнаружена с высокой степенью достоверности ( $p < 0,01$ ) высокая отрицательная корреляция между содержаниями ЭХС и СХС.

Содержание СХС в пуле общего ХС в АСБ сонной артерии и грудной аорты увеличивалось при-

мерно в 1,5 раза по сравнению с их содержанием в неповрежденных участках интимы (в коронарных артериях это увеличение составляло 1,18 раза). Эти данные позволяют предположить, что в АСБ метаболическая взаимосвязь между двумя пулами ХС иная, чем в неизмененной интиме.

Некоторые исследователи считают, что подобное значительное увеличение содержания СХС в АСБ (по сравнению с содержанием общего ХС) объясняется денатурацией ферментов, участвующих в этерификации СХС и гидролизе его эфиров [11, 14]. Z.Chen и соавт [15] полагают, что высокий процент СХС в выраженных атеросклеротических поражениях присутствует главным образом в межклеточном пространстве в недоступной для ферментов форме и поэтому может служить маркером наличия АСБ. Трудности в трактовке результатов химического анализа липидного состава сосудистой стенки при АС обусловлены его динамичностью и определяются комплексом процессов (транспорт липидов из плазмы крови, обмен между внесклеточными и внутриклеточными липидами, этерификация, катаболизм и др.).

### Заключение

В настоящей работе мы наблюдали значительные колебания в содержании пулов липидов в образцах интимы одного и того же типа артерий. Особенно это касается АСБ и ТГ. Тем не менее сравнительный анализ качественного и количественного состава липидов в неизмененной и в атеросклеротической интиме отдельных артериальных сосудов и оценка взаимосвязи между содержанием отдельных пулов липидов представляются важными для понимания роли липидов в патогенезе АС человека.

### Литература

1. Williams KJ, Tabas I. Lipoprotein retention and clues for atheroma regression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25 (8): 1536–40.
2. Nakashima Y, Wight TN, Sueishi K. Early atherosclerosis in humans: role of diffuse intimal thickening and extracellular matrix proteoglycans. *Cardiovasc Res* 2008; 79: 14–23.

3. Smith EB, Slater RS. The microdissection of large atherosclerotic plaques to give morphologically and topographically defined fractions for analysis. The lipids in the isolated fractions. *Atherosclerosis* 1972; 15 (1): 37–56.

4. Guyton JR, Klemp KF. Development of the lipid-rich core in human atherosclerosis, *arterioscler. Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 4–11.

5. Burnett R. Lipids, Lipoprotein, Atherosclerosis and cardiovascular disease. *Clin Biochem Rev* 2004; 25 (1): 7–18.

6. Luddy FT, Barford RA, Riemenschneider RW. Fatty acid composition of component lipides from human plasma and atheromas. *J Biol Chem* 1958; 232: 843–51.

7. Insull W. Jr, Bartsch GE. Cholesterol, triglyceride and phospholipid content of intima, media, and atherosclerotic fatty streak in human thoracic aorta. *J Clin Invest* 1966; 45 (4): 513–23.

8. Wiese HF, Coon E, Yamanaka W et al. Lipid composition of the vascular system during infancy, childhood and young adulthood. *J Lipid Res* 1967; 8: 312–20.

9. Антекарь С.Г., Вихерт А.М. Липиды сосудистой стенки при атеросклерозе у человека. *Вопр. мед. хим.* 1977; XXIII: 748–56.

10. McGrath LT, Elliott RJ. Lipid analysis and fatty acid profiles of individual arterial atherosclerotic plaques. *Anal Biochem* 1990; 187: 273–6.

11. Rapp JH, Connor WE, Lin DS et al. Lipids of human atherosclerotic plaques and xanthomas: clues to the mechanism of plaque progression. *J Lipid Res* 1983; 24: 1329–35.

12. Felton CV, Crook D, Davies MJ, Oliver MF. Relation of plaque lipid composition and morphology to the stability of human aortic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1337–45.

13. Orekhov AN, Tertov VV, Novikov ID et al. Lipids in cells of atherosclerotic and uninjured human aorta. I. Lipid composition of aortic tissue and enzyme-isolated and cultured cells. *Exp Mol Pathol* 1985; 42: 117–37.

14. Marinello E, Setacci C, Giubolini M et al. Lipid composition in atheromatous plaque: evaluation of the lipid three-phase percentage. *Life Sci* 2003; 72: 2689–94.

15. Chen Z, Ichetovkin M, Kurtz M et al. Cholesterol in human atherosclerotic plaque is a marker for underlying disease state and plaque vulnerability. *Lipids Health Dis* 2010; 9: 61–9.

\* —————



В.Л.Лакомкин<sup>1</sup>, Ц.Р.Орлова<sup>1</sup>, А.А.Абрамов<sup>1</sup>, И.В.Свириева<sup>1</sup>, К.Б.Шумаев<sup>1</sup>,  
Э.К.Рууге<sup>1</sup>, А.Ф.Ванин<sup>2</sup>, В.И.Капелько<sup>1</sup>

## Хронотропная регуляция сердца при гипотензивном эффекте, вызванном активными формами кислорода

<sup>1</sup>Российский кардиологический научно-производственный комплекс Минздрава России

<sup>2</sup>Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, Москва

### Резюме

**Цель работы:** изучение хронотропной реакции сердца при действии активных форм кислорода *in vivo*, а также взаимодействия активных форм кислорода в опытах на изолированных митохондриях.

**Материалы и методы.** В опытах на бодрствующих крысах линий Wistar и SHR сопоставляли изменения среднего артериального давления (АД<sub>ср</sub>) и частоты сокращений сердца (ЧСС) при внутривенном введении донора оксида азота оксакома (динитрозильные комплексы железа с лигандом глутатионом), липополисахарида (*Salmonella typhimurium*) и пероксида водорода. В опытах на изолированных митохондриях определяли влияние добавления оксакома на генерацию супероксида.

**Результаты.** Введение оксакома и липополисахарида вызывало немедленное снижение АД<sub>ср</sub>, сопровождавшееся увеличением ЧСС. Корреляции между этими изменениями не было отмечено – степень прироста ЧСС слабо зависела от дозы, в отличие от степени изменения АД<sub>ср</sub>. Аналогичные результаты были получены на спонтанно гипертензивных крысах SHR. Предварительная блокада β-адренорецепторов пропранололом не влияла на первоначальные изменения АД<sub>ср</sub> и ЧСС при введении оксакома, но сильно замедлила восстановление АД<sub>ср</sub>. Внутривенное введение 0,8% раствора H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> крысам в течение 5 мин сопровождалось снижением АД<sub>ср</sub> без изменения ЧСС, а повторное введение пероксида водорода вызывало более глубокое снижение АД<sub>ср</sub> с одновременным снижением ЧСС. Эти результаты позволяют предполагать, что различные реакции ЧСС при действии нитроксида и пероксида водорода обусловлены воздействием на различные регуляторные центры. Добавление оксакома в концентрациях 20–100 мкМ к суспензии митохондрий резко уменьшало образование супероксида, причем данный эффект был стойким. Это свидетельствует о наличии у оксакома антиоксидантных свойств.

**Заключение.** Нитроксид и пероксид водорода ограничивают взаимное влияние на ключевые звенья клеточного метаболизма, что проявляется различными функциональными реакциями.

**Ключевые слова:** супероксид, пероксид водорода, оксид азота, артериальное давление, частота сокращений сердца.

V.L.Lakomkin<sup>1</sup>, Ts.R.Orlova<sup>1</sup>, A.A.Abramov<sup>1</sup>, I.V.Sviriyeva<sup>1</sup>, K.B.Shumaev<sup>1</sup>, E.K.Ruuge<sup>1</sup>, A.F.Vanin<sup>2</sup>, V.I.Kapelko<sup>1</sup>

### Chronotropic regulation of the heart at hypotensive effect induced reactive oxygen species

<sup>1</sup>Russian Cardiology Scientific and Productive Complex of the Russian Ministry of Health and Social Development

<sup>2</sup>Semenov Institute of Chemical Physics of Russian Academy of Science

### Summary

**Aim of work:** to study chronotropic reactions of the heart at influence of reactive oxygen species (ROS) *in vivo* and ROS interaction in isolated mitochondria.

**Material and methods.** In experiments on conscious rats Wistar and SHR rats the alterations of mean aortic pressure (MAP) and heart rate (HR) have been compared at *i.v.* injection of nitric oxide donor – Oxacom (dinitrosyl iron complex with glutathione), lipopolysaccharides (from *Salmonella Typhimurium*) and hydrogen peroxide. In experiments on isolated mitochondria the influence of Oxacom on superoxide generation has been investigated.

**Results.** Intravenous injection of Oxacom and lipopolysaccharides in rats caused a fall in MAP accompanied by HR increase. No correlation between these changes has been found. Degree of HR rise weakly depended on drug doses in contrast to MAP changes. The same results were obtained in rats with spontaneous hypertension (SHR). Blockade of β-adrenoreceptors with propranolol did not influence primary changes of MAP and HR at Oxacom injection but strongly retarded MAP recovery. Intravenous injection of 0,8% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in rats during 5 min were accompanied by MAP but not HR changes. The second injection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to rats in the same dose produced deeper fall of MAP and simultaneous decrease of HR.

These results allow to suppose that different HR responses on nitroxide and hydrogen peroxide injection are due to action on different regulatory centers. Oxacom addition in doses 20–100 micromoles to mitochondrial suspension sharply decreased superoxide formation. Oxacom effect was very stable that suggests the presence antioxidative properties.

**Conclusion.** Nitroxide and hydrogen peroxide restrict the mutual influences on the main links of cellular metabolism that manifests in different functional responses.

**Key words:** superoxide, hydrogen peroxide, nitrogen oxide, arterial pressure, heart rate.

### Сведения об авторах

Лакомкин Владимир Леонидович – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаборатории экспериментальной патологии сердца НИИЭК РКНПК РФ. Тел.: 414-67-54.

Орлова Цветина Романовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории экспериментальной патологии сердца НИИЭК РКНПК.

Абрамов Александр Александрович – ст. лаборант лаборатории экспериментальной патологии сердца НИИЭК РКНПК РФ.

Свириева Ирина Владимировна – канд. физ.-мат. наук, науч. сотр. лаборатории физико-химических методов исследования НИИЭК РКНПК РФ.

Шумаев Константин Борисович – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории физико-химических методов исследования НИИЭК РКНПК РФ.

Рууге Энно Куставич – д-р физ.-мат. наук, проф., руководитель лаборатории физико-химических методов исследования НИИЭК РКНПК РФ.

Ванин Анатолий Федорович – д-р физ.-мат. наук, проф., руководитель лаборатории Института биологической химии им. Н.Н.Семенова РАН. Тел.: 414-67-54.

Капелько Валерий Игнатьевич – д-р мед. наук, проф., руководитель лаборатории экспериментальной патологии сердца НИИЭК РКНПК РФ.

Среди многочисленных эффектов оксида азота (нитроксида) в организме одним из основных является снижение сосудистого тонуса. В связи с этим значительный интерес для кардиологии представляет изучение роли нитроксида при артериальной гипертензии (АГ) различного происхождения. Нитраты, используемые как доноры нитроксида, вследствие своего преимущественного венодилатирующего действия не могут рассматриваться как средства первой линии для купирования неосложненного гипертонического криза, их гипотензивное действие на системное артериальное давление (АД) весьма умеренное и кратковременное [1–3]. В связи с этим внимание привлекают динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ), образующиеся в клетках с участием митохондрий [4]. При их введении в кровоток происходит выделение нитроксида, продолжающееся десятки минут, которое составляет основу длительного гипотензивного эффекта [5–8]. В наших работах в результате сравнения ДНКЖ с разными лигандами был отобран комплекс с глутатионом, отличающийся от других большей длительностью гипотензивного эффекта и получивший название оксаком [8].

Многие аспекты действия оксакома на систему кровообращения остаются малоизученными, в частности зависимость величины и длительности гипотензивного эффекта от действия других вазоактивных препаратов, применяемых в клинике для снижения АД. Известно, что различные формы АГ характеризуются эндотелиальной дисфункцией вследствие относительного дефицита образования оксида азота по сравнению с образованием супероксида [9, 10]. При атеросклерозе и старении, сопровождающимся повышенным образованием активных форм кислорода, одновременно развивается и снижение реакции сосудов на действие прямого донора NO [11]. У больных АГ повышены в крови уровни супероксида, пероксида водорода, эндотелина, но снижены уровни NO, супероксиддисмутаза, витамина E и длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот [12]. Супероксид и его производное – пероксид водорода благодаря своей способности легко связываться с нитроксидом оказывают модулирующее влияние на его эффекты [4, 13, 14]. Вместе с тем пероксид водорода сам оказывает вазодилататорный эффект на различные сосуды посредством открытия зависимых от  $Ca^{++}$   $K^{+}$ -каналов [15]. В связи с этим в данной работе изучали особенности регуляции кровообращения при повышении уровней нитроксида или пероксида во-

дорода, а также определяли их взаимодействие в изолированных митохондриях. Недавно было показано, что оксаком разрушается под действием супероксидного анион-радикала, генерируемого ферментативной системой ксантин-ксантиноксидаза [16], однако обратный эффект не был изучен.

#### Материалы и методы

**Животные.** В опытах использовали бодрствующих самцов крыс линии Wistar весом 300–350 г и спонтанно гипертонических крыс линии SHR весом 250–300 г одинакового возраста. За сутки до начала эксперимента крысам вживляли катетеры в сонную артерию и яремную вену под кетаминным наркозом (100 мг/кг). После присоединения артериального катетера к электроманометру Gould Statham P23 Db (США) регистрировали частоту сердечных сокращений (ЧСС) и среднее АД ( $AD_{cp}$ ) в спокойном состоянии животного на полиграфе Biograph-4 (Санкт-Петербургский госуниверситет аэрокосмического приборостроения). Запись на компьютер выполняли с помощью аналогово-цифрового преобразователя USB 6210 (National Instruments, США) и программы Data Acquisition, модифицированной д-ром биол. наук. Е.В.Лукошковой для обработки физиологических сигналов.

**Введение препаратов.** Мономерные парамагнитные и димерные диамагнитные разновидности ДНКЖ с содержащим тиол лигандом (глутатион) были синтезированы на опытно-экспериментальном предприятии РКНПК по стандартной технологии с воздействием газообразного NO под давлением 100–200 мм рт. ст. на раствор сульфата железа и глутатиона в присутствии декстрана (2,5%) с последующим лиофильным высушиванием препарата, как было указано ранее [8]. Метод приготовления запатентован (патент РФ №2005137364). Концентрация ДНКЖ в высушенном препарате составляла 2,5 микромоля в 30 мг сухого веса. Перед экспериментом оксаком растворяли в 0,5 мл физраствора, вводили в вену и регистрировали изменения  $AD_{cp}$  и ЧСС; в качестве контроля использовали введение 0,5 мл физраствора. Липополисахарид (*Salmonella typhimurium*), активирующий индуцибельную NO-синтазу [17], вводили внутривенно (8 мг/кг). Пероксид водорода (0,8% раствор) вводили в течение 5 мин дважды с интервалом в 10 мин.

**Выделение митохондрий.** Крыс линии Wistar (250–300 г) наркотизировали внутривенным введением уретана (1,8 г /кг), затем из-

влекали сердце и помещали его в охлажденную среду выделения, содержащую 70 мМ сахарозы, 220 мМ маннитола, 50 мМ HEPES, 1 мМ EDTA, pH 7,4. Измельченные ножницами кусочки сердца пропускали через сито из нержавеющей стали с диаметром отверстий 0,8 мм и гомогенизировали в течение 2–3 мин при соотношении ткань–среда выделения 1:8. Выделение митохондриальной фракции проводили в два этапа на центрифуге K-24. Супернатант после первого центрифугирования (10 мин при 700 g), в котором содержались митохондрии, фильтровали и снова центрифугировали в течение 10 мин при 14 000 g. Осадок осаждали в среде выделения, содержащей 3 мг/мл БСА. Полученный препарат митохондрий (30–35 мг белка/мл) хранили во льду. Все этапы выделения митохондрий проводили при температуре 0–4°C.

**Определение функциональной активности митохондрий.** Скорость потребления кислорода митохондриями измеряли с помощью электрода Кларка на полярографе YSI 53 фирмы Yellow Spring Instruments, Inc. (США). Среда инкубации содержала: 250 мМ сахарозы; 20 мМ HEPES; 1 мМ EGTA; 3 мМ MgCl<sub>2</sub>; 4 мМ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; pH 7,4. В качестве субстратов дыхания использовали 5 мМ сукцинат (вместе с 2 мкМ ротенона) или 3 мМ глутамата и 4 мМ малата. Для определения скорости дыхания в состоянии 3 в инкубационную смесь добавляли 20–250 мкМ ADP.

**Регистрация спектров ЭПР.** Спектры ЭПР регистрировали на спектрометре E-109E фирмы Varian (США) при комнатной температуре (~25°C). Для обеспечения постоянства содержания кислорода в инкубационной среде образцы помещали в газопроницаемые капилляры PTFE 22 (внутренний диаметр 0,635 мм, толщина стенок 0,051 мм) фирмы Zeus Industrial Products, Inc. (США), а запись спектров проводили при непрерывной продувке образцов газом варьируемого состава. Образование супероксидных радикалов в митохондриях регистрировали с помощью спиновой ловушки TIRON (4,5-диоксibenзол-1,3-дисульфонат натрия). Для спиновой ловушки TIRON характерна высокая константа скорости взаимодействия с супероксидными радикалами ( $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), что всего на порядок меньше, чем для супероксид дисмутазы. В ранее проведенных опытах было показано, что скорость генерации супероксида как в модельных системах, так и в суспензии митохондрий пропорциональна квадрату величины сигнала ЭПР от TIRON<sup>•-</sup> [16]. Среда инкубации содержала: 250 мМ сахарозы, 20 мМ HEPES, 1 мМ EGTA, 4 мМ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 3 мМ MgCl<sub>2</sub> и 10 мМ TIRON; pH 7,4. Концентрация митохондрий в среде инкубации составляла 1–2 мг/мл. Условия записи спектров ЭПР (для TIRON): СВЧ мощность 5 мВт, СВ частота 9,15 ГГц, амплитуда ВЧ модуляции 0,05 мТл.

## Результаты

**Опыты in vivo.** При введении крысам линии Wistar оксакома (7–80 мг/кг, n=6–8 при каждой дозе) наблюдали немедленное плавное снижение АД<sub>ср</sub>, которое достигало низшей точки через 2 мин (рис. 1). Затем оно очень постепенно поднималось, достигая исходного уровня через 1 ч. Динамика ЧСС была прямо противоположной, однако пик реакции достигался также через 2 мин.

Рис. 1. Динамика ЧСС (верхняя кривая) и АД<sub>ср</sub> (нижняя кривая) в процентах к исходным величинам у крыс линии Wistar при введении оксакома (40 мг/кг).

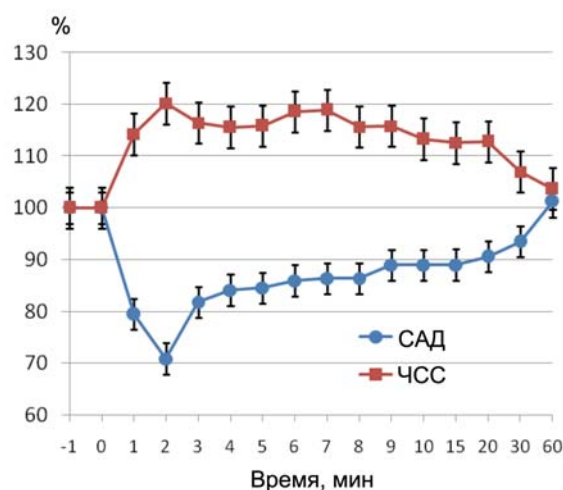


Рис. 2. Динамика ЧСС (слева, мин-1, ромбы) и АД<sub>ср</sub> (справа, мм рт. ст., квадраты) у крыс линий Wistar (W) и SHR (S) при введении оксакома (40 мг/кг).

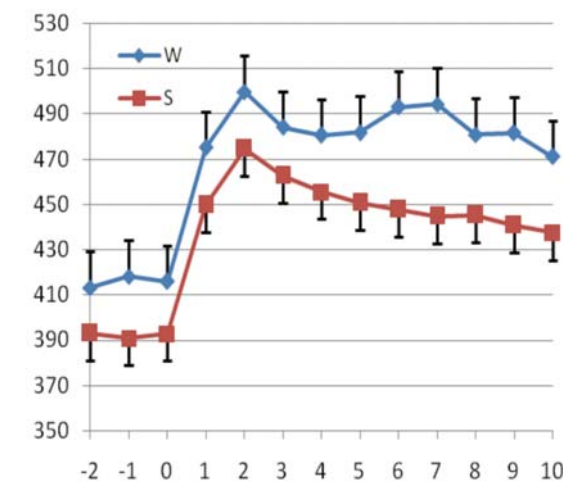


Рис. 3. Динамика ЧСС (верхние кривые) и АД<sub>ср</sub> (нижние кривые) у крыс линии SHR до (контроль, кружки) и после введения пропранолола (А-блокада, квадраты) в процентах к исходным величинам.

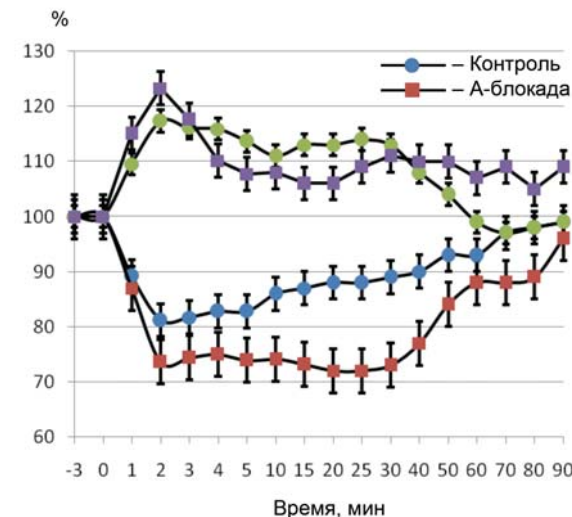




Рис. 4. Динамика ЧСС (квадраты) и АД<sub>ср</sub> (ромбы) у крыс линии Wistar при введении липополисахарида в процентах к исходным величинам.

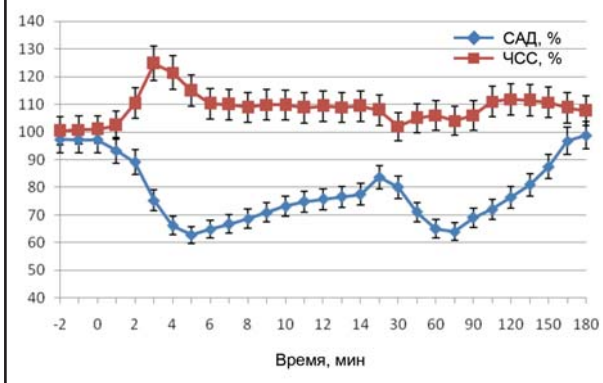


Рис. 5. Динамика АД<sub>ср</sub> (%) у крыс линии Wistar при первом (кружочки) и повторном (квадраты) введении пероксида водорода (слева) и оксакома (справа).

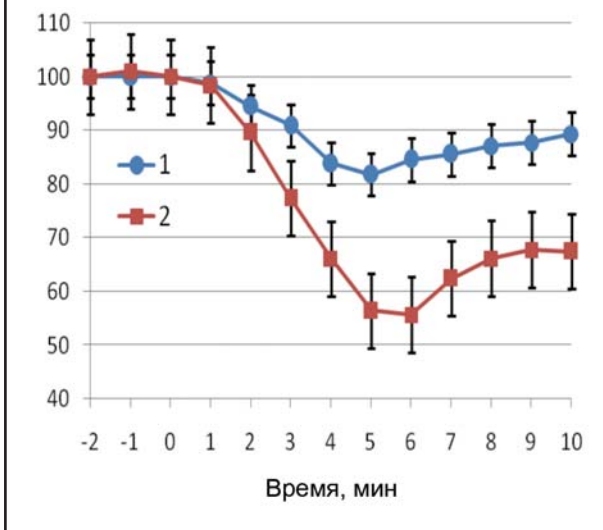
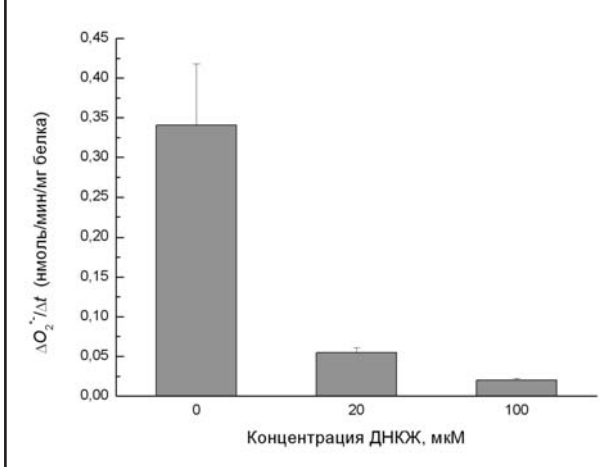


Рис. 6. Эффект оксакома (ДНКЖ) на скорость генерации супероксида в комплексе III электронно-транспортной цепи митохондрий.



Аналогичная динамика АД<sub>ср</sub> и ЧСС была характерна для действия ДНКЖ с цистеином вместо глутатиона. Степень повышения ЧСС слабо зависела от дозы оксакома – 114±4% при дозе 7 мг/кг, 120±5% при дозе 20 мг/кг и 122±6% при дозе 80 мг/кг, но длительность повышения ЧСС, как и длитель-

ность гипотензивного эффекта, увеличивалась с повышением дозы ДНКЖ.

У крыс линии SHR (n=10) оксаком вызывал сходные изменения (рис. 2). Минимальный уровень АД<sub>ср</sub> наблюдали также через 2 мин, в дальнейшем его восстановление было замедленным по сравнению с восстановлением у крыс линии Wistar. Прирост ЧСС был примерно одинаков, несмотря на то, что снижение АД<sub>ср</sub> у SHR оказалось более значительным. Отмечена тенденция к ускоренному возврату ЧСС у крыс линии SHR.

В отдельной серии на крысах линии SHR изучали реакцию АД<sub>ср</sub> и ЧСС на введение оксакома в условиях блокады β-адренорецепторов пропранололом (n=14). На фоне β-адреноблокады начальное снижение АД<sub>ср</sub> было несколько глубже (рис. 3), но статистически достоверная разница была отмечена в диапазоне 10–50 мин, когда восстановление АД<sub>ср</sub> было сильно замедлено. Однако реакция ЧСС мало изменялась.

Гипотензивный эффект липополисахарида *Salmonella typhimurium* (n=12) отличался замедленным снижением АД<sub>ср</sub> – минимальная величина (66±3% от исходного уровня) достигалась только через 5 мин (рис. 4). Как и АД<sub>ср</sub>, ЧСС при введении липополисахарида изменялась более плавно, пик (122±5%) достигался через 3–4 мин. При позднем гипотензивном эффекте липополисахарида, развивавшемся очень постепенно через 30 мин и характеризовавшемся примерно таким же снижением АД<sub>ср</sub> (63±3%), ЧСС уже не повышалась.

Эти результаты были сопоставлены с гипотензивным действием пероксида водорода (n=8). При внутривенном введении 0,8% раствора H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> крысам в течение 5 мин наблюдали умеренное снижение АД<sub>ср</sub> до 85±2% от исходного уровня (рис. 5). Однако реакция ЧСС на снижение АД<sub>ср</sub> отсутствовала. После полного восстановления исходного уровня САД повторное введение той же дозы пероксида водорода вызывало уже глубокое снижение АД<sub>ср</sub> до 51±4%, которое восстанавливалось значительно медленнее. При этом ЧСС не только не повышалась, но даже снижалась до 83±4%. В отличие от этого повторное введение той же дозы оксакома оказывало либо такое же (если использовали низкие дозировки), либо менее выраженное действие (при использовании высоких дозировок).

**Опыты с изолированными митохондриями.** Супероксид генерировали в присутствии субстрата комплекса II сукцината или субстратов комплекса I малата, глутамата и ингибитора Q-цикла антимицина А. При добавлении ДНКЖ в концентрациях 20–100 μM наблюдали резкое уменьшение сигнала TIRON, т.е. уменьшение захвата супероксида. При использовании концентрации 100 μM наблюдали практически полное исчезновение сигнала (рис. 6). При этом последующего возрастания сигнала, как в модельной системе ксантин–ксантинооксидаза, не происходило. Интересно, что донор оксида азота DETA/NO в наших опытах не вызывал ингибирования образования O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. Таким образом, наблюдаемый эффект является специфичным для ДНКЖ. Следует отметить, что эффект перехватывания O<sub>2</sub><sup>•-</sup> динитрозильными комплексами железа сохранялся даже в условиях модификации глутатионовых ДНКЖ метилглиоксалем.

## Обсуждение

Положительный хронотропный эффект, наблюдавшийся при гипотензивном действии оксакома, обычно связывают с барорефлекторной реакцией системы кровообращения в ответ на довольно быстрое снижение АД. В таком случае можно было бы ожидать возрастания степени прироста ЧСС в соответствии со степенью снижения АД<sub>ср</sub>. Однако корреляция между степенью снижения АД<sub>ср</sub> и повышения ЧСС отсутствовала – прирост ЧСС был практически идентичен при введении разных дозировок оксакома. Аналогичные данные были получены при введении донора нитроксида глицирилтринитрата большим с ишемическим инсультом – степень повышения ЧСС была меньше степени снижения АД [18]. В связи с этим нельзя исключать другую причину развития тахикардии – непосредственный положительный хронотропный эффект нитроксида. В экспериментах на изолированном сердце крыс было отмечено увеличение ЧСС примерно на 20% под влиянием нитропруссида [19]. Аналогичный эффект наблюдали и на других объектах [20], в том числе на пересаженном сердце человека, лишенном вегетативной иннервации [21]. О непосредственном действии оксакома на сердце свидетельствуют и наши данные об отсутствии влияния на ЧСС в условиях блокады β-адренорецепторов.

При начальном введении липополисахарида мы также наблюдали обычный положительный хронотропный эффект, сопоставимый по своей степени с эффектом оксакома. Однако во второй фазе снижения АД<sub>ср</sub>, вызванного вероятно активацией индуцибельной NO-синтазы [17], эффект отсутствовал. Возможно, это связано с тем, что снижение АД<sub>ср</sub> и вероятно повышение уровня NO происходили медленно, и система регуляции успевала адаптироваться.

Наблюдения показывают, что NO модулирует адренергические эффекты [22], однако направленность и степень этой модуляции весьма разнообразна, что неудивительно в связи с различной локализацией NO-синтаз, в том числе и в адренергических окончаниях. Основным эффектом нитроксида у людей считают ингибирование симпатического влияния на артериальный тонус [23]. Нитроксид также участвует в сниженной сократительной реакции в ответ на адренергическую стимуляцию при сердечной недостаточности [24]. В наших опытах длительность гипотензивного эффекта значительно возрастала в условиях симпатической блокады в отличие от величины начального снижения АД<sub>ср</sub> при неизменной реакции ЧСС. Это дает основание предполагать, что симпатическая активация является важным фактором восстановления сниженного артериального тонуса.

Эффект пероксида водорода оказывается еще более сложным в связи со своей способностью оказывать противоположное действие на сосуды разных областей. Известно, что пероксид водорода расслабляет сосуды сердца [4, 25, 26] и мозга [13]. По крайней мере частично этот эффект обусловлен мобилизацией нитроксида, поскольку ингибитор синтеза нитроксида L-NAME уменьшал реакцию сосудов сердца на введение пероксида [25]. Данный эффект, вероятно, можно связать с увеличенным входом Ca<sup>++</sup> под влиянием окисле-

ния белков кальциевых каналов при действии пероксида водорода [27]. Следствие этого – высвобождение эндотелиальной NO-синтазы, являющейся зависимым от Ca<sup>++</sup> ферментом, из комплекса с кавеоллином и ее активация [28].

Другое следствие увеличенного входа Ca<sup>++</sup> – небольшое, но отчетливое повышение ЧСС, наблюдаемое на изолированном сердце при введении пероксида водорода в коронарные сосуды [4, 25]. Однако при первом введении пероксида водорода *in vivo* ЧСС не изменялась, а при повторном введении даже снижалась. Этот результат позволяет предполагать, что относительно слабое прямое действие пероксида водорода на автоматизм сердца перекрывается в организме активацией высших вегетативных центров. Поскольку повторное введение H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> происходило на фоне восстановления АД<sub>ср</sub>, связанного с симпатической активацией [29], то брадикардия могла быть следствием модулирующего действия пероксида водорода на центр блуждающего нерва.

В клетках пероксид водорода, как и супероксид, обычно оказывает действие, противоположное действию нитроксида [22, 27], хотя их метаболизм тесно связан. В митохондриях супероксид образуется дыхательной цепью, а нитроксид – митохондриальной синтазой NO. Их образование регулируется трансмембранным потенциалом митохондрий – переход от состояния 4 к состоянию 3 сопровождается примерно двукратным снижением образования пероксида водорода и нитроксида [30], поэтому их можно рассматривать как биологические сигналы, транслирующие в цитоплазму информацию об энергетическом заряде митохондрий.

Свободный нитроксид очень легко связывается с супероксидом, образуя пероксинитрит, однако при наличии в митохондриях железа и тиоловых групп нитроксид образует с ними динитрозильные комплексы железа, представляющие своеобразные депо. При этом при низкой скорости образования ДНКЖ супероксид стимулирует, а при высокой скорости ограничивает образование ДНКЖ [4, 31], выступая не только как необходимый элемент образования ДНКЖ, но и как его регулятор. В наших опытах был продемонстрирован обратный эффект – добавление ДНКЖ к изолированным митохондриям снижало образование супероксида. Это означает, что ДНКЖ имеет сравнимую или более высокую константу скорости взаимодействия с супероксидом, чем TIRON. При этом донор оксида азота DETA/NO в наших опытах не вызывал ингибирования образования O<sub>2</sub><sup>-</sup>, следовательно наблюдаемый эффект специфичен для ДНКЖ и может быть обусловлен кооперативным действием входящих в эти комплексы компонентов (глутатион, железо, ионы нитрозония). Это может быть связано с тем, что митохондрии могут быть источником железа для формирования ДНКЖ. Ранее было установлено, что в присутствии митохондрий и сукцината выход ДНКЖ, образующихся под действием нитроксильного аниона, существенно возрастает. Это указывает на возможность существования связанного с митохондриями механизма, стимулирующего процесс образования ДНКЖ. Представляется вероятным, что нитроксильный анион вызывает высвобождение ионов железа, но в отличие от

супероксида образует с ним и тиоловыми лигандами комплексы, обладающие антиоксидантными свойствами.

Следовательно, как образование ДНКЖ с участием  $\text{NO}^-$ , так и последующее взаимодействие этих комплексов с активными формами кислорода могут быть элементами защиты клеточных структур миокарда от окислительного стресса. Более того, эффект перехватывания  $\text{O}_2^{\cdot-}$  динитрозильными комплексами железа сохранялся даже в условиях модификации глутатионовых ДНКЖ метилглиоксалем. Такой процесс может происходить *in vivo* в условиях так называемого карбонильного стресса, при котором увеличивается концентрация метилглиоксала и других активных карбонильных соединений.

### Заключение

Увеличение ЧСС при действии различных доз нитроксида не зависит от степени снижения АД и от активации  $\beta$ -адренорецепторов миокарда. При той же степени артериальной гипотонии, вызванной пероксидом водорода, хронотропная реакция отсутствовала или была отрицательной. Эти результаты, вероятно, обусловлены воздействием данных активных форм кислорода на различные регуляторные центры.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-01293а.

### Литература

1. Аронов ДМ, Лутанов ВП. Роль нитратов в комплексном лечении стенокардии в эпоху «агрессивной» терапии коронарного атеросклероза. *Кардиоваск. тер. и профилактикт.* 2005; 4 (5) 71–8.
2. Жиров ИВ, Терещенко СН. Место внутривенных нитратов в современной кардиологии. *Кардиоваск. тер. и профилактикт.* 2005; 4 (6): 97–101.
3. Затеишиков ДА, Данковцева ЕН. Место нитратов в современной кардиологии. *Кардиоваск. тер. и профилактикт.* 2007; 6 (2): 80–4.
4. Шумаев КБ, Ванин АФ, Лакомкин ВЛ и др. Участие активных форм кислорода в модуляции гипотензивного эффекта динитрозильных комплексов железа. *Кардиологический вестник.* 2007; 2 (2): 31–7.
5. Лакомкин ВЛ, Тимошин АА, Ванин АФ. и др. Длительный гипотензивный эффект стабильных динитрозильных комплексов железа у бодрствующих нормотензивных и гипертензивных крыс. *Кардиологический вестник.* 2006; 1 (1): 42–7.
6. Vanin AF, Mokh VP, Serezhenkov VA, Chazov EI. Vasorelaxing activity of stable powder preparations of dinitrosyl iron complexes with cysteine or glutathione ligands. *Nitric Oxide* 2007; 16: 322–30.
7. Lakomkin VL, Vanin AF, Timosbin AA et al. Long-lasting hypotensive action of stable preparations of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands in conscious normotensive and hypertensive rats. *Nitric Oxide* 2007; 16 (4): 413–8.
8. Лакомкин ВЛ, Тимошин АА, Орлова ЦР. и др. Действие динитрозильного комплекса железа с глутатионом – донора оксида азота – на систему кровообращения крыс и обезьян. *Кардиология.* 2009; 49 (5): 53–60.
9. Trochu J-N, Vouhour J-B, Kaley G, Hintze TH. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of cardiac oxygen metabolism: implications in health and disease. *Circ Res* 2000; 87: 1108–17.

10. Марков ХМ. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия. *Кардиология.* 2005; 12: 62–72.
11. Blackwell KA, Sorenson JP, Richardson DM et al. Mechanisms of aging-induced impairment of endothelium-dependent relaxation: role of tetrahydrobiopterin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287 (6): H2448–53.
12. Tuteja N, Chandra M, Tuteja K, Misra MK. Nitric oxide as a unique bioactive signaling messenger in physiology and pathophysiology. *J Biomed Biotech* 2004; 4: 227–37.
13. Faraci FM. Reactive oxygen species: influence on cerebral vascular tone. *J Appl Physiol* 2006; 100: 739–43.
14. Zimmet JM, Hare JM. Nitroso-Redox interactions in the cardiovascular system. *Circulation* 2006; 114: 1531–44.
15. Gutterman DD, Miura H, Liu Y. Redox modulation of vascular tone: focus of potassium channel mechanisms of dilation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 671–8.
16. Свирилева ИВ, Рууге ЭК. Генерация свободных радикалов кислорода в митохондриях сердца: эффект гипоксии – реоксигенации. *Биофизика.* 2006; 51 (3): 478–84.
17. Brady AJB, Poole-Wilson PA, Harding SE et al. Nitric oxide production within cardiac myocytes reduces their contractility in induced endotoxemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1992; 263: H1963–6.
18. Gray LJ, Sprigg N, Rasbid PA et al. Effect of nitric oxide donors on blood pressure and pulse pressure in acute and subacute stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2006; 15 (6): 245–9.
19. Pabla R, Curtis MJ. Effects of NO modulation on cardiac arrhythmias in the rat isolated heart. *Circ Res* 1995; 77: 984–92.
20. Kojda G, Kottenberg K. Regulation of basal myocardial function by NO. *Cardiovascular Research* 1999; 41: 514–23.
21. Levine TB, Olivari MT, Cohn JN. Effects of orthotopic heart transplantation on sympathetic control mechanisms in congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1986; 58: 1035–40.
22. Massion PB, Feron O, Dessy C et al. Nitric oxide and cardiac function. Ten years after, and continuing circulation research. 2003; 93: 388–98.
23. Sartori C, Lepori M, Scherrer U. Interaction between nitric oxide and the cholinergic and sympathetic nervous system in cardiovascular control in humans. *Pharmacol Ther* 2005; 106: 209–20.
24. Rastaldo R, Pagliaro P, Cappello S et al. Nitric oxide and cardiac function. *Life Sci* 2007; 81 (10): 779–93.
25. Valen G, Skjelbakken T, Vaage J. The role of nitric oxide in the cardiac effects of hydrogen peroxide. *Mol Cell Biochem* 1996; 159: 7–14.
26. Bharadwaj L, Prasad K. Mediation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced vascular relaxation by endothelium-derived relaxing factor. *Mol Cell Biochem* 1995; 149–50: 267–70.
27. Капелько ВИ. Регуляторная роль кислородных радикалов в миокардиальных клетках. *Рос. физиол. журн.* 2004; 90 (6): 681–91.
28. Капелько ВИ. Снижение биологического эффекта нитроксида при сердечно-сосудистой патологии и возможности коррекции. В сб. *Сердечно-сосудистая патология. Современное состояние проблемы.* М.: Media Medica, 2009; с. 88–104.
29. Huang HS, Stabl GL, Longburst JC. Cardiac-cardiovascular reflexes induced by hydrogen peroxide in cats. *Am J Physiol* 1995; 268 (5 Pt 2): H2114–24.
30. Valdez LB, Boveris A. Mitochondrial nitric oxide synthase, a voltage-dependent enzyme, is responsible for nitric oxide diffusion to cytosol. *Front Biosci* 2007; 12: 1210–9.
31. Biemond P, Swaak AJ, Van Eijk HG, Koster JF. Superoxide dependent iron release from ferritin in inflammatory diseases. *Free Radic Biol Med.* 1988; 4: 185–98.

\*



Е.К.Шевченко, П.И.Макаревич, Е.В.Парфёнова

## Генетическая модификация прогениторных клеток как способ повышения эффективности генной и клеточной терапии ишемических заболеваний

### Резюме

Новым направлением в лечении заболеваний ишемической природы является тактика терапевтического ангиогенеза, основанная на использовании генной и клеточной терапии для стимуляции роста новых сосудов и восстановления ишемизированной ткани. Эффективность и перспективы использования этих двух подходов показаны в различных экспериментальных исследованиях. В то же время результаты клинических исследований не оправдывают ожиданий. Новым подходом, потенциально способным повысить эффективность генной и клеточной терапии, может стать использование генетически модифицированных клеток. Объединение генной и клеточной терапии повышает эффективность переноса генетического материала, позволяет избежать иммунного ответа, ограничивающего введение вирусных векторов напрямую в ткани реципиента, а также способствует продлению терапевтического эффекта. Использование генетически модифицированных клеток, экспрессирующих и гиперэкспрессирующих терапевтические факторы, позволяет значительно уменьшить необходимую для трансплантации терапевтическую дозу клеток, повысить их выживаемость при трансплантации в поврежденные ишемизированные ткани. Данный обзор посвящен анализу основных экспериментальных исследований по применению различных типов генетически модифицированных клеток для стимуляции восстановления кровотока и регенерации ишемизированных тканей. Отдельное внимание уделено собственным результатам авторов, посвященным использованию модифицированных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани, рассмотрены перспективы их использования для терапевтического ангиогенеза.

**Ключевые слова:** ишемия, генная терапия, клеточная терапия, генетически модифицированные клетки, ангиогенез, ангиогенные факторы роста, стромальные клетки жировой ткани.

E.K.Shevchenko, P.I.Makarevich, Y.V.Parfyonova

### Genetic modification of progenitor cells as the way to increase the efficacy of gene and cell therapy for ischemic disorders

### Summary

Ischemic tissue reperfusion and reparation can be achieved via «therapeutic angiogenesis» strategy which implies both gene and cell therapy for induction of vessel growth and tissue protection.

Experimental tests in animals have already shown efficacy of this approach yet clinical data shows that outcomes in patients are below expectations, thus, raising the question for novel modality in human therapeutic angiogenesis. One of routes to circumvent this obstacle could be application of genetically modified cell therapies. Combining gene and cell therapy increases gene transfer efficacy, widens the period of gene persistence and helps to avoid significant immune response which can limit beneficial impact of viral vectors administration to patient's tissue.

Genetically modified cells expressing/overexpressing therapeutic factors can reduce the minimal dose of transplanted cells, increase cell viability in ischemic tissues after transplantation. Present review compiles results of key experimental studies of different genetically modified cell types for angiogenesis and regeneration of ischemic tissues. Separate section is devoted to presentation of own data obtained in animal and in vitro experiments using modified adipose derived stromal cells and analysis of their prospects for therapeutic angiogenesis application.

**Keywords:** ischemia, gene therapy, cell therapy, genetically modified cells, angiogenesis, angiogenic growth factors, adipose-derived stromal cells.

### Сведения об авторах

Шевченко Евгений Константинович – мл. науч. сотр. лаборатории ангиогенеза ФГУ РКНПК Минздрава РФ. Тел.: 414-67-13. E-mail: mazborrr@gmail.com

Макаревич Павел Игоревич – аспирант факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В.Ломоносова. E-mail: Pavel.makarevich@gmail.com

Парфёнова Елена Викторовна – д-р мед. наук, проф., руководитель лаборатории ангиогенеза ФГУ РКНПК Минздрава РФ. E-mail: yeparfyon@cardio.ru

В последнее время все большее внимание уделяется уже не отдельным исследованиям в области генной и клеточной терапии (ГТ и КТ) заболеваний, а новому направлению, цель которого заключается в использовании естественных механизмов восстановления тканей и органов – регенеративной медицине. Важнейшая со-

ставляющая этого направления – разработка методов восстановления кровоснабжения поврежденных тканей, без которого полноценная регенерация невозможна. Достигнутое в результате фундаментальных и клинических исследований понимание механизмов, регулирующих формирование и ремоделирование кровеносных сосудов,

позволило разработать новую тактику лечения ишемических заболеваний сердца и нижних конечностей – одной из наиболее распространенных причин потери трудоспособности и смертности населения в экономически развитых странах. Подобная тактика – терапевтический ангиогенез – направлена на стимуляцию роста новых сосудов в зоне ишемии путем создания в ней повышенной концентрации ангиогенных факторов роста – естественных индукторов ангиогенеза.

Существует несколько способов создания в ткани необходимой для стимуляции ангиогенеза концентрации факторов роста (ФР): введение рекомбинантных ангиогенных ФР (VEGF, aFGF, bFGF, HGF и др.), их генов в составе различных векторов, обеспечивающих их экспрессию в тканях-мишенях (генная терапия) и стволовых или прогениторных клеток, секретирующих ФР. Все способы протестированы в экспериментальных и клинических исследованиях, и на сегодняшний день накоплен достаточно большой клинический материал по результатам контролируемых испытаний. Обобщая полученные данные, необходимо отметить, что терапия рекомбинантными белками при системном их использовании (внутривенное или внутрикоронарное введение) оказалась неэффективной в отношении улучшения перфузии миокарда и его функции [1]. При использовании ГТ как на основе плазмидных, так и аденовирусных векторов, несущих гены ФР (VEGF, bFGF, FGF-4, HGF), однозначных результатов не получено. В работах по установленным конечным точкам были достигнуты и положительный [1–4], и отрицательный результаты [1, 5, 6]. Относительно КТ в большинстве контролируемых испытаний получены достоверные, но весьма скромные результаты по ее использованию для лечения острого инфаркта миокарда (ИМ), хронической сердечной недостаточности [7, 8] и хронической ишемии нижних конечностей [9, 10].

При обсуждении причин недостаточной эффективности ГТ и КТ заболеваний ишемического генеза помимо претензий к дизайну исследований и выбору конечных точек указывают в случае ГТ на низкую эффективность трансфекции тканей человека и недостаточную длительность экспрессии трансгена, а в случае КТ – на гибель значительного количества клеток после трансплантации в поврежденную и ишемизированную ткань.

Сегодня интенсивно разрабатываются подходы к повышению эффективности ГТ и КТ. Один из них – создание генетически модифицированных клеток – позволяет объединить достоинства обеих методик и нейтрализовать их недостатки. Перенос генов с помощью аутологичных прогениторных клеток не вызывает такого сильного иммунного ответа организма, как при использовании прямого введения вирусных векторов *in vivo*. Одна из проблем ГТ – определение эффективной дозы, которую трудно предсказать. Она зависит как от эффективности трансфекции/трансдукции тканей плазмидными или вирусными векторами, так и от полупериода жизни белкового продукта трансгена в случае с секретируемыми молекулами, какими являются почти все ФР. В случае использования векторов *in vivo* не всегда можно с уверенностью ожидать эффективной трансдукции тканей. Кроме того, существует вероятность возможных патологических эффектов в результа-

те трансдукции других типов клеток, не являющихся в конкретной задаче мишенями для генной манипуляции. При трансдукции *ex vivo* клеток, полученных от больного, эффективность доставки генетической информации в клетку можно контролировать до введения в организм, что дает немалое преимущество. Объединение ГТ и КТ повышает эффективность переноса генетического материала, позволяет избежать иммунного ответа, ограничивающего введение вирусных векторов напрямую в ткани реципиента, а также способствует продлению терапевтического эффекта. Одна из проблем, с которой сталкиваются исследователи в области КТ, заключается в том, что клетки тяжело получить в достаточном количестве для клинических целей. Генные манипуляции с клетками, а именно получение и использование клеток, экспрессирующих и гиперэкспрессирующих лечебные факторы, позволяют уменьшить необходимую для трансплантации терапевтическую дозу клеток и значительно повысить терапевтические эффекты.

До сих пор недостаточно изучены точные механизмы достижения положительных эффектов при КТ. Лечебный эффект трансплантации стволовых клеток может быть обусловлен как их дифференцировкой в зрелые специфичные типы клеток, так и действием секретируемых ими ФР. Учитывая, что вклад паракринных эффектов трансплантированных клеток в неоваскуляризацию и регенерацию весьма существенен, возможно, именно секреторная активность клеток, а не их дифференцировочные свойства определяют их ангиогенную и тканепротективную эффективность. Если это так, то усиление паракринных эффектов трансплантируемых клеток путем их генетической трансформации с помощью конструкций, содержащих гены ФР и цитокинов, может стать перспективным подходом к повышению эффективности КТ.

#### **Генетически модифицированные клетки для терапевтического ангиогенеза**

Возможность повышения эффективности восстановления кровоснабжения и регенерации ишемизированных тканей с помощью генетически модифицированных прогениторных клеток исследовалась прежде всего с помощью клеток, трансдуцированных генетической конструкцией, несущей ген VEGF – основной регулятор ангиогенеза в эмбриональном и постнатальном периодах развития организма. Различные типы клеток, включая мононуклеарную фракцию костного мозга или пуловинной крови, эндотелиальные клетки-предшественники, мезенхимальные клетки костного мозга и скелетные миобласты тестировались в этих работах. Как правило, эффективность гиперэкспрессирующих VEGF клеток сравнивали с таковой немодифицированных и/или ГТ с помощью конструкций, несущих ген VEGF.

#### **Предшественники эндотелиальных клеток**

Большинство работ по экспериментальной терапии ишемии миокарда и скелетных мышц основано на использовании эндотелиальных клеток-предшественников. На различных моделях сосудистых повреждений показана потенциальная возможность использования трансплантации генетически модифицированных эндотелиаль-

ных предшественников для стимуляции ангиогенеза посредством экспрессии ангиогенных факторов. Модифицированные эндотелиальные прогениторные клетки человека способствовали неоваскуляризации ишемизированной задней конечности мыши. Клетки трансдуцировали аденовирусным вектором, несущим ген VEGF164 мыши. Всего 15 тыс. клеток вводили в хвостовую вену безтимусным мышам с моделированной ишемией задней конечности. В результате значительно стимулировалась неоваскуляризация и уменьшалось число ампутаций конечностей [11]. Для достижения подобных эффектов потребовалось в десятки раз меньше клеток, чем в случаях трансплантации немодифицированных клеток.

Увеличить секреторную активность прогениторных клеток можно не только путем трансфекции/трансдукции их генами ФР, но путем воздействия на внутриклеточные сигнальные пути. Гликогенсинтетаза  $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) – ключевой регулятор ряда внутриклеточных сигнальных каскадов, обеспечивающих выживание эндотелиоцитов и стимулирующих их миграцию. Трансфекция эндотелиальных предшественников человека *in vitro* плазмидой с геном каталитически неактивной киназы GSK3 $\beta$  приводила к уменьшению транслокации  $\beta$ -катенина в ядро и увеличению экспрессии ангиогенных ФР – VEGF и ИЛ-8 [12]. Введение генетически модифицированных клеток в мышцу ишемизированной конечности иммунодефицитных мышей стимулировало васкуляризацию, восстановление перфузии конечности и предотвращало развитие гангрены. Эти эффекты были значительно более выраженными, чем при введении немодифицированных клеток.

Другим подходом к усилению паракринных эффектов эндотелиальных предшественников в условиях ишемии может быть гиперэкспрессия в них транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией – HIF-1 $\alpha$ , который регулирует экспрессию нескольких ангиогенных факторов. Показано, что трансфекция этих клеток вектором с геном HIF-1 $\alpha$  увеличивала в них экспрессию NO-синтазы и рецепторов к VEGF (Flk-1), секрецию VEGF и NO этими клетками, а также повышала их способность стимулировать ангиогенез и восстановление кровотока в ишемизированных мышцах задней конечности иммунодефицитных мышей [13].

Возможность повышения эффективности стимуляции неоваскуляризации тканей с помощью генетически модифицированных прогениторных клеток показана и на модели аутодермопластики лоскутом на ножке. Так, трансплантация трансфицированных *in vitro* плазмидой rhVEGF-165 эндотелиальных предшественников, полученных из пуповинной крови человека, улучшала кровоснабжение и показатели сохранности ишемизированного кожного лоскута у мышей, в то время как нетрансфицированные клетки по эффективности были сравнимы с плацебо [14]. На этой же модели была успешно применена ауто-трансплантация скелетных миобластов, трансфицированных геном FGF-2, и получены аналогичные результаты [15].

**Скелетные миобласты** представляют собой пул клеток, располагающихся на мембране мышечных волокон и участвующих в регенерации мышц при повреждении. Известно, что VEGF, секретруемый скелетными миобластами в условиях

ишемии, – важный антиапоптотический фактор для мышечных волокон [16]. Предположено, что использование скелетных миобластов, оверэкспрессирующих VEGF, позволит более эффективно стимулировать как ангио-, так и миогенез. В нескольких работах исследовали восстановление кровотока в ишемизированной конечности после введения модифицированных скелетных миобластов. С помощью аденовирусного вектора в миобласты, предварительно полученные из материала биопсии скелетных мышц кролика, вводили гены VEGF и ангиопоэтина-1. Модифицированные клетки трансплантировали в ишемизированные мышцы задней конечности кролика, получив значительную стимуляцию васкуляризации мышц по данным ангиографического и гистологического исследований [17]. Количество сосудов в мышцах при введении трансдуцированных клеток было в 3 раза больше, чем при введении интактных миобластов или миобластов, трансдуцированных «пустым» вектором. Та же группа авторов на модели ИМ у мини-свиньи показала, что скелетные миобласты, трансдуцированные аденовирусным вектором, несущим гены VEGF и ангиопоэтина-1, более эффективно восстанавливают функцию сердца после инфаркта и стимулируют образование стабильной функциональной сосудистой сети в периинфарктной зоне, чем немодифицированные миобласты или миобласты, трансдуцированные «пустым» вектором [18].

Введение в область рубца 4 млн миобластов, оверэкспрессирующих VEGF, на модели криогенного повреждения миокарда у крыс более эффективно стимулировало ангиогенез, чем введение плазмиды с геном VEGF [19]. Однако отсутствие соответствующей контрольной группы (введение нетрансдуцированных миобластов) оставило открытым вопрос о вкладе секреции VEGF миобластами в общий эффект. Скелетные миобласты, трансдуцированные аденовирусным вектором, несущим ген VEGF-165, вводили в миокард периинфарктной зоны сердца крысы через 2 мес после индукции модели ишемической кардиомиопатии. В группах сравнения животным вводили либо миобласты, трансдуцированные вектором с маркерным геном, либо раствор самого вектора с геном VEGF (AdVEGF-165), либо физраствор. Количество сосудов в миокарде было в 3 и в 2 раза больше в группах животных, которым вводили модифицированные клетки и AdVEGF-165, чем у животных с введением немодифицированных клеток. В то же время значимое улучшение сократимости миокарда наблюдалось только у крыс, получивших миобласты, при этом в группе с введением модифицированных клеток эффект был более выраженным. Поскольку количество мышечных волокон в обеих группах с введением клеток значимо не отличалось, улучшение сократительной функции происходило скорее всего не по причине более активной дифференцировки миобластов в мышечные волокна, а за счет улучшения перфузии миокарда вследствие секреции введенными клетками VEGF и уменьшения индуцированного ишемией апоптоза кардиомиоцитов (КМИ) [20].

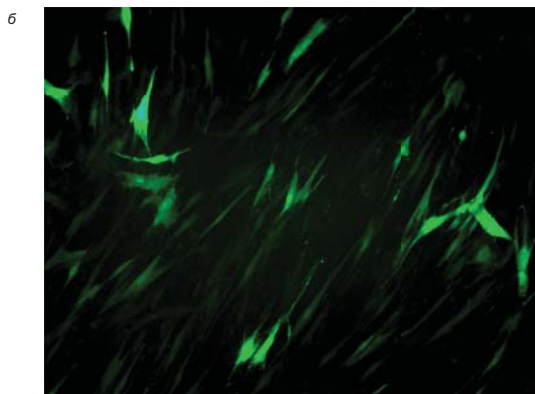
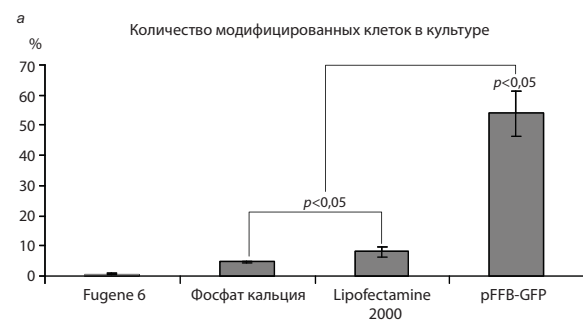
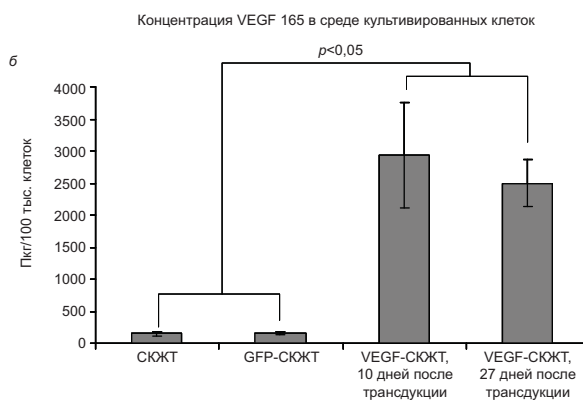
#### **Мезенхимальные клетки костного мозга**

Наибольшее внимание в качестве инструмента КТ, направленной на стимуляцию неоваскуляри-



**Рис. 1. Эффективность трансфекции/трансдукции СКЖТ.**

а – эффективность генетической модификации СКЖТ плазмидой, кодирующей GFP, с помощью кальций-фосфатной трансфекции, трансфицирующих агентов Fugene 6, Lipofectamine 2000 или в результате трансдукции с помощью ПААВ. Оценивался процент успешно модифицированных клеток, экспрессирующих GFP; б – флуоресцентная микроскопия трансдуцированных с помощью ПААВ СКЖТ, экспрессирующих GFP.

**Рис. 2. Увеличение уровня секреции VEGF165 модифицированными СКЖТ.** Качественная (А) и количественная (Б) оценка количества VEGF165 человека в образцах среды культивирования немодифицированных клеток (СКЖТ), клеток, модифицированных с помощью ПААВ, несущего маркерный ген GFP (GFP-СКЖТ) и клеток, модифицированных ПААВ с геном VEGF165 (VEGF-СКЖТ). а – иммуноблоттинг; б – иммуноферментный анализ.

зации и регенерации миокарда, привлекают мезенхимальные стволовые клетки (МСК). Именно в

отношении этого типа клеток достаточно хорошо доказана способность к кардиомиоцитарной дифференцировке *in vitro* и *in vivo* [21]. МСК секретируют широкий спектр ангиогенных и анти-апоптотических факторов роста (VEGF, HGF, bFGF, SDF-1 и др.), имеют высокий пролиферативный потенциал и способность к самообновлению. [22]. Сейчас интенсивно изучается возможность повышения эффективности применения МСК для КТ за счет их генетической модификации. В исследовании R.Matsumoto и соавт. [23] МСК, модифицированные с помощью аденовирусного вектора с геном VEGF-165, вводили в перинфарктную зону сердца крысы через час после окклюзии передней нисходящей артерии (ПНА). Через месяц после ИМ улучшение функции сердца, уменьшение размера ИМ и увеличение плотности сосудов в перинфарктной зоне было отмечено в большей степени у животных, которым вводили модифицированные клетки, чем у животных, получивших только введение среды культивирования. Однако это была лишь тенденция к более значительному улучшению показателей. Достоверное повышение эффективности клеточной терапии ИМ за счет модификации МСК отмечено EGao и соавт. [24]. Через месяц после перевязки ПНА и введения клеток у животных, получивших МСК, трансдуцированные аденовирусом с геном VEGF, параметры функции сердца были достоверно лучше, а количество сосудов больше, чем у животных, получивших МСК, трансдуцированные контрольным вектором, и прямое введение аденовируса с геном VEGF. Часть трансплантированных МСК дифференцировалась в кардиомиоцитарном направлении, и только небольшое количество введенных клеток дифференцировалось в клетки сосудов. Большинство же сосудов в перинфарктной зоне не содержало трансплантированных клеток. Это показывает, что модифицированные МСК эффективно стимулируют миогенез за счет паракринных эффектов и, возможно, за счет дифференцировки в КМЦ.

Эффективность генетически модифицированных МСК при их введении в миокард в отдаленные после ИМ сроки изучали J.Yang и соавт. [25]. МСК, сверхэкспрессирующие VEGF, вводили в перинфарктную зону сердца крысы через 2 нед после лигирования ПНА. Контрольным группам животных вводили немодифицированные МСК, плазмиду с геном VEGF или среду культивирования клеток. Через 4 нед показатели функции и размеров сердца и наибольшая плотность сосудов в перинфарктной зоне оказались наилучшими у животных, которым вводили МСК, продуцирующие VEGF. Эффективная стимуляция ангиогенеза, улучшение функции сердца и выживаемости клеток после трансплантации были получены и при введении в перинфарктную зону сердца крысы генетически модифицированных МСК, сверхэкспрессирующих ангиогенин [26].

#### Модифицированные мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани в качестве нового инструмента терапевтического ангиогенеза

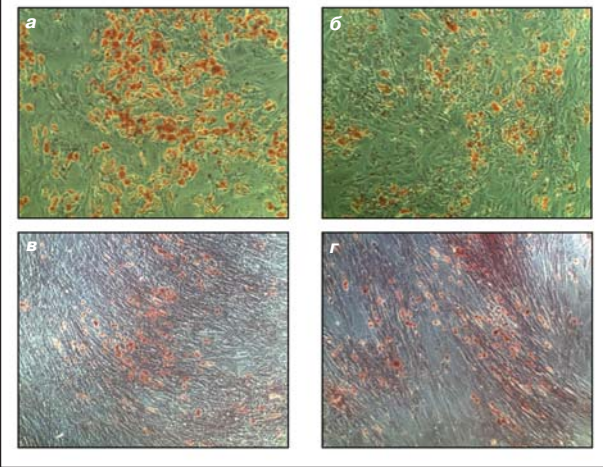
Несмотря на наличие позитивного лечебного эффекта при введении многих из названных выше типов клеток в зону ишемии, сложность получения их в достаточном количестве (при исполь-

зовании эндотелиальных клеток-предшественников), невозможность рутинного применения по этическим причинам (для эмбриональных стволовых клеток), наличие серьезных побочных эффектов (нарушения ритма сердца при введении скелетных миобластов), а также болезненность процедуры получения (для МСК) обусловили необходимость поиска новых источников клеток для КТ. Одним из новых ресурсов стала жировая ткань, а именно выделяемые из нее клетки стромально-васкулярной фракции (стромальные клетки жировой ткани – СКЖТ). Главное их преимущество заключается в возможности выделения их в большом количестве у пациентов при минимальном хирургическом вмешательстве. Процедура деления клеток хорошо отработана и несложна. Эти клетки хорошо пролиферируют в культуре и могут быть получены в больших количествах в достаточно короткие сроки. Установлено, что популяция СКЖТ гетерогенна и обладает высокой пластичностью, и именно они могут дифференцироваться не только в адипоциты, но и в другие типы клеток – хондробласты, остеобласты, миобласты, клетки эндотелия и КМЦ [27]. Исследования показали, что независимо от источника выделения СКЖТ характеризуются высокой пролиферативной способностью, наличием одного или нескольких маркеров стволовых клеток (CD34<sup>+</sup> для человека и Sca-1<sup>+</sup> для мыши) и отсутствием высокоспецифичных маркеров адипоцитов [28]. СКЖТ экспрессируют и секретируют различные митогенные, антиапоптотические и ангиогенные факторы, такие как HGF, TGF, PGF, VEGF, Ang-1 [29]. Эти клетки хорошо переносят недостаток кислорода и в условиях гипоксии продукция ими ФР многократно возрастает.

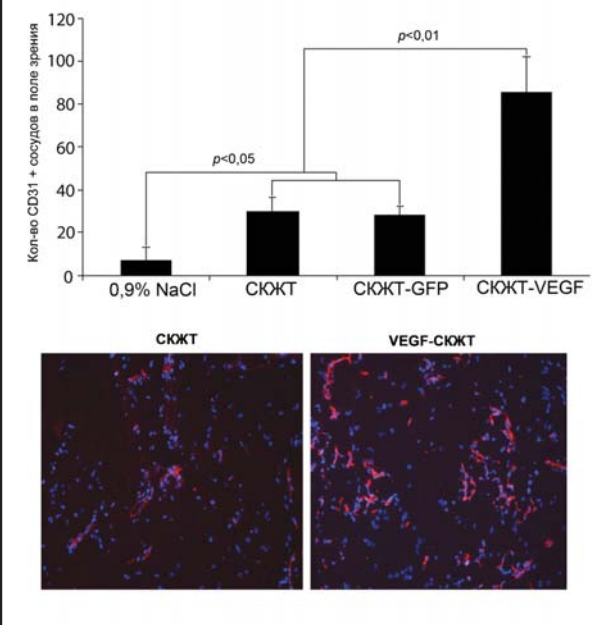
С учетом указанных позитивных особенностей СКЖТ были предприняты первые попытки их использования для стимуляции ангиогенеза и восстановления кровотока в ишемизированных тканях [30]. Так, на экспериментальной модели ишемии задней конечности у тимус-дефицитных мышей линии NOD/SCID введение СКЖТ в хвостовую вену на следующий день после иссечения бедренной артерии предотвращало развитие некроза и восстанавливало кровоток в ишемизированной конечности [31]. Возможность предотвращения снижения функции сердца и его ремоделирования после ИМ с помощью трансплантации СКЖТ показана нами на модели инфаркта у крыс линии Lewis [32].

В настоящее время мы проводим работы по оценке эффективности генетической модификации СКЖТ и анализу их ангиогенных свойств. При модификации СКЖТ *ex vivo* становится возможным контроль эффективности переноса гена, а также исчезает риск его доставки в нецелевые клетки и ткани, как в случае с прямым использованием вирусов и плазмид *in vivo*. В одной из работ мы показали возможность эффективной трансдукции СКЖТ человека с помощью рекомбинантного аденоассоциированного вируса (РААВ) 2-го серотипа, кодирующего ген VEGF165 [33]. Векторы на основе РААВ безопаснее по сравнению с другими вирусными векторами. РААВ не содержит последовательностей вирусных белков, способен заражать как делящиеся, так и неделящиеся клетки. В клетке он существует преимущественно в эписомальном состоянии, а интеграция в хроматин происходит с очень низкой вероятностью,

**Рис. 3.** Влияние генетической модификации СКЖТ на способность к адипогенной и остеогенной дифференцировке. Окрашивание СКЖТ (а) и VEGF-СКЖТ (б) красителем Oil Red на 10-й день культивирования в среде для дифференцировки в адипоциты (увеличение в 100 раз). Начало минерализации матрикса на 16-й день культивирования СКЖТ (в) и VEGF-СКЖТ (г) в среде для остеогенной дифференцировки. Окрашивание красителем Alizarin Red (увеличение в 100 раз).



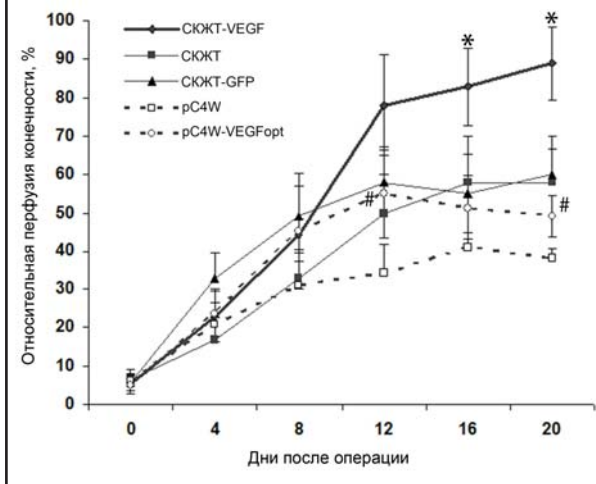
**Рис. 4.** Влияние СКЖТ на развитие сосудистой сети в матриксе. Мышам линии BALB/c *nude* подкожно трансплантировали матрикель с 5x10<sup>5</sup> клеток: немодифицированные СКЖТ, клетки, модифицированные с помощью РААВ, несущего маркерный ген GFP (GFP-СКЖТ), и клетки, модифицированные РААВ с геном VEGF165 (VEGF-СКЖТ). Количество сосудов в матриксе определяли окрашиванием его срезов антителами против CD31 – маркера эндотелиальных клеток. а – соотношение количества CD31<sup>+</sup> сосудистых структур в матриксе в группах СКЖТ, СКЖТ-GFP и СКЖТ-VEGF. б – флуоресцентная микроскопия срезов матрикса, окрашенных флуоресцентными антителами (красный) против CD31 мыши. Увеличение в 100 раз.



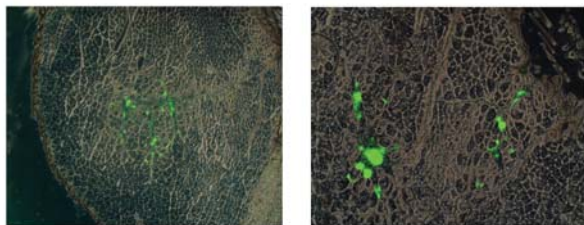
что существенно снижает опасность инсерционного мутагенеза. В то же время экспрессия трансгена сохраняется в течение нескольких месяцев. Кроме того, до сих пор не выявлено ни одной болезни человека, ассоциированной с заражением этим вирусом – существенное преимущество перед другими вирусными векторами (лентивирусами, аденовирусами и ретровирусами) для клинического использования [34, 35].



**Рис. 5. Влияние трансплантации СКЖТ на динамику реперфузии ишемизированной конечности мыши. У мышей линии BALB/c *nude* моделировалась односторонняя ишемия задней конечности. Сразу после операции внутримышечно вводили: 1) «пустую» плазмиду (pC4W); 2) плазмиду, кодирующую VEGF165 (pC4W-VEGFort); 3) немодифицированные клетки (СКЖТ); 4) клетки, модифицированные с помощью PAAV, несущего маркерный ген GFP (GFP-СКЖТ); 5) клетки, модифицированные PAAV с геном VEGF165 (VEGF-СКЖТ). На графике представлена динамика восстановления кровотока в ишемизированной конечности в группах мышей pC4W, pC4W-VEGFort, СКЖТ, GFP-СКЖТ, VEGF-СКЖТ, выраженная в процентном отношении от перфузии здоровой контрлатеральной конечности; \* $p < 0,05$  по сравнению с СКЖТ,  $p < 0,05$  по сравнению с pC4W.**



**Рис. 6. Функциональная активность СКЖТ после трансплантации.** Флуоресцентная микроскопия срезов мышечной ткани мыши, приготовленных на 7-й день после индукции ишемии и введения модифицированных СКЖТ, экспрессирующих GFP. Увеличение в 50 (а) и 100 (б) раз.



Мы показали, что при использовании PAAV можно получить 60–70% модифицированных клеток в культуре (рис. 1). При этом выживаемость клеток после вирусной трансдукции составляла не менее 80%.

Нами были получены генетически модифицированные СКЖТ, оверэкспрессирующие VEGF165 человека (VEGF-СКЖТ). Секреция ими VEGF в среду культивирования более чем в 30–50 раз превышает базальный уровень секреции этого белка немодифицированными СКЖТ (рис. 2).

Экспрессия трансгена в результате трансдукции клеток с помощью PAAV была длительной и сохранялась по крайней мере в течение 30 дней, что значительно превышает временные рамки, характерные для экспрессионной активности плазмид в клетках (7–10 дней) [33]. Мы также убедились в том, что модифицированные СКЖТ сохранили свою способность к адипоцитарной и остеогенной дифференцировке (рис. 3).

Способность VEGF-СКЖТ стимулировать рост сосудов первоначально показана нами на модели васкуляризации подкожно имплантированного

матригеля у иммунодефицитных мышей [36]. Помещенные в матригель клетки за счет своей паракринной активности создают градиент ангиогенных факторов, что способствует прорастанию в матригелевую бляшку сосудов из окружающих тканей. Гистологическая оценка срезов матригеля показала, что модифицированные VEGF-СКЖТ способствуют формированию более плотной сосудистой сети в матригеле по сравнению с контролем (введение немодифицированных клеток). При подсчете сосудов (CD31-позитивных структур) мы обнаружили, что их количество в группе VEGF-СКЖТ в 2,5 раза выше, чем в группах контроля (немодифицированные СКЖТ, СКЖТ и СКЖТ, трансдуцированные зеленым флуоресцентным белком GFP, GFP-СКЖТ) (рис. 4).

Несмотря на высокий уровень секреции VEGF этими клетками нами не было отмечено формирования преимущественно нестабильных сосудов — быстро диссоциирующих капилляров, как это было в случаях увеличения экспрессии VEGF в тканях при прямом введении вирусных векторов [37]. Это, вероятно, обусловлено секрецией введенными клетками стабилизирующих ангиогенных факторов (FGF2, Ang-1) [38].

Основным критерием функциональной ангиогенной эффективности СКЖТ в нашей работе является способность индуцировать восстановление перфузии ишемизированной мышцы. К 20-му дню после индукции ишемии восстановление перфузии конечности после введения клеток, продуцирующих VEGF (группа VEGF-СКЖТ), было более эффективным, достигая 85% от перфузии здоровой контрлатеральной конечности, тогда как при введении немодифицированных СКЖТ перфузия восстановилась лишь до 60%, а при использовании плазмид с VEGF — до 50% [36]. Следует отметить, что в случае введения клеток нами не было отмечено снижения на 21-й день перфузии конечности, которое мы наблюдали при введении плазмид (см. рис. 4). Это можно объяснить присутствием в ткани в течение всего времени эксперимента живых функционирующих клеток, продуцирующих «коктейль» факторов, стимулирующих поддержание стабильности кровеносных сосудов. На гистологических препаратах мышечной ткани, взятой у мышей через 7 дней после индукции ишемии и введения СКЖТ, экспрессирующих маркерный ген зеленого флуоресцентного белка (GFP), мы обнаружили живые трансплантированные клетки, флуоресцирующие в «зеленом» канале (рис. 5).

Данные, полученные нами при анализе мышечных эксплантов мыши, подтвердили наличие функционирующих трансплантированных клеток в ишемизированной ткани и на более поздних сроках после трансплантации. Методом иммуноферментного анализа было показано, что как после введения плазмиды с VEGF, так и после инъекции клеток (VEGF-СКЖТ) до 7-го дня в мышце продуцируется значительное количество VEGF165 человека. К 20-му дню после введения плазмид его экспрессия практически полностью прекращалась, что было показано нами методом ПЦР [39]. Однако в экспланте мышцы, взятом на 20-й день после введения VEGF-СКЖТ, сохранялась секреция VEGF человека, что свидетельствует о наличии в мышце жизнеспособных, продуцирующих этот белок клеток человека [36].



### **Повышение жизнеспособности трансплантируемых клеток, их хоуминга и интеграции в структуру ткани с помощью генетической модификации**

Помимо повышения ангиогенной эффективности клеточной и генной терапии важнейшей целью модификации трансплантируемых клеток является повышение их выживаемости после трансплантации. Гибель значительного количества клеток после введения в поврежденные ткани признана одной из наиболее важных проблем, ограничивающих эффективность КТ. Отмечено, что более 70% неонатальных КМЦ, трансплантированных в миокард, погибает в течение первых 24 ч [40]. Для увеличения их выживаемости разрабатываются различные подходы. Так, цитопротективный эффект фармакологического preconditionирования был показан на скелетных миоблестах *in vitro* и *in vivo* [41, 42]. Культивирование перед трансплантацией в условиях гипоксии [43] или повышенной температуры [44] также увеличивало выживаемость клеток при гипоксии-реоксигенации *in vitro* и при трансплантации в сердце.

Важной внутриклеточной сигнальной молекулой, опосредующей антиапоптотические и пролиферативные сигналы, является Akt-киназа. Известно, что активация Akt в КМЦ повышает устойчивость клеток к апоптозу при ишемическом повреждении [45]. Впечатляющие результаты были получены при введении в сердце мыши после ИМ модифицированных ретровирусной конструкцией МСК, экспрессирующих Akt-киназу. Функция сердца мыши почти полностью восстанавливалась при введении модифицированных клеток. Их эффект был значительно большим, чем эффект немодифицированных МСК [46]. Первоначально полагали, что он обусловлен только уменьшением апоптотической гибели введенных клеток, однако последующие работы показали, что экспрессия Akt-киназы в несколько раз увеличивала экспрессию ангиогенных ФР клетками и, вероятнее всего, именно усиление паракринных влияний обусловило повышение лечебной эффективности модифицированных клеток и их выживание после трансплантации [47].

Существенным фактором для КТ является длительность эффекта. Интересна экспериментальная работа, в которой трансплантировали в перинфарктную зону сердца крысы генетически модифицированные МСК, оверэкспрессирующие одновременно Akt-киназу и ангиопоэтин-1, и получили стабильную регистрируемую через 3 мес стимуляцию ангио-артериогенеза, улучшение функции сердца, приживление трансплантата и признаки дифференцировки трансплантированных клеток в кардиомиоцитарном направлении [48]. Однако использование клеток, постоянно экспрессирующих Akt-киназу, таит в себе опасность онкогенеза [49], поэтому продвижение данной технологии в клинику требует проведения экспериментальных разработок регулируемой экспрессии Akt-киназы.

Была предпринята удачная попытка увеличения выживаемости клеток после трансплантации МСК, полученных из костного мозга крысы, которые были трансдуцированы антиапоптотическим геном Bcl-2 и введены в перинфарктную зону. Выживаемость модифицированных клеток была в

два раза выше через 3 нед после трансплантации, а стимуляция ангиогенеза и улучшение функции сердца были более выражены, чем при введении клеток, трансдуцированных «пустым» вектором [50].

Другой молекулой, обладающей антиапоптотической, противовоспалительной и цитопротективной активностью, является гемоксигеназа HO-1 – фермент, катализирующий образование из гемоглобина биливердина, свободных ионов железа и оксида углерода. Все эти три продукта защищают клетки от повреждения и смерти, индуцированных оксидативным стрессом [51]. Показано, что МСК, трансфицированные плазмидой, несущей ген HO-1 под промотором, регулируемым гипоксией, устойчивы к гипоксическому повреждению *in vitro* и значительно лучше интактных МСК выживают при введении в ишемизированный миокард [52].

Наиболее доступен и легко выполним при клиническом использовании внутрисосудистый способ трансплантации стволовых и прогениторных клеток. При таком способе введения эффективный хоуминг клеток – их миграция в зону повреждения и ишемии – может существенно влиять на эффективность КТ. Клетки ишемизированных и поврежденных тканей секретуют различные факторы роста и цитокины, из которых важнейшим сигналом к миграции в зону повреждения и хоумингу является хемокин – фактор стромальных клеток (SDF-1), привлекающий стволовые клетки, несущие на своей поверхности рецептор к SDF-1 – молекулу адгезии CXCR4 [53]. На МСК обнаружен низкий уровень экспрессии CXCR4. Для улучшения миграции, хоуминга и выживания трансплантированных МСК предложено трансформировать их генетическими конструкциями, несущими ген CXCR4. В исследованиях *in vitro* было показано, что трансдукция этих клеток с помощью ретровирусного вектора с геном CXCR4 значительно увеличивает их миграцию *in vitro* в ответ на SDF-1 [54]. Внутривенное введение МСК, экспрессирующих CXCR4, через 3 дня после моделирования ИМ у крыс стимулировало их аккумуляцию в перинфарктной зоне, ангиогенез и миогенез, улучшало функцию сердца [55]. Эффективность модифицированных клеток была значительно выше, чем немодифицированных.

Главной проблемой при трансплантации скелетных миобластов в сердце является отсутствие их электрической интеграции в миокард реципиента. Зрелые скелетные мышечные волокна – конечный продукт дифференцировки миобластов – не экспрессируют белок межклеточной адгезии N-кадгерин (N-Cad) и белок межклеточных контактов коннексин 43 (Cx43), обеспечивающих нормальное проведение электрического возбуждения от одного КМЦ к другому. Таким образом, в месте имплантации миобластов образуется фрагмент поперечно-полосатой мышцы и формируется субстрат для возникновения повторного входа возбуждения. Это было продемонстрировано и при совместном культивировании миобластов и КМЦ [56]. В клинических испытаниях у некоторых больных после введения в миокард аутологических миобластов возникали частые пароксизмы желудочковой тахикардии, что требовало имплантации кардиовертера-дефибриллятора [57]. Для преодоления этой проблемы и обеспечения

адекватного электрического сопряжения образующихся мышечных волокон с КМЦ миообласти *in vitro* трансдуцировали геном коннексина 43 (Cx43) [58], поставившего под контроль тканеспецифичного промотора гена мышечной креатинкиназы, которая экспрессируется только в зрелых мышечных волокнах. Это позволило получить жизнеспособные мышечные волокна, экспрессирующие Cx43 и формирующие контакты с КМЦ хозяина.

### Заключение

Несмотря на огромный потенциал, показанный в экспериментальных работах, успехи ГТ и КТ в клинике при используемых сегодня подходах пока невелики. Одним из путей повышения эффективности генной и клеточной терапии может стать генетическая модификация клеток. Это позволяет улучшать их регенеративные свойства за счет усиления паракринной активности (секреции ФР), повышения жизнеспособности самих клеток при трансплантации, увеличения их способности к хоумингу и интеграции в ткань-мишень, создания клеток с новыми свойствами. В данной области очень важен выбор оптимального типа трансплантируемых клеток, а также эффективного и безопасного способа для их генетической модификации. Благодаря своей доступности, высокому пролиферативному, дифференцировочному и ангиогенному потенциалу мезенхимальные СКЖТ представляются идеальным инструментом для терапевтического ангиогенеза. Уже проводятся клинические испытания по использованию СКЖТ в регенеративной медицине и, в частности, для лечения ИМ [59]. В качестве одного из способов модификации клеток, в том числе СКЖТ, очень перспективна трансдукция с помощью РААВ. Преимущество использования векторов на основе РААВ для модификации клеток обусловлены их высокой эффективностью и намного большей безопасностью по сравнению с другими вирусными векторами. Описанные выше данные, полученные в наших экспериментах и работах других исследователей, делают потенциально возможным использование модифицированных СКЖТ для аутологичной трансплантации, например для лечебного ангиогенеза.

Результаты экспериментальных работ по использованию модифицированных прогениторных клеток для лечебного ангиогенеза, включая наши исследования, убедительно показывают большую эффективность генетически модифицированных клеток по сравнению с немодифицированными и прямой ГТ. Однако продвижение этой технологии в клинику требует прежде всего решения вопросов ее безопасности. И в этом плане разработка безопасных способов модификации клеток, использование регулируемых и тканеспецифичных промоторов, оценка возможных трансформаций модифицированных клеток, длительных эффектов, в том числе побочных эффектов их трансплантации на лабораторных животных должна предшествовать разработке клинических протоколов оценки эффективности этой технологии.

### Литература

1. Renault M-A, Losordo DW. Therapeutic Myocardial Angiogenesis. *Microvasc Res* 2007; 74 (2-3): 159-71.

2. Gyongyosi M, Kbarsand A, Zamini S et al. NOGA-guided analysis of regional myocardial perfusion abnormalities treated with intramyocardial injections of plasmid encoding vascular endothelial growth factor A-165 in patients with chronic myocardial ischemia: subanalysis of the EUROINJECT-ONE multicenter double-blind randomized study. *Circulation* 2005; 112 (Suppl. 1): 157-65.

3. Grines CL, Watkins MW, Helmer G et al. Angiogenic Gene Therapy (AGENT) trial in patients with stable angina pectoris. *Circulation* 2002; 105: 1291-7.

4. Makinen K, Manninen H, Hedman M et al. Increased vascularity detected by digital subtraction angiography after VEGF gene transfer to human lower limb artery: a randomized, placebo-controlled, double-blinded phase II study. *Mol Ther* 2002; 6: 127-33.

5. Henry TD, Grines CL, Watkins MW et al. Effects of Ad5FGF-4 in patients with angina: an analysis of pooled data from the AGENT-3 and AGENT-4 trials. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 1038-46.

6. Yla-Herttuala S, Rissanen TT, Vajanto I. Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical application in cardiovascular medicine. *JMCC* 2007; 49: 1015-26.

7. Lipinski MJ, Biondi-Zoccai GG, Abbate A et al. Impact of intracoronary cell therapy on left ventricular function in the setting of acute myocardial infarction: a collaborative systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50 (18): 1761-7.

8. Zhang SN, Sun AJ, Ge JB et al. Intracoronary autologous bone marrow stem cells transfer for patients with acute myocardial infarction: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Int J Cardiol* 2009; 136 (2): 178-85.

9. Germani A, Di Campli C, Pompilio G et al. Regenerative therapy in peripheral artery disease. *Cardiovasc Ther* 2009; 27 (4): 289-304.

10. Kawamoto A, Katayama M, Handa N et al. Intramuscular transplantation of G-CSF-mobilized CD34(+) cells in patients with critical limb ischemia: a phase I/IIa, multicenter, single-blinded, dose-escalation clinical trial. *Stem Cells* 2009; 27 (11): 2857-64.

11. Iwaguro H, Yamaguchi J, Kalka C et al. Endothelial progenitor cell vascular endothelial growth factor gene transfer for vascular regeneration. *Circulation* 2002; 105 (6): 732-8.

12. Choi JH, Hur J, Yoon CH et al. Augmentation of therapeutic angiogenesis using genetically modified human endothelial progenitor cells with altered glycogen synthase kinase-3beta activity. *J Biol Chem* 2004; 279 (47): 49430-8.

13. Jiang M, Wang B, Wang C et al. In vivo enhancement of angiogenesis by adenoviral transfer of HIF-1alpha-modified endothelial progenitor cells (Ad-HIF-1alpha-modified EPC for angiogenesis). *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40 (10): 2284-95.

14. Yi CG, Guo SZ, Zhang LX et al. Promotion of the survival of ischemic skin flap by transplanted endothelial progenitor cells transfected with VEGF165 gene: an experimental study with mice. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2005; 85 (7): 473-8.

15. Rinsch C, Quinodoz P, Pittet B et al. Delivery of FGF-2 but not VEGF by encapsulated genetically engineered myoblasts improves survival and vascularization in a model of acute skin flap ischemia. *Gene Ther* 2001; 8 (7): 523-33.

16. Germani A, Di Carlo A, Mangoni A et al. Vascular endothelial growth factor modulates skeletal myoblast function. *Am J Pathol* 2003; 163 (4): 1417-28.

17. Niagara MI, Haider HKh, Ye L et al. Autologous skeletal myoblasts transduced with a new adenoviral bicistronic vector for treatment of hind limb ischemia. *J Vasc Surg* 2004; 40 (4): 774-85.

18. Ye L, Haider HKh, Jiang S et al. Improved angiogenic response in pig heart following ischaemic injury using human skeletal myoblast simultaneously expressing VEGF165 and angiopoietin-1. *Eur J Heart Fail* 2007; 9 (1): 15-22.

19. Ye L, Haider HKh, Jiang S et al. Improved angiogenic response in pig heart following ischaemic injury using human skeletal myoblast simultaneously expressing VEGF165 and angiopoietin-1. *Eur J Heart Fail* 2007; 9 (1): 15-22.



20. Askari A, Unzek S, Goldman CK et al. Cellular, but not direct, adenoviral delivery of vascular endothelial growth factor results in improved left ventricular function and neovascularization in dilated ischemic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43 (1): 1908–14.
21. Tokcaer-Keskin Z, Akar AR, Ayaloglu-Butun F et al. Timing of induction of cardiomyocyte differentiation for in vitro cultured mesenchymal stem cells: a perspective for emergencies. *Can J Physiol Pharmacol* 2009; 87 (2): 143–50.
22. Zou Z, Zhang Y, Hao L et al. More insight into mesenchymal stem cells and their effects inside the body. *Expert Opin Biol Ther* 2010; 10 (2): 215–30.
23. Matsumoto R, Omura T, Yoshibiyama M et al. Vascular endothelial growth factor-expressing mesenchymal stem cell transplantation for the treatment of acute myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25 (6): 1168–73.
24. Gao F, He T, Wang H et al. A promising strategy for the treatment of ischemic heart disease: Mesenchymal stem cell-mediated vascular endothelial growth factor gene transfer in rats. *Can J Cardiol* 2007; 23 (11): 891–8.
25. Yang J, Zhou W, Zheng W et al. Effects of myocardial transplantation of marrow mesenchymal stem cells transfected with vascular endothelial growth factor for the improvement of heart function and angiogenesis after myocardial infarction. *Cardiology* 2007; 107 (1): 17–29.
26. Liu XH, Bai CG, Xu ZY et al. Therapeutic potential of angiogenin modified mesenchymal stem cells: angiogenin improves mesenchymal stem cells survival under hypoxia and enhances vasculogenesis in myocardial infarction. *Microvasc Res* 2008; 76 (1): 23–30.
27. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001; 7 (2): 211–28.
28. Gronthos S, Franklin DM, Leddy HA et al. Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. *J Cell Physiol* 2001; 189 (1): 54–63.
29. Madonna R, Geng YJ, De Caterina R. Adipose tissue-derived stem cells: characterization and potential for cardiovascular repair. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009 29 (11): 1723–9.
30. Miranville A, Heeschen C, Sengenès C et al. Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation* 2004; 110 (3): 349–55.
31. Трактюев Д.О., Марч К.П., Качук В.А., Парфенова Е.В. Стромальные клетки жировой ткани – мультипотентные клетки с терапевтическим потенциалом для стимуляции ангиогенеза при ишемии тканей. *Кардиология*. 2006; 2 (48): 53–63.
32. Парфенова Е.В., Цоколаева З.И., Трактюев Д.О. и др. Поиск новых «инструментов» для терапевтического ангиогенеза. *Молекулярная медицина*. 2006; 2: 10–23.
33. Шевченко Е.К., Макаревич П.И., Цоколаева З.И. и др. Эффективная трансдукция стромальных клеток жировой ткани человека с помощью рекомбинантного аденоассоциированного вируса. *Клет. транспл.* 2010; 1: 60–4.
34. Grieger JC, Samulski RJ. Adeno-associated virus as a gene therapy vector: vector development, production and clinical applications. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2005; 99: 119–45.
35. Monahan PE, Samulski RJ. Adeno-associated virus vectors for gene therapy: more pros than cons? *Mol Med Today*. 2000; 6 (11): 433–40.
36. Шевченко Е.К., Макаревич П.И., Цоколаева З.И. и др. Восстановление кровотока в ишемизированной конечности мышцы с помощью плазмидных конструкций и генетически модифицированных стромальных клеток жировой ткани. *Молекулярная медицина*. 2011.
37. Gounis MJ, Spiga MG, Grabam RM et al. Angiogenesis is confined to the transient period of VEGF expression that follows adenoviral gene delivery to ischemic muscle. *Gene Ther* 2005; 12 (9): 762–71.
38. Stabile E, Kinnaird T, La Sala A et al. CD8+ T lymphocytes regulate the arteriogenic response to ischemia by infiltrating the site of collateral vessel development and recruiting CD4+ mononuclear cells through the expression of interleukin-16. *Circulation* 2006; 113: 118–24.
39. Макаревич П.И., Шевелев А.Я., Рыбалкин И.Н. и др. Новые плазмидные конструкции, предназначенные для терапевтического ангиогенеза и несущие гены ангиогенных факторов роста – VEGF, HGF и ангиопоэтина-1. *Клет. транспл.* 2010; 1: 47–52.
40. Müller-Ehmsen J, Peterson KL, Kedes L et al. Rebuilding a damaged heart: long-term survival of transplanted neonatal rat cardiomyocytes after myocardial infarction and effect on cardiac function. *Circulation* 2002; 105 (14): 1720–6.
41. Pasza Z, Wang Y, Sheikh R et al. Preconditioning enhances cell survival and differentiation of stem cells during transplantation in infarcted myocardium. *Cardiovasc Res* 2008; 77 (1): 134–42.
42. Niagara MI, Haider HK, Jiang SM, Ashraf M. Pharmacologically preconditioned skeletal myoblasts are resistant to oxidative stress and promote angiomyogenesis via release of paracrine factors in the infarcted heart. *Circ Res* 2007; 100: 545–55.
43. Hu X, Yu SP, Fraser JL et al. Transplantation of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells improves infarcted heart function via enhanced survival of implanted cells and angiogenesis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135 (4): 799–808.
44. Suzuki K, Smolenski RT, Jayakumar J et al. Heat shock treatment enhances graft cell survival in skeletal myoblast transplantation to the heart. *Circulation* 2000; 102: III216–21.
45. Datta SR, Brunet A, Greenberg ME. Cellular survival: a play in three. *Acta Genes Dev* 1999; 13: 2905–27.
46. Mangi AA, Noiseux N, Kong D et al. Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts. *Nat Med* 2003; 9: 1195–201.
47. Gnecci M, He H, Liang OD et al. Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. *Nature Medicine* 2005; 11 (4): 367–8.
48. Shujia J, Haider HK, Idris NM et al. Stable therapeutic effects of mesenchymal stem cell-based multiple gene delivery for cardiac repair. *Cardiovasc Res* 2008; 77 (3): 525–33.
49. Meuillet EJ, Mabadevan D, Vankayalapati H et al. Specific inhibition of the Akt1 pleckstrin homology domain by D-3-deoxy-phosphatidyl-myo-inositol analogues. *Mol Cancer Ther* 2003; 2: 389–99.
50. Li W, Ma N, Ong LL et al. Bcl-2 engineered MSCs inhibited apoptosis and improved heart function. *Stem Cells* 2007; 25 (8): 2118–27.
51. Otterbein LE, Choi AM. Heme oxygenase: colors of defense against cellular stress. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279: L1029–37.
52. Tang YL, Zhao Q, Qin X et al. Paracrine action enhances the effects of autologous mesenchymal stem cell transplantation on vascular regeneration in rat model of myocardial infarction. *Ann Thorac Surg* 2005; 80: 229–36.
53. Lapidot T. Mechanism of human stem cell migration and repopulation of NOD/SCID and B2mull NOD/SCID mice. The role of SDF-1/CXCR4 interactions. *Ann NY Acad Sci* 2001; 938: 83–95.
54. Bhakta S, Hong P, Koc O. The surface adhesion molecule CXCR4 stimulates mesenchymal stem cell migration to stromal cell-derived factor-1 in vitro but does not decrease apoptosis under serum deprivation. *Cardiovasc Revasc Med* 2006; 7 (1): 19–24.
55. Zhang D, Fan GC, Zhou X et al. Over-expression of CXCR4 on mesenchymal stem cells augments myoangiogenesis in the infarcted myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 44 (2): 281–92.
56. Abraham MR, Henrikson CA, Tung L et al. Antiarrhythmic engineering of skeletal myoblasts for cardiac transplantation. *Circ Res* 2005; 97 (2): 159–67.
57. Menasché P. Skeletal myoblasts as a therapeutic agent. *Prog Cardiovasc Dis* 2007; 50 (1): 7–17.
58. Abraham MR, Henrikson CA, Tung L et al. Antiarrhythmic engineering of skeletal myoblasts for cardiac transplantation. *Circ Res* 2005; 97 (2): 159–67.
59. Mizuno H. Adipose-derived stem and stromal cells for cell-based therapy: current status of preclinical studies and clinical trials. *Curr Opin Mol Ther* 2010; 12 (4): 442–9.



# Календарь проведения научных мероприятий

## Calendar of Scientific Events

### Российские научные мероприятия 2011 г.

#### Май

18–20

II Международный конгресс «Кардиология на перекрестке наук» совместно с VI Международным симпозиумом по эхокардиографии и сосудистому ультразвуку и XVIII ежегодной научно-практической конференции «Актуальные вопросы кардиологии»

<http://www.infarkta.net>

Тюмень

#### Июнь

7–8

Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Новые возможности в диагностике, лечении и снижении смертности от сердечно-сосудистых заболеваний»

<http://www.cardioweb.ru>

Москва

#### Октябрь

11–13

Российский национальный конгресс кардиологов

<http://www.scardio.ru/congresses/russian0025B/default.asp>

Москва

### Международные научные мероприятия 2011 г.

#### Май

20–21

Европейский конгресс по неотложной кардиологической помощи

<http://www.cardiosource.org/Certified-Education/Courses-and-Conferences/2011/May-2011/ERCVCare.aspx>

Чикаго, США

27–28

Аритмии и сердечная недостаточность: новый взгляд и технологические достижения

<http://www.rhythmcongress.com>

Марсель, Франция

#### Июнь

17–20

XXI Европейский конгресс по гипертонии

<http://www.eshonline.org>

Милан, Италия

#### Июль

23–27

XVI Всемирный конгресс по заболеваниям сердца – ежегодная научная сессия

<http://www.cardiologyonline.com>

Ванкувер, Канада

#### Август

27–31

Европейский конгресс кардиологов 2011 г.

<http://www.sscardio.org>

Париж, Франция

#### Октябрь–ноябрь

7–8

Европейский саммит по атеротромбозу

<http://www.eurothrombosis-summit2011.org>

Порту, Португалия

23–26

IX Международный конгресс по заболеваниям коронарных артерий

<http://www2.kenes.com/icad2011/pages/home.aspx>

Венеция, Италия

30–1

VII Международная конференция по интенсивной кардиологии

<http://www.isas.co.il/cardiac-care2011>

Тель-Авив, Израиль

#### Декабрь

7–10

EUROECHO 2011

<http://www.escardio.org/congresses/euroecho2011>

Будапешт, Венгрия

# Календарь юбилейных дат истории кардиологии

## Научно-медицинские открытия

- 250 лет – открытие перкуссии (L.Auenrueger, 1761)  
100 лет – выделение первого витамина В<sub>1</sub> и введение термина «витамин» (С.Funk, 1911–1912)

## Выход в свет трудов

- 250 лет – «Inventum novum ex percussione thoracis humani ut signo abstrusus interni pectoris morbos detegendi» («Новый способ, как путем выстукивания грудной клетки человека обнаружить скрытые внутри грудной полости болезни», L.Auenrueger, 1761)  
100 лет – «Коллатеральное кровообращение» (В.А.Опель, 1911)  
75 лет – «Вопросы кардиологии» (Г.Ф.Ланг, 1961)

**19 января** – 125 лет со дня рождения Николая Александровича Куршакова (1886–1973 гг., род. в Кронштадте), российского терапевта, члена-корреспондента АМН СССР, заслуженного деятеля науки, лауреата Ленинской премии (1963 г.), полковника медицинской службы. В течение 10 лет (1925–1935 гг.) Н.А.Куршаков заведовал кафедрой внутренних болезней Воронежского университета (впоследствии медицинского института). С 1935 по 1943 гг. он возглавлял такую же клинику во Втором и Третьем Московских медицинских институтах.

Н.А.Куршаков исследовал заболевания сердечной мышцы, недостаточность кровообращения, изучал вопросы лечения кислородом. Результаты многолетних исследований изложены в его монографии «Нормальное и патологическое кровообращение». Перу Н.А.Куршакова принадлежит ряд других работ.

**6 июня** – 125 лет со дня рождения Пола Дадли Уайта (1886–1973 гг.), американского терапевта-кардиолога и общественного деятеля, президента Международного общества кардиологов (1954–1958 гг.), иностранного члена АМН СССР (1961 г.). П.Уайт внес вклад в изучение электрокардиографии, диагностику и лечение пороков сердца, эпидемиологию сердечно-сосудистых заболеваний и вопросов реабилитации в кардиологии. Описал электрокардиографический синдром преждевременного возбуждения желудочков – так называемый синдром Вольфа–Паркинсона–Уайта (1930 г.) и врожденный порок развития сосудов. Автор классических руководств «Болезни сердца» (1931, 1951 гг.) и «Ключи к диагностике и лечению болезней сердца» (1955 г.).

**17 июля** – 90 лет со дня рождения Алексея Петровича Голикова (1921 г., род. в г. Багайске Ростовской области), российского кардиолога, академика РАМН, заслуженного деятеля науки, лауреата Государственной премии (1991 г.). С 1971 г. А.П.Голиков возглавлял отделение острых терапевтических заболеваний и одновременно (с 1982 г.) отделение неотложной кардиологии Московского городского НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского. С 1971 г. – заведующий кафедрой терапии неотложных состояний Медицинского центра Управления делами Президента РФ.

Научные работы А.П.Голикова посвящены изучению липидного обмена с использованием меченого холестерина, циркадных и сезонных биоритмов при острых сердечно-сосудистых заболеваниях, стресса при неотложных состояниях в кардиологии. А.П.Голиков предложил классификацию гемодинамических нарушений при инфаркте миокарда, гипертонических кризах и др. Ряд его исследований посвящен методам медикаментозного и немедикаментозного обезболивания в неотложной кардиологии, способам прогнозирования и профилактики разрывов сердца и др. В.П.Голиков состоял председателем Всероссийского научного общества терапевтов.

**1 сентября** – 75 лет со дня рождения Александра Александровича Дзизинского (1936 г., род. в селе Волица Фастовского района Киевской области), российского терапевта, члена-корреспондента РАМН. В 1979–1988 гг. и с 2007 г. – возглавлял кафедру терапии и кардиологии

Иркутского института усовершенствования врачей, с 1988 г. занимал должность ректора этого института. Признанием заслуг А.А.Дзизинского в развитии науки и клинической медицины стало его избрание в 1994 г. членом-корреспондентом РАМН.

А.А.Дзизинский – член президиума ВСНЦ СО РАМН, член Европейского общества кардиологов, Межведомственного совета и проблемных комиссий «Терапия» и «Кардиология» СО РАМН СО РАМН и Минздрава РФ, член Межведомственного научного совета по сердечно-сосудистым заболеваниям РАМН и Минздрава РФ (№08), правления Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК), председатель Координационного совета по последипломному образованию Сибирского федерального округа, председатель Диссертационного совета института, руководитель областной государственной программы «Профилактика и лечение артериальной гипертензии в Иркутской области на 2002–2008 гг.», член коллегии Главного управления здравоохранения администрации Иркутской области, член Медицинского совета при губернаторе Иркутской области, председатель правления Ассоциации терапевтов Иркутской области, председатель аттестационной комиссии по терапии Главного управления здравоохранения.

**3 октября** – 80 лет со дня рождения Владимира Ивановича Маколкина (1931 г., род. в г. Саранске, Мордовия), российского терапевта, члена-корреспондента РАМН, заслуженного деятеля наук. В 1977–2004 гг. В.П.Маколкин руководил кафедрой внутренних болезней Первого Московского медицинского института (ныне Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова). Научные исследования посвящены различным областям клинической медицины.

Направления научной деятельности: интерес к различным областям клиники внутренних болезней, исследование электрической активности сердца, диагностика и лечение приобретенных пороков сердца. Долгое время В.И.Маколкин работал над проблемой функциональной патологии сердца. Им выдвинуто положение о «дисрегуляторно-метаболическом субстрате» функциональных болезней сердца.

На протяжении последних лет В.И.Маколкин занимается изучением проблемы артериальной гипертензии (некоторые звенья патогенеза начальных стадий заболевания), им внедрены новейшие методы диагностики (в частности, исследование микроциркуляции методом лазерной флоуметрии), разрабатывается патогенетически обоснованная тактика антигипертензивной терапии (фармакотерапия и нелекарственные методы). Под руководством В.И.Маколкина разрабатываются проблемы диагностики и лечения сердечной недостаточности, большое внимание уделяется изучению сопутствующей патологии внутренних органов.

**20 ноября** – 80 лет со дня рождения Евгения Евгеньевича Гогина (1926 г., род. в Ленинграде), российского терапевта, члена-корреспондента РАМН, участника Великой Отечественной войны, генерал-майора медицинской службы, заслуженного деятеля науки. В 1957–1975 гг. Е.Е.Гогин занимал должность заместителя начальника кафедры военно-морской и госпитальной терапии Военно-медицинской академии. В 1975–1988 гг. – главный терапевт Главного военного клинического госпиталя им. Н.Н.Бурденко. Одновременно в 1980–1988 гг. – заместитель начальника кафедры терапии военного факультета ЦИУ (ныне Российская академия последипломного медицинского образования). С 1988 г. – научный руководитель по терапии ЦКБ Медицинского центра Управления делами Президента РФ. Основные научные исследования посвящены проблемам артериальной гипертензии, перикардитов, инфекционного эндокардита, ряд работ – проблеме острых пневмоний. Е.Е.Гогин внес вклад в изучение острой лучевой болезни при сочетанном радиационном поражении.