

# Кардиологический Вестник

**БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО КАРДИОЛОГИЧЕСКОГО НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОГО КОМПЛЕКСА**



Том V (XVII)

№ 2

2010

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 •

---

№2

Том V (XVII)

2010

*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

### Передовая статья

**Ю.А.Карпов, Д.М.Аронов**

Кардиологическая реабилитация в России нуждается в коренной реорганизации

### Оригинальные статьи

**Ю.А.Шувалова, А.И.Каминный, А.Н.Мешков, Р.О.Широков, А.Н.Самко, В.В.Кухарчук**

Ассоциация полиморфизма Pro198Ileu гена Gpx-1 с риском развития рестеноза после коронарного стентирования

**Т.Н.Савушкина, Е.А.Табакьян, Т.В.Федорова, О.А.Васильева, С.П.Домогатский, М.Г.Лепилин**

Оценка применимости маркеров системного воспаления – интерлейкина-6, фактора некроза опухоли-α и С-реактивного белка – для прогнозирования острого повреждения почек при операциях на сердце

**А.Я.Шевелев, Н.М.Каширина, П.Н.Руткевич, М.М.Пекло, И.Н.Рыбалкин, Т.Х.Гурская, Е.В.Янушевская, М.А.Слинкин, Л.Н.Липатова, Т.И.Арефьева, Т.В.Кудряшова, Н.В.Радюхина, Т.Н.Власик**

РНК-интерференция: система тестирования эффективности мишеней

**С.Н.Павличенко, Э.В.Кудрявцева, Н.Е.Арзамасцева, Е.В.Арзамасцев**

Особенности фармакологического и токсического действия β-адреноблокаторов при экспериментальном стрептозоциновом сахарном диабете

**В.Л.Лакомкин, Ц.Р.Орлова, С.В.Лакомкин, В.И.Капелько**

Модифицированный нейропептид FF в терапии геморрагического шока

**Ю.А.Карпов, И.Е.Чазова, А.В.Вигдорчик, А.Ю.Зазулина от лица исследовательской группы**

Эффективность и безопасность фиксированной комбинации амлодипина и вальсартана в лечении артериальной гипертензии в условиях реальной клинической практики: результаты Российского наблюдательного исследования ЭКСТРА-2

### К 65-летию РКНПК

**В.П.Масенко, К.А.Зыков**

Клиническая иммунология в Российском кардиологическом научно-производственном комплексе

### Лекции

**В.Е.Синицын**

Современная роль компьютерно-томографической ангиографии в диагностике коронарного атеросклероза и ишемической болезни сердца

**Р.С.Акчурун, С.В.Кузина, М.Р.Османов, Т.Э.Имаев**

Новое в хирургической коррекции критических стенозов аортального клапана у больных с высоким операционным риском

**А.Ю.Литвин, Р.В.Бузунов, И.В.Легида, И.Е.Чазова**

Современные подходы к лечению больных с синдромом обструктивного апноэ во время сна

### Обзоры

**С.Н.Терещенко, И.В.Жиров, В.П.Масенко, Т.Г.Куликова, Т.В.Горюнова, В.В.Середович**

Рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом, и кардиоваскулярная патология: связь с гипертрофией миокарда и синдромом ишемии-реперфузии

**В.Б.Сергиенко, А.А.Аншелес**

Молекулярные изображения в оценке атеросклероза и перфузии миокарда

**А.В.Максименко**

Хиральность кардиологических препаратов: миф или реальность

### Описание редких клинических наблюдений

**О.О.Шахматова, Ю.Ю.Курбатова, Т.В.Попкова, Д.С.Новикова, П.С.Лагута, И.В.Левитский, Е.П.Панченко, Ю.А.Карпов**

Клинический случай: инфаркт миокарда у пациентки 32 лет, страдающей дерматомиозитом

### Календарь проведения научных мероприятий

## Contents

### Editorial

5 **Yu.A. Karpov, D.M. Aronov**

Cardiological rehabilitation in Russia needs to be radically reorganized

### Original articles

11 **Yu.A. Shuvalova, A.I. Kamimnyi, A.N. Meshkov, R.O. Sbirokov, A.N. Samko, V.V. Kukbarcbuk**

Association of the Pro198Ileu polymorphism in the Gpx-1 gene with a risk for restenosis after coronary stenting

16 **T.N. Savushkina, E.A. Tabakyan, T.V. Fedorova, O.A. Vasilyeva, S.P. Domogatsky, M.G. Lepilin**

Assessment of the applicability of the systemic inflammation markers IL-6, TNF-α, C-reactive protein in the prediction of acute kidney injury during heart surgery

22 **A.Y. Shevelev, N.M. Kashirina, P.N. Rutkevich, M.M. Peklo, I.N. Rybalkin, T.Ch. Gurskaya, E.V. Yanushevskaya, M.A. Slinkin, L.N. Lipatova, T.I. Arefeva, T.V. Kudriashova, N.V. Radyukhina, T.N. Vlasik**

RNA interference: a system for testing the efficiency of targets

31 **S.N. Pavlichenko, E.V. Kudryavtseva, N.E. Arzamastseva, E.V. Arzamastsev**

The pharmacological and toxic effects of β-adrenoblockers in streptozocin-induced experimental diabetes mellitus

36 **V.L. Lakomkin, Ts.R. Orlova, S.V. Lakomkin, V.I. Kapelko**

Modified neuropeptide FF in therapy for hemorrhagic stroke

39 **Y.A. Karpov, I.E. Chazova, A.V. Vigdorcbik, A.Y. Zazulina on behalf of research group**

Efficacy and safety of amlodipine and valsartan single pill combination in treatment of arterial hypertension in real life practice: results of the Russian observational study EXTRA-2

### On the occasion of the 65<sup>th</sup> anniversary of the RCRPC

47 **V.P. Masenko, K.A. Zykov**

Clinical immunology at the Russian Cardiology Research-and-Production Complex

### Lectures

53 **V.E. Sinitsyn**

Modern role of computed tomographic angiography in diagnosis of coronary atherosclerosis and ischemic heart disease

58 **R.S. Akchurin, S.V. Kuzina, M.R. Osmanov, T.E. Imayev**

Novelty in the surgical correction of critical aortic valve stenoses in high-surgical-risk patients

62 **A.Yu. Litvin, R.V. Buzunov, I.V. Legeida, I.E. Chazova**

Current approaches to treating patients with obstructive sleep apnea syndrome:

### Reviews

70 **S.N. Tereshchenko, I.V. Zhiron, V.P. Masenko, T.G. Kulikova, T.V. Goryunova, V.V. Seredovich**

Peroxisome proliferator-activated receptors and cardiovascular pathology: an association with myocardial hypertrophy and ischemia-reperfusion syndrome

76 **V.B. Sergienko, A.A. Ansheles**

Molecular imaging in atherosclerosis and myocardial perfusion assessment

83 **A.V. Maksimenko**

Cardio meds chirality: myth or reality

### Description of rare clinical cases

87 **O.O. Shakhmatova, Yu.Yu. Kurbatova, T.V. Popkova, D.S. Novikova, P.S. Laguta, I.V. Levitsky, E.P. Panchenko, Yu.A. Karpov**

Clinical case: Myocardial infarction in a 32-year-old female patient with dermatomyositis

### Calendar of Scientific Measures

Ю.А.Карпов<sup>1</sup>, Д.М.Аронов<sup>2</sup>

## Кардиологическая реабилитация в России нуждается в коренной реорганизации

<sup>1</sup>ФГУ РКНПК Росмедтехнологий;

<sup>2</sup>ФГУ ГНИЦ ПМ Росмедтехнологий

*Yu.A. Karpov<sup>1</sup>, D.M. Aronov<sup>2</sup>*

### **Cardiological rehabilitation in Russia needs to be radically reorganized**

<sup>1</sup>*Russian Cardiology Research-and-Production Complex, Russian Agency of Medical Technologies;*

<sup>2</sup>*State Research Center of Preventive Medicine, Russian Agency of Medical Technologies*

#### **Сведения об авторах:**

Карпов Юрий Александрович – д-р мед. наук, проф., рук. отд. ангиологии, дир. НИИ клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГУ РКНПК Росмедтехнологий, тел.: (495) 414-68-46  
(yuri\_karpov@inbox.ru)

Аронов Давид Меерович – д-р мед. наук, проф., рук. лаб. профилактики сочетанной патологии ФГУ ГНИЦ ПМ Росмедтехнологий, тел.: (495) 623-59-17

Одним из серьезных достижений советской кардиологии 70–80-х годов XX в. было быстрое развитие и внедрение в клиническую практику государственной системы поэтапной реабилитации больных с острым инфарктом миокарда (ОИМ) и немногочисленной в те годы когорты больных, перенесших операции на сердце. Реабилитацию проводили по схеме: стационар–санаторий–диспансерно-поликлиническое отделение [1].

Сущностная новизна поэтапной реабилитации заключалась в том, что ведение больных с ОИМ менялось коренным образом. До 70-х годов прошлого века традиционная тактика ведения больных целиком основывалась на принципе обеспечения максимального покоя, фактически – обездвиживания больных. Они были вынуждены пребывать на постельном режиме более 40 дней, из них не менее 3 нед на строгом – без разрешения поворачиваться и присаживаться в кровати [2].

Самые начальные упражнения лечебной гимнастики назначали не ранее чем через 21 день от начала болезни. Общая длительность пребывания больного в стационаре превышала 70 дней. Понятно, что такое положение вступало в резкое противоречие с бурно развивавшейся новой системой оказания медицинской помощи при ОИМ. Была создана служба кардиологической скорой помощи с обязательной госпитализацией больных с ОИМ в блоки интенсивной терапии кардиологических отделений. Применялись совершенно новые лекарственные средства, среди которых наиболее значимыми были тромболитические препараты; появилась возможность длительного мониторингования основных жизненных функций организма [3, 4].

Внедренная по инициативе экспертов ВОЗ в практику многих стран тактика ранней активизации больных с ОИМ быстро и энергично стала применяться и в СССР – сначала в ряде ведущих кардиологических клиник под общим руководством Института кардиологии АМН СССР (дир. – Е.И. Чазов), а далее – повсеместно в стране. По новой тактике веде-

ния больные с ОИМ активизировались еще в блоке интенсивной терапии. Соответственно все последующие этапы активизации также осуществлялись намного раньше (см. таблицу) [5].

Суть ранней активизации заключалась в том, что она предотвращала тяжелые соматические последствия длительной гипокинезии. Опасность гипокинезии стала восприниматься медицинской общественностью особенно остро после серии экспериментальных и клинических исследований с гипо- и акинезией в связи с радужными надеждами на предстоящие межпланетные полеты. Осуществившись эта мечта, космонавтам пришлось бы пребывать в стесненных условиях космического корабля многие месяцы и даже годы. Но результаты исследований поразили ученых. Оказалось, что 3-недельное пребывание здоровых молодых людей на строгом постельном режиме сопровождается многочисленными нарушениями функций различных органов и систем, особенно системы гемокоагуляции [6]. Так, развитие космической медицины серьезно повлияло на врачебную практику. Ранняя активизация больных с ОИМ не только значительно облегчала их жизнь (кстати, и деятельность медицинского персонала, которому было трудно удержать больных от неразрешенных движений). У рано активизированных больных с ОИМ течение ишемической болезни сердца (ИБС) при наблюдении в течение 2 лет было более благоприятным, а количество различных осложнений оказалось значительно меньше, чем при консервативной тактике [2]. Особенно важно было то, что наиболее успешным был ближайший прогноз (первые 3 мес болезни). Это позволяло продолжить тактику активизации и расширения двигательной активности больных вплоть до их перевода в специально организованные отделения реабилитации в местных кардиологических санаториях.

В Институте кардиологии АМН СССР для поэтапной реабилитации стационар–санаторий была разработана система двигательной активности, состоящая из 7 ступеней с подступенями [7].

Сроки активизации больных ИМ при консервативной и быстрой активизации [5]

Активизация	Сроки активизации, дни		
	активные повороты	присаживание	ходьба в палате
Медленная (применялась до 1968 г.)	23,9±0,7	34,0±1,1	45,2±1,8
Быстрая	1,5±0,1	10,5±0,6	18,1±1,1

Переход от одной ступени (и даже от одной подступени к следующей) осуществлялся с соблюдением конкретных критериев расширения режима. На стационарном этапе I ступень соответствовала пребыванию больного на строгом постельном режиме, II – палатному режиму, III – выходу в коридор, а на IV ступени больного подготавливали к переводу в отделение реабилитации местного санатория прямо с больничной койки. На этом этапе двигательной активности больного на территории больницы обучали ходьбе с постепенным увеличением ее дистанции до 1,5–2 км в 2–3 приема, подъему на 1–2 этажа. Больной уже полностью был способен на самообслуживание. Все это давало ему возможность быть переведенным в отделение реабилитации санатория, где он мог воспользоваться санаторными возможностями для постепенной и полноценной реабилитации (утренняя и вечерняя лечебная гимнастика, дозированная ходьба по дорожкам, тренировки в зале лечебной физкультуры – ЛФК и др.). Следует отметить, что в санаториях различные корпусы были на расстоянии 100–200 м и более друг от друга. Совершая по необходимости переходы от одного корпуса к другому (к лечебному, спортзалу, физиотерапевтическому, в столовую), больной должен был проходить в течение дня до 2 км. Министерство здравоохранения СССР в соответствии с этими особенностями строго регламентировало критерии физической подготовленности больного к пребыванию в условиях санатория. Достижение больными IV больничной ступени двигательной активности было абсолютно необходимым условием эффективной реабилитации больных в санаторных отделениях реабилитации.

В самом санатории больные осваивали V (начальную санаторную), VI (промежуточную) и VII (заключительную) ступени двигательной активности. На последней ступени больной, перенесший ОИМ, по своим физическим возможностям соответствовал практически здоровому нетренированному человеку соответствующего пола и возраста.

Существовала эффективная система контроля за каждым этапом реабилитации (кроме диспансерно-поликлинического, которого практически не было). Особенно контролировались критерии правильной подготовки больных с ОИМ в стационаре и правильный прием больных на санаторный этап. Существовал базовый санаторий («Подлипки», Московская область), который тесно сотрудничал с Всероссийским кардиологическим научным центром АМН СССР (ВКНЦ АМН СССР). Он являлся не только важным методическим центром по реабилитации. ВКНЦ АМН СССР вместе с Центральным управлением курортами профсоюзов, которое имело в своем подчинении учебное заведение, а также санаторий «Подлипки», обеспечивали повышение квалификации по различным аспектам кардиологии. Для этого привлекались также высококвалифицированные спе-

циалисты Центрального института курортологии.

Результаты работы по реабилитации с использованием санаторных отделений реабилитации были превосходны.

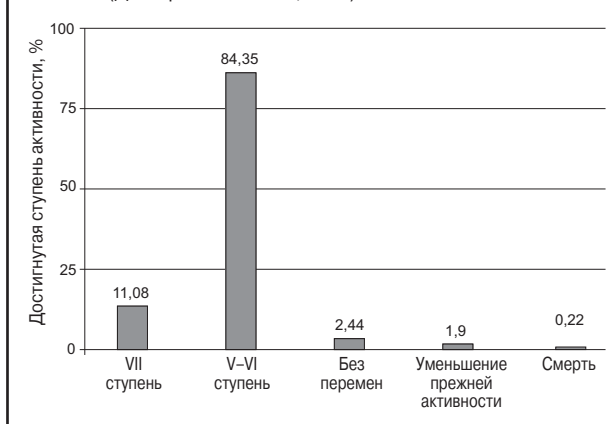
Как видно из рис. 1 при санаторной реабилитации 12 273 больных, перенесших ОИМ, высшая VII ступень двигательной активности достигнута у 11,08%, V–VI – у 84,3%, без перемен она осталась у 24,4% больных, снижение активности наблюдалось у 1,9%, а смерть наступила у 0,22% [7]. Эти показатели свидетельствуют о том, что на всех этапах специальную подготовку больных в стационаре и санатории осуществляли правильно, с соблюдением существовавших установок.

Еще более важны результаты другого исследования. Л.Ф.Николаева и соавт. [8] организовали общесоюзное кооперативное рандомизированное исследование по изучению отдаленной эффективности поэтапной реабилитации больных с ОИМ. В исследование были включены 1296 больных. Как видно из рис. 2 у больных основной группы в течение 1 года наблюдения серьезные клинические проявления ИБС (стенокардия покоя, хроническая сердечная недостаточность, аритмии, повторный инфаркт миокарда – ИМ, необходимость в госпитализации в связи с обострением ИБС) отмечены достоверно реже, чем в контрольной группе. Неосложненное течение болезни наблюдали у 19 и 12% больных ( $p < 0,002$ ) соответственно в основной и контрольной группах.

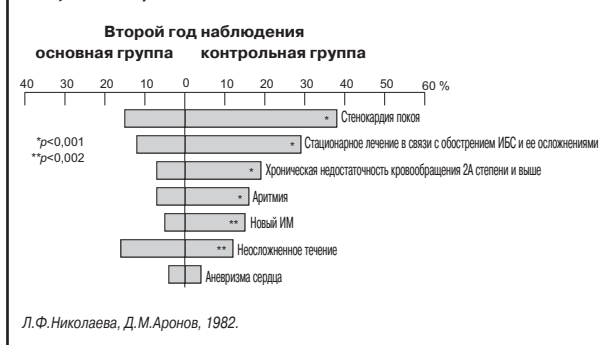
В реабилитационном тандеме стационар–санаторий трудно отдать первостепенную роль одному из объектов этой пары. В любом случае значимость стационарного этапа реабилитации была известна. А использование санаториев в качестве второго этапа реабилитации – это совершенно новое явление, присущее советской медицине. Государство пестовало санаторно-курортную отрасль медицины. Но Россия в 90-е годы XX в. вступила в полосу социально-экономических и политических потрясений. Медицинская наука и здравоохранение в целом серьезно пострадали. Особенно сильный урон понесла кардиологическая реабилитация.

Несмотря на то что в настоящее время подавляющее большинство наших больных с ОИМ не получают тромболитической терапии и не подвергаются первичной ангиопластике, усиливается тенденция к сокращению сроков до выписки больных с ОИМ домой или перевода их в отделение реабилитации. При этом больные осваивают II, реже – III ступень двигательной активности (ходьба по палате, выход в коридор). В результате совершенно не готовы к условиям санатория больные переводятся в отделение реабилитации санаториев, где они фактически просто находятся на полупостельном режиме, достигая к концу пребывания в санатории IV (последней больничной) и реже V (первой санаторной) ступени активности. В результате нарушения условий прие-

**Рис. 1. Эффективность санаторной реабилитации больных, перенесших ОИМ (n=12 273):** по вертикальной оси – % лиц, достигших к выписке различные ступени двигательной активности (Д.М.Аронов и соавт., 1983).



**Рис. 2. Эффективность государственной системы поэтапной реабилитации больных ИМ (кооперативное исследование; n=1296).**



ма в отделения реабилитации больных с ОИМ, установленных ранее, выросло число серьезных осложнений и летальных случаев в санаториях [9].

Добавим несколько деталей, касающихся реабилитации кардиальных больных в санаториях.

По данным санаторно-курортного объединения «Профкурорт», в 1991 г. в стране существовало 62 санатория с кардиологическими реабилитационными отделениями на 2765 коек. В 1995 г. число таких санаториев сократилось до 38, а количество коек в них – до 1711. Число предоставленных путевок в реабилитационные отделения сократилось со 110 тыс. в 1991 г. до 28,5 тыс. в 1999 г. И это притом, что в 1999 г. из стационаров были выписаны 238 836 больных с ИМ [10]. Точное число санаториев, осуществляющих реабилитацию больных с ИМ, в последние годы не известно. Предположительно их не более 20. Наряду с многократным уменьшением числа коек в реабилитационных отделениях санаториев отмечается значительное ухудшение качества их работы. В основном это связано с нарушением всех критериев подготовки больных в стационарах к переводу в санатории и правил приема в санатории больных, перенесших ОИМ. В 2008 г. в один из лучших и известных санаториев 55–70% тематических больных поступали на III ступени двигательной активности. Это означает, что они не были подготовлены к санаторной реабилитации. Соответственно после 24 дней, проведенных в санатории, ни один из этих больных не достиг VII ступени двигательной активности. VI ступени достигли лишь 7,1% больных; 50% освоили V ступень

двигательной активности, т.е. самую начальную для санаторного лечения, а 38,8% достигли лишь IV ступени (последнюю стационарную степень активности), у 4,3% двигательная активность осталась ниже IV ступени [9]. Если сравнить эти показатели с результатами санаторной реабилитации 1983 г. (см. рис. 1), становится печально. Налицо явная деградация стационарно-санаторной реабилитации кардиальных больных. Ее причина – отсутствие в стационарах элементарной работы с пациентами по их больничной реабилитации, а в санаторных отделениях – прием больных с двигательной активностью ниже IV ступени и вследствие этого превращение санатория в дорогостоящее отделение долечивания с несовершенной системой медикаментозной терапии и без возможности применения санаторного потенциала для реабилитации.

К этой беде прибавляется еще одна – усиливающаяся потребность в более быстром обороте коек в кардиологических и кардиохирургических отделениях, особенно в последние годы в связи с нарастающим ростом инвазивных и хирургических вмешательств на сосудах сердца при ИБС [11]. В странах Запада уже давно больных через 4–7 дней после ОИМ и операций на сердце выписывают домой или в центры кардиореабилитации без всякого опасения за их судьбу [12, 13]. Как правило, больные с ОИМ получают эффективную реперфузионную терапию [13]. Приверженность больных, особенно в США, назначенным предписаниям и лечению очень высока. Кроме того, они остаются под наблюдением не только своего врача, но и центра реабилитации с его разнообразными программами. Следует добавить, что семейный доктор крайне заинтересован в том, чтобы его больной обязательно прошел программы реабилитации. Благо, центров реабилитации недалеко от места жительства больного достаточно. Например, в некоторых штатах США в радиусе 50 миль от дома таких больных функционируют 75 центров реабилитации [14].

Выступая на II Всероссийском форуме, посвященном проблемам медицинской реабилитации, акад. Е.И.Чазов выразил всю горечь «...ученых, врачей, организаторов здравоохранения во всех регионах страны», создавших прекрасную санаторно-курортную систему, которую «...90-е годы XX века разрушили». Он напомнил, что в начале 80-х годов в Российской Федерации функционировало 1236 санаториев (около 280 тыс. мест), 1756 санаториев-профилакториев (около 140 тыс. мест). Далее Е.И.Чазов сказал, что «...в большинстве регионов функционировала система реабилитационных санаториев с бесплатным пребыванием больных после перенесенного инфаркта миокарда и операций на сердце, которая позволила вернуть 81,8% из них к прежнему труду, тогда как в 1964 г. только 26% таких больных могли вернуться к труду».

В связи с создавшейся в последние десятилетия нелепой ситуацией с вытеснением четкого недвусмысленного принятого ВОЗ и всеми странами мира понятия «реабилитация» безликим или, вернее, очень многоликим термином «восстановительная медицина», Е.И.Чазов продолжил: «Прежде всего, конечно, надо определиться, что мы подразумеваем под названием "реабилитация". Я вспоминаю дискуссию по этому вопросу, как ни

странно, в научно-редакционном совете "Советская энциклопедия". Составители единственного в мире энциклопедического словаря "Курорты", изданного в 1983 г., учитывая, что его материалы касаются не только Советского Союза, но и большинства стран нашей планеты, представили понятие "реабилитация" со стандартных иностранных справочников как восстановление трудоспособности, достигаемое различными методами лечения.

Подняв весь материал, касающийся этой проблемы, начиная с 1923 г., когда по предложению Н.А.Семашко в Наркомздраве было создано Главное курортное управление, мы убедились, что реабилитация – больше, чем просто восстановление трудоспособности. Основная задача реабилитации – восстановление качества жизни. Именно эта цель подчеркивалась в официальном определении реабилитации больных как система государственных, медицинских, социально-экономических, психологических и других мер, которые проводятся с целью наиболее полного восстановления их здоровья и возвращения к активной жизни и общественно полезному труду».

Не обошел Е.И.Чазов стороной и вопрос о роли государства в функционировании в России санаторно-курортной системы: «Значимость "государственности" особенно ярко проявилась в период разрушения санаторно-курортной и реабилитационной системы в 90-е годы. В конце 80-х годов мы убеждали руководство страны в необходимости передачи санаторно-курортных учреждений под контроль и методическое руководство Министерства здравоохранения, понимая, что в складывающейся социально-экономической и политической ситуации профсоюзы и предприятия не смогут сохранить эти учреждения как одно из важнейших звеньев в системе профилактики и реабилитации. По нашим предложениям, они должны были функционировать по принципам, которые сегодня определяют как государственные автономные предприятия. К сожалению, наши предложения были отвергнуты как законодательной, так и исполнительной властью, и вы прекрасно знаете, к чему это привело, особенно в регионах» [15].

В свете сказанного фактически нам предстоит не просто реорганизовать кардиореабилитацию, а создать ее вновь в современном, более эффективном виде. При этом возможны следующие варианты.

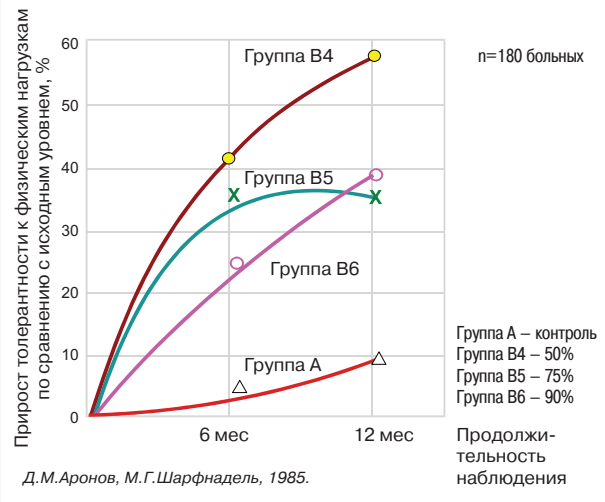
**Первый вариант.** Он классический, принятый всеми экономически развитыми странами. Суть этого варианта заключается в создании в городах (по месту жительства больных) специальных центров кардиореабилитации, имеющих **стационарный** и **диспансерный отделы**. Это не больницы в классическом понимании, а узконаправленные медицинские учреждения для оказания специализированной помощи в стационарном отделении реабилитационного центра как на самых ранних этапах реабилитации (через 6–7 дней от начала ОИМ или после аортокоронарного шунтирования – АКШ), так и в фазе выздоровления в пределах 2–3 мес болезни в амбулаторных условиях. Этот вариант самый оптимальный для реабилитации.

По этой версии больной 1-ю неделю от начала ОИМ, острого коронарного синдрома или после

Рис. 3. Компьютеризованная тренажерная система «Эргосана» позволяет одновременно контролировать 16 больных.



Рис. 4. Сравнительная эффективность трех тренировочных программ с разной интенсивностью тренирующей нагрузки на велоэргометре.



кардиохирургической операции проводит в кардиологическом или кардиохирургическом отделениях. Далее он переводится в **стационарный отдел центра кардиореабилитации**, где до конца 1-го месяца от начала заболевания или после операции он проходит программу **госпитального этапа** реабилитации. Последующие 2–3 мес (**фаза реконвалесценции** или **выздоровления, по определению ВОЗ**) он может провести:

- либо в санаторном отделении реабилитации (24 дня), а далее в поликлинике по месту жительства, или еще лучше
- в диспансерном отделе центра кардиореабилитации.

За указанное время больной с хорошим эффектом может завершить период временной нетрудоспособности и вернуться к труду с ограничениями или без них. В некоторых случаях этот период может затянуться до 4 мес или более.

После завершения программ II фазы наступает поддерживающий этап реабилитации (по определению ВОЗ). Он длится всю оставшуюся жизнь больного и имеет целью продлить эту оставшуюся часть жизни как можно дольше. Достигается это с помощью средств и методов комплексной

вторичной профилактики как естественного компонента продолжающейся реабилитации (недавно этот этап называется поддерживающим).

В поликлинических условиях России в настоящее время этот этап не может быть осуществлен из-за полного отсутствия соответствующих условий (специалистов по кардиореабилитации, психотерапии, ЛФК и физическим тренировкам, а также материальной и технической базы: тренажеров, пешеходных дорожек для дозированной ходьбы, больших залов для тренировок, бассейнов и т.д.).

Поликлинические (участковые) врачи по существующему положению занимаются только назначением лекарственных средств. Эффективность этого лечения, к сожалению, крайне низкая. Это установлено по результатам многих эпидемиологических и опросных методов исследования [16–18]. Убийственным свидетельством неэффективности лечения в поликлиниках выступает сохраняющаяся сверхсмертность от ИБС. Участковый доктор вместе с консультантом-кардиологом не в состоянии проводить занятия по программе «Школа для больных после ОИМ», назначать и контролировать тренировочные программы в домашних условиях, заниматься психокоррекцией, модификацией факторов риска. Все эти задачи входят в функции **диспансерного отдела центров кардиореабилитации**, которых, к сожалению, до сих пор у нас не существует. Конечно, **постепенное создание современных центров реабилитации с диспансерным отделом явилось бы лучшим вариантом восстановления и сохранения здоровья наших больных на хорошем уровне в течение неопределенно долгого времени.**

При таком варианте сохранится также и роль существующих отделений реабилитации в санаториях, но уже туда будут поступать вполне готовые к дальнейшей, более сложной реабилитации больные.

Положительный результат этого варианта – полноценная, без опасностей для больных реабилитация и лечение в первые месяцы после возникновения ОИМ (опасность летальных исходов и серьезных осложнений в эти 2 мес в 2–3 раза выше, чем в последующие 10 мес первого года болезни).

**Второй вариант** – временный, параллельный первому. Это – организация специальных **отделений для долечивания больных после ОИМ, острого коронарного синдрома и хирургических вмешательств на сердце.** Имеется в виду, что уже через 5–7 дней все больные будут переведены в **специально перепрофилированные отделения долечивания городских больниц.** После пребывания в этих больницах в течение 3 нед (8–30-й день болезни) больные могут быть переведены в санаторные отделения реабилитации и провести там 24 дня, используя без проблем все санаторные реабилитационные возможности. Эти отделения легко могут быть созданы путем перепрофилирования коечного фонда по решению местных органов здравоохранения. Для их создания, кроме соответствующего коечного фонда больницы, их врачей и добавления специалистов по ЛФК, психотерапии, не потребуются дополнительных затрат. В помощь работающим в этих отделениях будет достаточно подготовить соответствующее методическое пособие.

Положительные стороны варианта – больные будут под квалифицированным медицинским контролем в течение первого (самого опасного для них) месяца болезни. При переводе в санаторий никаких проблем не предвидится. Освоение санаторных возможностей для реабилитации будет эффективным.

Эти **отделения долечивания** не смогут оказывать современную реабилитационную помощь в полном объеме, но при наличии специалистов по ЛФК больные могут более или менее правильно активизироваться и, возможно, участвовать в занятиях «Школы для больных». Их медицинская судьба будет лучше, чем у больных, выписываемых домой или переводимых в санаторные отделения реабилитации без соответствующей подготовки.

Следует помнить, что из этой когорты больных путевку в санаторий может получить лишь каждый четвертый или пятый больной. Таким образом, для более полного охвата санаторной реабилитацией больных, перенесших ОИМ, **необходимо расширить сеть санаторных отделений реабилитации** независимо от того, какой из вариантов реорганизации системы кардиореабилитации будет приемлем.

**Третий вариант** – вернуться к прежнему опыту и содержать больных в кардиологическом стационаре в течение полных 3–4 нед и после этого срока переводить их в санаторное отделение реабилитации, как это было в советские годы. Это дает возможность подготовить больных в стационаре для перевода их в оптимальные сроки в санаторные отделения реабилитации (на IV ступень двигательной активности). Подготовленные больные смогут эффективно проходить санаторную реабилитацию и вскоре вернуться к трудовой деятельности. Недостатки – увеличение числа койко-дней при ОИМ и неэффективность оборота койки в больнице.

При всех вариантах развития событий Министерство здравоохранения и социального развития РФ должно навести порядок в организации реабилитационной помощи в кардиологических стационарах, укрепив их недостающими кадрами специалистов (врач ЛФК, инструктор-методист ЛФК, психотерапевт), восстановив существовавшие прежде правила приема больных в реабилитационные отделения санаториев.

Реабилитационные мероприятия на **поддерживающем этапе** состоят из:

- обучения больных в «Школах для больных ОИМ и их родственников»;
- программы контролируемых физических тренировок, а в дальнейшем самостоятельных домашних тренировок;
- программы психологической помощи и коррекции психологических расстройств;
- модификации факторов риска;
- трудовой экспертизы и рационального трудоустройства;
- социальной консультации и при необходимости – социальной помощи [19].

Наиболее важную роль среди этих программ играет программа длительных физических тренировок.

Она буквально меняет судьбу кардиальных больных. Накопленный разносторонний материал по изучению влияния физических тренировок на эндотелиальную функцию, атерогенез, кардио-



пульмональную систему в целом, эффективность тканевого дыхания и на другие органы и системы организма позволяет заключить, что физические тренировки того уровня и интенсивности, которые стали общепринятыми в кардиореабилитации, являются **самостоятельным лечебным методом, позволяющим решать стратегические задачи лечения и профилактики ИБС, снижать общую и сердечно-сосудистую смертность, улучшать течение ИБС.**

Метаанализы по изучению влияния программ физических тренировок на общую и кардиальную смертность позволили установить, что физические тренировки достоверно и существенно снижают общую (на 20%) и кардиальную (на 26%) смертность [20]. Причем прежние метаанализы (в дореперфузионный период) по применению физических тренировок практически давали такие же данные. Напомним, что если комплексная система реабилитации снижала смертность на 26%, то на долю физических тренировок приходилось 20% [21]. Новейшие рандомизированные исследования позволили установить, что после успешного стентирования пораженных венечных артерий проведение программы тренировок (по сравнению с их отсутствием в аналогичной группе больных) существенно улучшает прогноз, течение болезни и снижает общие затраты на ведение больных [22]. Сравнение эффекта одногодичных тренировок больных со стенозом хотя бы одной венечной артерии **по сравнению со стентированием венечных артерий в контрольной группе** дает положительный эффект, не уступающий клиническим эффектам стентирования [23].

Эти удивительные данные становятся легко объяснимыми, если учесть, что физические тренировки существенно влияют на атерогенез. В частности, они повышают уровень холестерина липопротеидов высокой плотности, снижают уровень триглицеридов, достоверно улучшают коэффициент атерогенности. По данным повторной коронарографии, через 1 год от начала тренировок торможение венечного атеросклероза наблюдалось у 80% тренировавшихся по сравнению с 60% у лиц контрольной группы ( $p < 0,001$ ). Реверсия атероматоза была обнаружена у 36% первых и у 4% вторых больных [24]. Подобные результаты получены также при коронарной ангиографии, произведенной через 6 лет [25].

Хорошо известен факт весьма успешного повышения физической работоспособности больных с ИБС в результате длительных тренировок. При этом происходит значительное увеличение длительности физической нагрузки при нагрузочной ЭКГ-пробе, повышение мощности и объема выполненной работы. Установлено, что затраты энергии и потребление кислорода при выполнении единицы работы после тренировок снижаются, а максимальное потребление  $O_2$  и величина кислородного пульса (потребление  $O_2$  за 1 сердечное сокращение) достоверно увеличиваются [26].

В последние годы значительно улучшились технические условия организации и выполнения программ физических тренировок. В прошлом столетии тренировки больных с ИБС были подобны кустарному производству. В настоящее время широко применяются компьютеризированные системы тренажеров, соединенных в еди-

ную сеть и позволяющих автономно следить за ЭКГ, частотой сердечных сокращений и при желании – за рядом других характеристик организма при тренировке. Применение подобных комплексов помогает превратить тренировки в высокотехнологичный процесс с несопоставимо более высокой производственной эффективностью (рис. 4). При этом надежность и оперативные возможности наблюдения за каждым больным неизмеримо возрастают. Такие реабилитационные программы очень широко используют центры реабилитации во всех странах Западной Европы, в Израиле, Японии, Австралии.

Для составления безопасных и в то же время эффективных программ физических тренировок у одинаковых групп больных, перенесших ИМ, применяли в течение 1 года контролируемые тренировки, равные 50%, 75% и 90% от индивидуальной толерантности больного к физической нагрузке (см. рис. 4). Выяснилось, что все 3 программы оказывали вполне благоприятный эффект на физическую работоспособность и перфузию миокарда и уменьшали его ишемию. Однако при применении тренировок с умеренной тренирующей нагрузкой (50% от пороговой) благоприятный эффект достигался при отсутствии каких-либо осложнений и в более короткие сроки [26]. Этот факт чрезвычайно важен. Тренировки с 50% тренирующими нагрузками абсолютно безопасны, легко выполнимы самыми разнообразными группами больных, высокоэффективны. Это значительно упрощает процесс реабилитации, позволяя свести к минимуму противопоказания к ней. Тренировки умеренной интенсивности стали общепринятыми в мире [27].

#### Литература

1. Чазов Е.И. Общие принципы реабилитации больных инфарктом миокарда. В кн.: *Реабилитация и восстановление трудоспособности больных хронической коронарной недостаточностью*. М.: Медицина, 1970.
2. Шхвацабая И.К., Аронов Д.М., Зайцев В.П. *Реабилитация больных ишемической болезнью сердца*. М.: Медицина, 1978.
3. Чазов Е.И. *Очерки неотложной кардиологии*. М.: Медицина, 1973.
4. Чазов Е.И. Проблемы борьбы с сердечно-сосудистыми заболеваниями. *Кардиология*. 1973; 2: 5–10.
5. Ахрем-Ахремович Р.М., Аронов Д.М. и др. *Реабилитация больных инфарктом миокарда. Труды II Всесоюзного съезда кардиологов*. 1973; 1: 331–3.
6. Чазов Е.И., Ананченко В.Г. *Состояние противосвертывающих механизмов в условиях длительных гипокинезий*. В кн.: *Авиационная и космическая медицина*. М.: Медицина, 1963.
7. Аронов Д.М., Николаева Л.Ф., Полтаранов В.В. и др. *Результаты санаторной реабилитации больных инфарктом миокарда*. *Тер. арх.* 1983; 1: 33–8.
8. Николаева Л.Ф., Аронов Д.М., Карпова Т.Д. и др. *Медицинская и социально-экономическая эффективность действующей в СССР государственной системы реабилитации больных инфарктом миокарда (кооперативное исследование)*. *Тер. арх.* 1982; 11: 48–51.
9. Мисюра О.Ф., Зобенко И.А., Шестаков В.Н. *Технология реабилитации в Центре сердечной медицины «Черная речка»*. В сб. *материалов 8-й юбилейной российской научно-практической конференции «Реабилитация и вторичная профилактика в кардиологии»*. М., 2009; 138–9.
10. Аронов Д.М., Оганов Р.Г. *Кардиологическая реабилитация в России – проблемы и перспективы*. *Рос. кардиол. журн.* 2001; 3: 4–13.

11. Бокерия ЛА, Гудкова РГ. Сердечно-сосудистые заболевания в Российской Федерации. ССНЦХ им. Бакулева, 2008.
12. Senaratne MJ, Irwin E, Shabun S et al. Feasibility of direct discharge from the coronary/intermediate care unit after acute myocardial infarction. *JACC* 1999; 33 (4): 1040–6.
13. Berger AK, Duval S, Jacobs DR et al. Relation of length of hospital stay in acute myocardial infarction to postdischarge mortality. *Am J Cardiol* 2008; 101: 428–34.
14. Pasquali SK, Alexander KP, Coombs LP et al. Effect of cardiac rehabilitation on functional outcomes after coronary revascularization. *Am Heart J* 2003; 145 (3): 445–51.
15. Чазов ЕИ. Выступление на II Всероссийском форуме по медицинской реабилитации и курортологии. М., 22 июня 2010 г.
16. Оганов РГ, Лепяхин ВК, Фитилев СБ. и др. Диагностика и лечение стабильной стенокардии в Российской Федерации. Международное исследование АТР – angina treatment pattern. *Кардиология*. 2003; 43 (5): 9–16.
17. Шальнова СА, Деев АД. Характеристика пациентов высокого риска. Результаты эпидемиологической части научно-образовательной программы ОСКАР. *Кардиоваскул. тер. и профилак.* 2006; 5: 58–63.
18. Аронов ДМ, Ахмеджанов НМ, Соколова ОЮ. и др. Эффективность мероприятий по борьбе с факторами риска у больных КВС, проводимых врачами первичного звена (по результатам опросов). *Рос. кардиол. журн.* 2006; 3: 34–40.
19. Perk J, Mathes P, Gohlke H et al. *Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*. Springer, 2007.
20. Taylor RS, Brown A, Ebrahim S et al. Exercise-based rehabilitation for patients with coronary heart disease: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med* 2004; 116 (10): 682–92.
21. Braunwald E, Zippe D, Libby P. *Heart disease. A textbook of Cardiovascular medicine*. 2000, WB Saunders company: USA.
22. Belardinelli R, Paolini I, Cianci G et al. Exercise training intervention after coronary angioplasty: the ETICA trial. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37 (7): 1891–900.
23. Hambrecht R, Walther C, MEBius-Winkler S et al. Percutaneous coronary angioplasty compared with exercise training in patients with stable coronary artery disease: a randomized trial. *Circulation* 2004; 109 (11): 1371–8.
24. Schuler G, Hambrecht R, Schliert G et al. Regular physical exercise and low-fat diet. Effects on progression of coronary artery disease. *Circulation* 1992; 86 (1): 1–11.
25. Niebauer J, Velich T, Hambrecht DR et al. 6 years of intensive physical exercise and low-fat diet: effects on progression of coronary artery disease. *Circulation* 1995; 92 (suppl. 1): 398.
26. Аронов ДМ, Шарфнадель МГ. Сравнительная оценка эффективности различных методов физических тренировок больных, перенесших инфаркт миокарда. *Бюл. Всесоюз. кардиол. науч. центра АМН СССР*. 1985; 2: 76–82.
27. Goble AJ, Worcester MUC. *Best practice guidelines for cardiac rehabilitation and secondary prevention: a synopsis*. Department of Human Services Victoria, 1999.

Ю.А.Шувалова, А.И.Каминный, А.Н.Мешков, Р.О.Широков,  
А.Н.Самко, В.В.Кухарчук

## Ассоциация полиморфизма Pro198Leu гена Gpx-1 с риском развития рестеноза после коронарного стентирования

ФГУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Росмедтехнологий, Москва

### Резюме

**Цель исследования.** Изучение связи генотипов четырех полиморфизмов генов эндотелиальной синтазы оксида азота, глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы и НАД/НАДФ-оксидазы с развитием рестеноза после стентирования коронарных артерий.

**Материалы и методы.** В исследование включены пациенты мужского пола (n=101), страдающие ишемической болезнью сердца, которым проводили интракоронарное стентирование с использованием непокрытого лекарственным препаратом стента и контрольную коронароангиографию спустя 6 мес после этого. Ангиографический рестеноз определяли как сужение артерии на 50% и более в диаметре в месте стентирования. У всех пациентов были определены генотипы полиморфизмов – 786T/C гена eNOS, Pro198Leu гена Gpx-1, Ile105Val гена GSTP и C242T гена NAD(P)H.

**Результаты.** Рестеноз развился у 44 больных, рестеноза не было у 57. L-аллель полиморфизма Pro198Leu гена Gpx-1 был ассоциирован с развитием рестеноза в стенте (отношение шансов 2,9; 95% доверительный интервал 1,23–6,84).

**Заключение.** Генотипирование по полиморфизму Pro198Leu гена Gpx-1 может применяться для стратификации риска развития рестеноза после коронарного стентирования стентами без лекарственного покрытия.

**Ключевые слова:** коронарное стентирование, генетические факторы риска, рестеноз, каталаза, параоксоназа, эндотелиальная синтаза оксида азота.

Yu.A. Shuvalova, A.I. Kaminniy, A.N. Meshkov, R.O. Shirokov, A.N. Samko, V.V. Kukharchuk  
**Association of the Pro198Leu polymorphism in the Gpx-1 gene with a risk for restenosis after coronary stenting**

Russian Cardiology Research-and-Production Complex, Russian Agency for Medical Technologies, Moscow

### Summary

**Aim.** To study an association of the genotypes of four endothelial synthase nitric oxide (eNOS), glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferase (GSTP), and NAD/NADP oxidase gene polymorphisms with the development of restenosis after coronary stenting.

**Subjects and methods.** The study enrolled 101 male patients with coronary heart disease who had undergone non-drug-eluting intracoronary stenting and coronary angiography 6 months later. Angiographic restenosis was defined as 50% or more arterial diameter narrowing at the site of stenting. Genotypes of eNOS 786T/C, GPx-1 Pro198Leu, GSTP Ile105Val, and NAD(P)H C242T polymorphisms were determined in all the patients.

**Results.** Restenosis developed in 44 patients, no restenosis was in 57. The L-allele of the GPx-1 Pro198Leu polymorphism was associated with the development of stent restenosis (OR 2.9; (95% CI, 1.23-6.84).

**Conclusion.** Genotyping by the GPx-1 Pro198Leu polymorphism may be used to stratify a risk for restenosis after non-drug-eluting coronary stenting.

**Keywords:** coronary stenting, genetic risk factors, restenosis, catalase, paraoxonase, endothelial synthase nitric oxide.

#### Сведения об авторах:

Шувалова Юлия Андреевна – канд. мед. наук, мл. науч. сотр. лаб. медицинской генетики, тел.: (495) 414-63-48; (495) 414-72-52; факс: (495) 414-67-97 (e-mail: shuvalovaj@mail.ru)

Каминный Александр Иванович – д-р мед. наук, ст. науч. сотр. отдела проблем атеросклероза, тел.: (495) 414-72-52 (e-mail: akam67@rambler.ru)

Мешков Алексей Николаевич – канд. мед. наук, науч. сотр. отдела возрастных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, тел.: 414-65-35 (e-mail: meshkov@cardio.ru)

Широков Роман Олегович – врач-кардиолог, рентгенохирург, лаб. рентгеноэндovasкулярных методов лечения, тел.: 414-65-08 (e-mail: shirokovroma@yaboo.com)

Самко Анатолий Николаевич – д-р мед. наук, проф., лаб. рентгеноэндovasкулярных методов лечения, рук. лаб., тел.: 414-50-63 (e-mail: samkolan@mail.ru)

Кухарчук Валерий Владимирович – д-р мед. наук, проф., член-корр. РАМН, рук. отдела проблем атеросклероза, тел.: 414-63-45 (e-mail: v\_kukbarcb@mail.ru)

Эндovasкулярные методы лечения, такие как стентирование коронарных артерий, в настоящее время широко применяют для лечения больных ишемической болезнью сердца (ИБС). Однако рестенозирование в стенке является главным ограничением эффективности этого метода, и даже применение стентов с лекарственным покрытием не решило эту проблему окончательно [1]. В связи с этим, несомненно, актуальным является поиск предикторов развития рестеноза в стенке, в том числе генетических. Рестенозирование после интракоронарного стентирования – это многофакторный процесс, включающий комплекс эндотелиальных и воспалительных реакций.

Окислительный стресс играет важную роль в патофизиологии сосудистых болезней и осложнений, таких как артериальная гипертония (АГ), атеросклероз и рестеноз после ангиопластики. Активные формы кислорода (АФК) участвуют в процессах роста, апоптоза и миграции сосудистых гладкомышечных клеток (ГМК), модуляции функции эндотелия, включая зависимую от эндотелия дилатацию, и в модификации внеклеточного матрикса [2]. Накопление нового экстрацеллюлярного матрикса и ГМК приводит к формированию неоинтимы, уменьшающей просвет сосуда после установки стента.

Известно, что эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS) является одним из ключевых ферментов в продукции оксида азота (NO), который является вазодилататором и ингибирует рост ГМК [3], предотвращает агрегацию тромбоцитов, ингибирует адгезию лейкоцитов к сосудистой стенке [4], а также обладает антиоксидантным действием [5]. Как известно, глутатионпероксидаза (GPx) принимает участие в метаболизме пероксинитрита, а также разрушает органические и неорганические перекиси в организме, в том числе липогидропероксиды [2], которые являются цитотоксичными для макрофагов, эндотелиальных клеток и ГМК сосудов и приводят к их гибели [6]. Глутатион-S-трансфераза Р (GSTP) относится к содержащим селен антиоксидантным ферментам и

принимает участие в разрушении органических и неорганических перекисей, хотя ее роль в этих процессах несколько меньше, чем роль GPx. Семейство глутатион-S-трансфераз выполняет роль детоксифицирующего агента, обеспечивая конъюгацию генотоксических метаболитов с глутатионом, что вызывает их инактивацию. Ассоциированная с мембраной НАД/НАДФ-оксидаза – NAD(P)H – является одним из основных источников в клетке супероксид радикала, который затем превращается в другие токсичные формы кислорода. NAD(P)H относится к основным прооксидантным ферментам и играет важную роль в развитии многих заболеваний.

**Целью исследования** было изучение связи генотипов четырех полиморфизмов генов eNOS, GPx-1, GSTP и NAD(P)H с развитием рестеноза после стентирования коронарных артерий стентами, непокрытыми лекарственными препаратами.

#### Материалы и методы

В исследование включили 101 пациента мужского пола, страдающего ИБС, после интракоронарного стентирования с использованием непокрытого лекарственными препаратами стента и контрольной коронароангиографии через 6 мес после стентирования. В исследование не включали пациентов с нестабильной стенокардией, перенесенными менее чем за 6 мес до начала исследования инфарктом миокарда и инсультом, тяжелой сердечной недостаточностью, тяжелыми нарушениями сердечного ритма и проводимости, семейными формами гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии, сахарным диабетом типа 1 или декомпенсированным сахарным диабетом типа 2, онкологическими заболеваниями, печеночной и почечной недостаточностью. Больные до и после инвазивного вмешательства получали стандартную терапию в комбинации с Плавиксом и статинами.

Транслуминальную коронарную ангиопластику со стентированием проводили по стандартной методике [7] с использованием аппаратуры «Gogo-

Таблица 1. Показатели метода рестриктоанализа

Полиморфизм	Длина продукта ПЦР (п.н.)	Рестриктаза	Длина фрагментов рестрикции (п.н.)
eNOS -786 T/C: аллель T аллель C	236	MroNI	236 33 и 203
GPx-1 Pro198Leu: аллель P аллель L	337	HaeIII	79 и 258 337
GSTP1le105Val: аллель I аллель V	436	BstMAI	108 и 328 105, 108 и 223
NAD(P)H C242T: аллель C аллель T	509	RsaI	113 и 396 80, 113 и 316

Таблица 2. Клиническая характеристика больных и ангиографические параметры поражения коронарных артерий

Показатель	Группа с рестенозом (n=44)	Группа без рестеноза (n=57)	p
Возраст, лет	56,5 (47,5–62,5)	58 (53–62)	0,4
ИМ в анамнезе	28 (64%)	33 (58%)	0,68
АГ	25 (57%)	34 (60%)	0,84
СД типа 2	4 (9%)	5 (9%)	
Другие нарушения углеводного обмена	4 (9%)	8 (14%)	0,75
Курение:			
курит	9 (21%)	13 (23%)	
бросил	12 (27%)	12 (21%)	0,77
не курит	23 (52%)	32 (56%)	
ХС общ, ммоль/л	4,83±1,09	4,95±0,81	0,29
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,29±0,96	3,12±0,72	0,4
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,08±0,32	1,18±0,33	0,25
ТГ, ммоль/л	1,4 (1,06–1,97)	1,36 (1,02–2,18)	0,85
Артерии:			
ПКА	14 (32%)	21 (37%)	
ПНА	22 (50%)	30 (53%)	0,53
ОА	8 (18%)	6 (10%)	
Должный диаметр артерии, мм	2,84±0,55	2,78±0,63	0,63
min d исходно, мм	0,93±0,55	1,13±0,44	0,1
Стеноз исходно, %	86,5±10	81±10	0,08
Длина стента, мм	16 (13–18)	13 (9–18)	0,09
min d после стентирования, мм	2,5±0,52	2,43±0,54	0,44
Стеноз после стентирования, %	9±6	10±4	0,96

Примечание. См. здесь и в табл. 4: ИМ – инфаркт миокарда, СД – сахарный диабет, ХСобщ – общий холестерин, ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ТГ – триглицериды, ПКА – правая коронарная артерия, ПНА – передняя нисходящая артерия, ОА – огибающая артерия, d – диаметр.

score 33» фирмы «Siemens» (Германия). Контрастирование дилатированного участка артерии проводили для его лучшей визуализации со съемкой минимум в двух ортогональных проекциях. Контрольную коронароангиографию (КАГ) проводили в среднем через 6 мес после стентирования с использованием той же аппаратуры, съемку проводили в тех же проекциях, что исходно. Ангиографически рестеноз определяли как сужение артерии на 50% и более в диаметре в месте стентирования через 6 мес после вмешательства. Анализ полученных ангиограмм проводили с помощью системы компьютерного анализа Axiom Artis («Siemens», Германия). Если у одного пациента вмешательство было проведено на двух сегментах коронарных артерий, то в анализ включали сегмент с более благоприятной динамикой изменения просвета.

Геномную ДНК выделяли из образцов цельной крови, как описано ранее [8]. Фрагменты соответствующих генов амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя описанные ранее условия [9–12]. Для амплификации фрагмента гена GPx-1 использовали следующие праймеры: прямой 5'-TGT GCC CCT ACG CAG GTA CA-3' и обратный 5'-CCA AAT GAC AAT GAC ACA GG-3'. Определение генотипа проводили методом анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов, который основан на создании в ходе ПЦР естественного сайта рестрикции в одном из аллелей. После завершения ПЦР в пробирку добавляли по 3 мкл 10-кратного буфера

для рестрикции и 2 ед. фермента, индивидуально для каждого полиморфизма, и инкубировали в течение 14 ч. Продукты рестрикции анализировали электрофорезом в 2,5% агарозном геле, содержащем 1 мкг/мл бромида этидия. Размер фрагментов определяли с помощью стандарта массы 50 bp.-Ladder фирмы «Fermentas» (табл. 1).

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0. Соответствие полученных частот генотипов распределению Харди–Вайнберга определяли с помощью критерия Фишера. При сравнении групп по количественному признаку использовали параметрический (t-критерий Стьюдента) и непараметрический (критерий Манна–Уитни) методы. При сравнении групп по качественному признаку использовали критерий  $\chi^2$  и точный критерий Фишера (для бинарных признаков). Для определения отношения шансов (ОШ) использовали логистический регрессионный анализ. Параметры, имеющие нормальное распределение признака, представлены в виде среднего значения и доверительного интервала (Mean; 95% ДИ), имеющие отличие от нормального распределения признака – в виде медианы и нижнего и верхнего квартилей [Med; (LQ; HQ)]. Статистически достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Через 6 мес после стентирования коронарных артерий у 44 больных возник рестеноз, а у 57

Таблица 3. Распределение генотипов полиморфизмов

Полиморфизмы генов	Группа с рестенозом (n=44)		Группа без рестеноза (n=57)		p
	абс.	%	абс.	%	
eNOS – 786 T/C					
TT	17	39	21	37	0,36
TC	24	54	27	47	
CC	3	7	9	16	
аллель T	58	66	69	61	0,24
аллель C	30	34	45	39	
GPx-1 Pro198Leu					
PP	17	39	37	65	0,0085
PL	22	50	17	30	
LL	5	11	3	5	
аллель P	56	64	91	80	0,011
аллель L	32	36	23	20	
GSTP I105V					
II	23	52	24	42	0,32
IV	19	43	27	47	
VV	2	5	6	11	
аллель I	65	74	75	66	0,28
аллель V	23	26	39	34	
NAD(P)H C242T					
CC	17	38,5	23	40	0,98
CT	21	48	26	46	
TT	6	13,5	8	14	
аллель C	55	62,5	72	63	1,0
аллель T	33	37,5	42	37	

больных рестеноза не было найдено. По клиническим параметрам и исходному ангиографическому статусу группы не имели статистически достоверных различий. Клинико-ангиографические данные пациентов, включенных в исследование, представлены в табл. 2.

У всех пациентов были определены генотипы полиморфизмов – 786T/C гена eNOS, Pro198Leu гена GPx-1, Ile105Val гена GSTP и C242T гена NAD(P)H (табл. 3). Распределение генотипов всех четырех полиморфизмов как в группе пациентов с рестенозом, так и в группе без рестеноза подчинялось закону Харди–Вайнберга. Учитывая, что число гомозигот с минорным аллелем в полиморфизмах гена GPx-1 и Ile105Val гена GSTP было незначительным, для статистических расчетов этих полиморфизмов пациентов-гомозигот по минорному аллелю объединяли в одну группу с гетерозиготами. Носители минорного аллеля полиморфизма Pro198Leu гена GPx-1 чаще встречались в группе больных с рестенозом (61%), чем в группе без рестеноза (35%). Для других изученных полиморфизмов мы не получили статистически значимых различий распределения генотипов между группами больных с рестенозом и без рестеноза.

Мы проанализировали взаимосвязь генотипов полиморфизма Pro198Leu гена GPx-1 с клиническими параметрами и ангиографическими характеристиками поражения коронарных артерий (табл. 4). При сравнении гомозигот по дикому аллелю (генотип PP) и носителей минорного аллеля (PL+LL) полиморфизма Pro198Leu гена GPx-1 по клиническим параметрам достоверных различий между группами не получено. У носителей минорного аллеля, как видно из табл. 4, степень рестенозирования была выше на 21%, чем в группе носителей «дикого» генотипа PP (54% против 42,6%); частота развития рестеноза была в 1,9 раза выше (59% против 31%). Минорный аллель полиморфизма Pro198Leu гена GPx-1 был ассоциирован с увеличением риска развития рестеноза в стенке (ОШ 2,9; 95% ДИ: 1,23–6,84).

### Обсуждение

Окислительный стресс в сосудистой стенке развивается сразу после ее повреждения, и его признаки сохраняются как на стадии тромбообразования и воспаления, так и на стадии пролиферации и миграции ГМК [13]. АФК могут индуцировать дисфункцию эндотелия и активацию макрофагов и как следствие высвобождение цитокинов и факторов роста, которые стимулируют ремоделирование матрикса и пролиферацию ГМК. Антиоксидантные ферменты являются основной защитой организма от окислительного стресса. В свою очередь активность ферментов и их количество в плазме крови могут быть генетически обусловленными. Учитывая это, в нашем исследовании изучали связь полиморфизмов генов антиоксидантных ферментов [eNOS, GPx-1, GSTP и NA(P)D] с развитием рестеноза после коронарного стентирования.

В гене GPx-1 описан полиморфный участок Pro198Leu – замена цитозина на тимин в 673-й позиции матричной РНК (mRNA), что влечет замену аминокислоты пролина на лейцин в 198-м положении молекулы фермента. Исследований влияния данного полиморфизма на развитие рестеноза ранее не проводили, однако полученные нами результаты согласуются с данными исследований по влиянию полиморфизма Pro198Leu гена GPx-1 на развитие сердечно-сосудистых заболеваний, в которых было показано, что у носителей минорного аллеля выше толщина комплекса интима–медиа общей сонной артерии ( $p=0,0028$ ), распространенность сердечно-сосудистых заболеваний ( $p=0,035$ ) и заболеваний периферических сосудов ( $p=0,027$ ) [14], а также выше индекс коронарного кальция, по данным мультиспиральной компьютерной томографии ( $p=0,006$ ) [15]. Как известно, GPx принимает участие в метаболизме пероксинитрита, а также разрушает органические перекиси в организме, в том числе липогидропероксида [2], которые цитотоксичны для макрофагов, эндотелиальных клеток и ГМК сосудов и приводят к их гибели [6]. Было показано повышение риска сердечно-сосудистых осложнений

**Таблица 4. Клиническая и ангиографическая характеристика пациентов группы гомозиготного генотипа PP полиморфизма Pro198Leu гена GPx-1 и группы носителей минорного аллеля**

Показатель	PP-генотип (n=55)	PL+LL-генотип (n=46)	p
Возраст, лет	58 (49; 63)	56 (53; 62)	0,46
ИМ в анамнезе	32 (58%)	29 (63%)	0,69
АГ	29 (53%)	30 (65%)	0,23
СД типа 2	4 (7%)	5 (11%)	
Нарушение углеводного обмена	7 (13%)	5 (11%)	0,8
Курение:			
курит	7 (13%)	15 (32%)	
бросил	34 (62%)	21 (46%)	0,052
не курит	14 (25%)	10 (22%)	
ХС общ, ммоль/л	4,87±0,82	4,92±1,08	0,79
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,08±0,66	3,32±0,98	0,3
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,21±0,34	1,07±0,31	0,082
ТГ, ммоль/л,	1,81±1,07	1,74±0,9	0,99
Артерия:			
ПКА	17 (31%)	18 (39%)	
ПНА	30 (54,5%)	22 (48%)	0,69
ОА	8 (14,5%)	6 (13%)	
Должный d, мм	2,83±0,61	2,78±0,58	0,7
min d исходно, мм	1,06±0,5	1,02±0,5	0,9
Стеноз исходно, %	82±10	85±11	0,08
Длина стента, мм	18 (9,5; 22,5)	17 (13; 18)	0,77
min d после стентирования, мм	2,53±0,52	2,39±0,53	0,21
Стеноз после стентирования, %	18,5±12	25±13	0,53
min d через 6 мес, мм	2,06±0,72	1,83±0,77	0,12
Стеноз через 6 мес, %	42,6±23	54±24	0,01
Рестеноз	17 (31%)	27 (59%)	0,0085

у пациентов со сниженной каталитической активностью GPx и документированной ИБС [16, 17]. Возможно, этим может объясняться негативное влияние полиморфизма Pro198Leu гена GPx-1 на процессы развития рестеноза.

Учитывая полученные нами данные, генотипирование по полиморфизму Pro198Leu гена GPx-1 может применяться у российских пациентов для стратификации риска развития рестеноза после коронарного стентирования стентами без лекарственного покрытия.

#### Литература

- Spertus JA, Nerella R, Kettlekamp R et al. Risk of restenosis and health status outcomes for patients undergoing percutaneous coronary intervention versus coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 2005; 111: 768–73.
- Fortuno A, San Jose G, Moreno MU et al. Oxidative stress and vascular remodelling. *Exp Physiol* 2005; 90(4): 457–62.
- Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1989; 83 (5): 1774–7.
- Griendling KK, FitzGerald GF. Oxidative stress and cardiovascular injury Part I: Basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation* 2003; 108: 1912–6.
- Jain SK, Palmer M. The effects of oxygen radicals metabolites and vitamin E on glycosylation of proteins. *Free Radic Biol Med* 1997; 22: 593–6.
- Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: the good, the bad and ugly. *Am J Physiol* 1996; 5: 1424–37.
- Gruentzig AR, King SB 3rd, Schlumpf M et al. Long-term follow-up after percutaneous transluminal coronary angioplasty. The early Zurich experience. *N Engl J Med* 1987; 316 (18): 1127–32.

8. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning*, 2nd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. 1989.

9. Colombo MG, Paradossi U, Andreassi MG et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of coronary artery disease. *Clin Chem* 2003; 49(3): 389–95.

10. Hu YJ, Diamond AM. Role of glutathione peroxidase 1 in breast cancer: loss of heterozygosity and allelic differences in the response to selenium. *Cancer Res* 2003; 63(2): 3347–51.

11. Wresch M, Kelsey KT, Liu M et al. Glutathione-S-transferase variants and adult glioma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13 (3): 461–7.

12. Wolf G, Panser U, Harendza S et al. No association between a genetic variant of the p22phox component of NAD(P)H oxidase and the incidence and progression of IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1509–12.

13. Azevedo LC, Pedro MA, Souza LC. Oxidative stress as a signaling mechanism of the vascular response to injury: the redox hypothesis of restenosis. *Cardiovasc Res* 2000; 47 (3): 436–45.

14. Hamanishi T, Fyryta H, Kato H et al. Functional variants in the glutathione peroxidase-1 (GPx-1) gene are associated with increased intima-media thickness of carotid arteries and risk of macrovascular disease in Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2004; 53: 2455–60.

15. Nemoto M, Nishimura R, Sasaki T et al. Genetic association of glutathione peroxidase-1 with coronary artery calcification in type 2 diabetes: a case control study with multi-slice computed tomography. *Cardiovasc Diabetol* 2007; 6: 23–7.

16. Schnabel R, Lackner KJ, Tupprecht HJ et al. Glutathione Peroxidase-1 and homocysteine for cardiovascular risk prediction. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1631–7.

17. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C et al. Glutathione Peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2003; 349: 1605–13.

— \* —

Т.Н.Савушкина<sup>1</sup>, Е.А.Табакьян<sup>1</sup>, Т.В.Федорова<sup>2</sup>, О.А.Васильева<sup>3</sup>,  
С.П.Домогатский<sup>3</sup>, М.Г.Лепилин<sup>1</sup>

## Оценка применимости маркеров системного воспаления – интерлейкина-6, α-фактора некроза опухоли и С-реактивного белка – для прогнозирования острого повреждения почек при операциях на сердце

<sup>1</sup>Институт клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова ФГУ РКНПК Минздравсоцразвития России;  
<sup>2</sup>МГУ им. М.В.Ломоносова; <sup>3</sup>Институт экспериментальной кардиологии  
ФГУ РКНПК Минздравсоцразвития России

### Резюме

**Цель исследования** – оценить изменения уровня белков-маркеров воспаления интерлейкина 6 (ИЛ-6), фактора некроза опухоли-α (ФНО-α) и С-реактивного белка (СРБ) при операциях на сердце с искусственным кровообращением (ИК) и их прогностическую значимость в отношении риска острого повреждения почек (ОПП).

**Материалы и методы.** В исследовании участвовали пациенты (61 человек) с хронической ишемической болезнью сердца, которым выполняли плановую операцию коронарного шунтирования (КШ) с ИК. В соответствии с уровнем креатинина в крови и скоростью клубочковой фильтрации в послеоперационном периоде были выделены две группы пациентов: 1-я – без ОПП и 2-я – с ОПП. Кровь на маркеры воспаления брали за 24 ч до операции и через 12 ч после завершения КШ. Концентрацию маркеров воспаления в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**Результаты.** Уровни всех маркеров воспаления повышались через 12 ч после операции КШ с ИК у всех больных, причем каждый отдельный показатель вне зависимости от степени повышения уровня других. Корреляции изменений уровней ИЛ-6, СРБ и ФНО-α с состоянием функции почек после операции не выявлено. Больные были разделены также на две группы на основании наличия или отсутствия хронической патологии в функции почек. Не выявлено корреляции между наличием хронической дисфункции почек и более выраженным повышением уровней маркеров воспаления по сравнению с больными с нормальной функцией почек.

**Заключение.** Значительное повышение уровней маркеров воспаления сопутствовало всем случаям оперативного вмешательства. Однако даже их максимальное увеличение не коррелировало ни с общим состоянием больных, ни между собой. Не выявлено прогностической роли повышения уровней ИЛ-6, ФНО-α и СРБ в отношении развития ОПП с исходом в острую почечную недостаточность при операциях на сердце с ИК.

**Ключевые слова:** синдром системного воспалительного ответа, искусственное кровообращение, острое повреждение почек, острая почечная недостаточность, хроническая ишемическая болезнь сердца, коронарное шунтирование, хроническая болезнь почек.

T.N. Savushkina<sup>1</sup>, E.A. Tabakyan<sup>1</sup>, T.V. Fedorova<sup>2</sup>, O.A. Vasilyeva<sup>3</sup>, S.P. Domogatsky<sup>3</sup>, M.G. Lepilin<sup>1</sup>  
**Assessment of the applicability of the systemic inflammation markers IL-6, TNF-α, C-reactive protein in the prediction of acute kidney injury during heart surgery**

<sup>1</sup>AL. Myasnikov Institute of Clinical Cardiology, Russian Cardiology Research-and- Production Complex, Ministry of Health and Social Development of Russia

<sup>2</sup>M.V. Lomonosov Moscow State University

<sup>3</sup>Institute of Experimental Cardiology, Russian Cardiology Research-and-Production Complex, Ministry of Health and Social Development of Russia

### Summary

**Aim:** to estimate changes in the level of proteins, the inflammation markers (IL-6, TNF-α, and C-reactive protein (CRP), during heart surgery under extracorporeal circulation (EC) and their prognostic value for a risk of acute kidney injury (AKI).

**Subjects and methods.** The study enrolled 61 patients with chronic heart disease who had undergone elective coronary artery bypass surgery (CABS) under EC. According to blood creatinine levels and glomerular filtration rate in the postoperative period, the patients were divided into 2 groups: 1) those without AKI and 2) those with AKI. Blood was sampled for the inflammation markers 24 hours before and 12 hours after CABS. The serum concentrations of inflammation markers were measured by solid-phase enzyme immunoassay.

**Results.** The levels of all the inflammation markers became higher 12 after CABG under EC in all the patients, each individual indicator did irrespective of the magnitude of an increase in the level of the others. The changes in the levels of IL-6, CRP, and TNF- $\alpha$  were not found to correlate with renal function after surgery. The patients were also divided into 2 groups according to the presence or absence of chronic renal dysfunction. There was no correlation between the presence of chronic renal dysfunction and the more evident increase in the levels of inflammation markers than that in patients with normal renal function.

**Conclusion.** Significantly elevated levels of inflammation markers were observed in all conceivable cases of surgical interventions, but even their maximum increase showed a correlation with either the patients' general condition or between them by no means. The elevated levels of IL-6, TNF- $\alpha$ , and CRP were not found to play a prognostic role in the development of AKI with an acute renal failure outcome during heart surgery under EC.

**Keywords:** systemic inflammatory response syndrome, extracorporeal circulation, acute kidney injury, acute renal failure, chronic heart disease, coronary artery bypass surgery, chronic renal disease.

#### Сведения об авторах:

Савушкина Татьяна Николаевна – аспирант по кардиологии отд. сердечно-сосудистой хирургии ИКК им. АЛМясникова ФГУ РКНПК Минздрава России, тел.: 8(962)9225576 (tani78@yandex.ru)

Табакьян Евгений Аведикович – канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. искусственного и вспомогательного кровообращения отд. сердечно-сосудистой хирургии ИКК им. АЛМясникова ФГУ РКНПК Минздрава России, тел.: 8(903)1681538 (tabakyan@mail.ru)

Федорова Татьяна Владимировна – студент физического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова, тел.: 8(926)6079098 (tuvwka@yandex.ru)

Васильева Ольга Алексеевна – мл. науч. сотр. лаб. иммунохимии ИЭК ФГУ РКНПК Минздрава России, тел.: 8(903)7560872 (ovasika@yandex.ru)

Домогатский Сергей Петрович – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. иммунохимии ИЭК ФГУ РКНПК Минздрава России, тел.: 8(903)2189117 (spdoto@yandex.ru)

Лепилин Михаил Григорьевич – д-р мед. наук, проф., рук. лаб. анестезиологии и защиты миокарда отд. сердечно-сосудистой хирургии ИКК им. АЛМясникова ФГУ РКНПК Минздрава России

При выполнении операций на сердце с использованием искусственного кровообращения (ИК) существенную роль играет предупреждение послеоперационных осложнений, которые напрямую связаны с активацией системы свертывания крови и развитием синдрома системного воспалительного ответа (ССВО), аналогично наблюдаемых при сепсисе и травме [1–6]. Этиологические факторы включают хирургическую травму, реперфузионные повреждения, длительный контакт синтетических поверхностей аппарата ИК с кровью.

Важнейшими задачами являются прогнозирование и предупреждение возможных тяжелых осложнений и оптимальная тактика ведения операции и ИК.

Острое повреждение почек (ОПП) с исходом в острую почечную недостаточность (ОПН) – одно из частых серьезных осложнений после операций на сердце с ИК. Основной его причиной считают ССВО. Выброс в кровоток большого количе-

ства цитокинов ассоциируется с субклиническим повреждением почек, в первую очередь с блокированием фильтрации в почечных клубочках. Определение концентрации в крови маркеров воспаления, которые могли бы отражать активность развития воспалительного процесса, важно для прогнозирования и выбора метода лечения.

В литературе имеются противоречивые сведения как о значимой прогностической роли маркеров воспаления в развитии ОПП [7, 8], так и об отсутствии значимой корреляции этих факторов с развитием нарушения функции почек [9]. Считается, что при наличии дисфункции почек уровни С-реактивного белка (СРБ) и интерлейкина 6 (ИЛ-6) резко увеличиваются и коррелируют с развитием ОПП. Высокие уровни маркеров воспаления, как полагают, свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе [1, 2]. Вместе с тем значение маркеров воспаления в прогнозе ОПП при операциях на сердце с ИК изучено недостаточно.

**Целью исследования** была оценка изменений уровней белков-маркеров воспаления – ИЛ-6, фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и СРБ при операциях на сердце с ИК и их прогностической значимости в отношении риска развития ОПП.

#### Материалы и методы

В исследование был включен 61 пациент с хронической ишемической болезнью сердца (ХИБС) – 51 (84%) мужчина и 10 (16%) женщин в возрасте от 45 до 75 лет (табл. 1). Больные находились на лечении в отделении сердечно-сосудистой хирургии Института клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова. Всем участникам исследования выполняли плановую операцию коронарного шунтирования (КШ) с ИК, соответствующую клиническому состоянию (многососудистое поражение, требующее установки двух шунтов и более).

Таблица 1. Клиническая характеристика 61 пациента

Показатель	Абс.	%
Возраст (M $\pm$ m), лет	58 $\pm$ 11	
Мужчины	51	84
Женщины	10	16
Стенокардия III–IV ФК	61	100
ИМ без зубца Q (в анамнезе)	52	86
ИМ с зубцом Q (в анамнезе)	10	167
Артериальная гипертензия	60	98
Атеросклероз множественной локализации	10	18
Сахарный диабет	20	36
ХБП	24	42
Курение	27	48
Гиперхолестеринемия	61	100
Время ИК	78 $\pm$ 29	
Время пережатия аорты	46 $\pm$ 21	

Примечание. ФК – функциональный класс, ИМ – инфаркт миокарда.



В исследование включали пациентов с ХИБС с незначительным или умеренным снижением функции почек [хронической болезнью почек (ХБП) I–III стадии: скорость клубочковой фильтрации (СКФ) более 30 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>] или без нарушения функции почек, получавших стандартную терапию и низкомолекулярный гепарин в профилактической дозе в течение нескольких дней перед операцией.

В исследование не включали больных с острыми воспалительными заболеваниями и острыми респираторными вирусными инфекциями, перенесенными в течение 2 мес до операции.

По уровням креатинина в крови и СКФ, рассчитанной на основе его клиренса по формуле Кокрофта–Гаулта [11], в послеоперационном периоде (наблюдение в течение 48 ч) выделили две группы пациентов: без ОПП (уменьшение СКФ < 25% от исходной) и с ОПП (уменьшение СКФ > 25% от исходной). Время ИК и время пережатия аорты у всех обследуемых существенно не различалось.

В течение 48 ч после операции ОПП умеренной выраженности (снижение СКФ на 25–50% от исходного уровня) наблюдалось у 17 (28%) человек, у одного (1,6%) пациента было выраженное ОПП (снижение СКФ > 50% от исходного уровня, анурия), что потребовало проведения ему заместительной почечной терапии (вено-венозной гемодиализации).

Для определения маркеров воспаления кровь у больных брали из вены в вакуумные пробирки без антикоагулянта за 24 ч до операции и через 12 ч после ее завершения. Отобранные образцы инкубировали при 4°C в течение 8 ч до полного свертывания крови. Сгустки удаляли центрифугированием образцов при 3000 об/мин в течение 20 мин. Отобранные над осадком образцы сыворотки крови замораживали в жидком азоте и хранили при -40°C. Непосредственно перед проведением тестирования эти образцы быстро размораживали при 37°C и центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 10 мин.

В образцах сыворотки крови определяли концентрацию маркеров воспаления (СРБ, ИЛ-6, ФНО-α). Определение уровня свободных форм ИЛ-6 и ФНО-α проводили методом твердофазного иммуноферментного хемилюминесцентного анализа с использованием наборов IMMULITE фирмы «DPC» (США). Уровень СРБ определяли

методом твердофазного иммуноферментного «сэндвич»-анализа с использованием набора производства фирмы «Имтек» (Россия). Диапазон чувствительности определения для ИЛ-6 составляет 0,2–300 пг/мл, для ФНО-α – 0,9–10 пг/мл, для СРБ – 0,8–100 нг/мл.

Статистический анализ проводили с помощью программы Statistica 6.0. Для оценки достоверности различий количественных показателей использовали параметрический критерий Стьюдента, а также непараметрический W-критерий Уилкоксона, применяемый для оценки динамических изменений. Различия считали статистически достоверными при  $p < 0,05$  [10].

## Результаты

Перед проведением исследования больных разделили на две группы – по наличию или отсутствию хронической дисфункции почек: в 1-й группе было 37 (58%) человек с нормальной функцией почек, во 2-й – 24 (42%) человека с незначительным или умеренным снижением функции почек (ХБП I–III стадии включительно: СКФ > 30 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>). Деление на группы проводили в соответствии с учетом анамнеза и общих клинических показателей, а также уровня креатинина в крови и СКФ.

В ходе обработки результатов тестирования после операции в работе почек больных с хронической патологией выраженного повышения уровней маркеров воспаления не обнаружили по сравнению с уровнями этих маркеров у больных, такой патологии не имеющих.

Проведено второе разделение больных на группы. В соответствии с уровнем креатинина крови и СКФ в послеоперационном периоде (наблюдение в течение 48 ч) выделили две группы пациентов: в 1-ю вошли 43 больных без ОПП (уменьшение СКФ < 25% от исходной) и во 2-ю – с ОПП (уменьшение СКФ > 25% от исходной). В течение 48 ч после операции ОПП выявлено у 18 (29,5%) больных.

Средние уровни ФНО-α, ИЛ-6 и СРБ и их дисперсия представлены в табл. 2 и 3 для 1-й и 2-й групп соответственно. Сравнительный анализ показателей проведен в условиях рандомизированного исследования совокупности кодированных образцов в одной серии измерений.

В табл. 2 и 3 выделены подгруппы с незначительными изменениями концентрации СРБ и

Таблица 2. Концентрации ФНО-α, СРБ, ИЛ-6 в группе из 43 больных без послеоперационного ОПП

Подгруппа больных	ФНО-α, пг/мл		СРБ, мг/л		ИЛ-6, нг/л	
	до операции	после операции	до операции	после операции	до операции	после операции
1-я (n=12)	6,2±2,2	9,3±2,5	1,3±0,8	3,9±1,6	3,7±1,9	46±13
2-я (n=31)	8,6±2,4	14,4±2,3	1,8±1,5	9,9±5,6	2,8±1,8	84±72

Таблица 3. Концентрации ФНО-α, СРБ, ИЛ-6 до и после операции в группе из 18 больных с послеоперационного ОПП

Подгруппа больных	ФНО-α, пг/мл		СРБ, мг/л		ИЛ-6, нг/л	
	до операции	после операции	до операции	после операции	до операции	после операции
1-я (n=7)	9,6±6,4	15,6±5,8	1,3±0,6	3,6±1,4	4,1±2,2	50±28
2-я (n=11)	9,1±5,1	12,7±6,2	1,7±1,1	14,9±4,4	3,2±1,2	81±65

подгруппы со значительным приростом концентраций СРБ.

Развитие системных воспалительных процессов в организме отражают изменения уровней белков-маркеров воспаления, таких как ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и в значительной степени СРБ. Как и следовало ожидать, уровни каждого из этих маркеров повысились в образцах крови, отобранных через 12 ч после операции КШ с ИК (см. табл. 2, 3). Причем на развитие воспалительного процесса указывает увеличение уровня каждого отдельного показателя вне зависимости от изменения уровней других. Таким образом, для достоверного заключения необходимо измерять уровни всех трех маркеров.

Доля больных, у которых произошло значительное (более чем в 1,5 раза) повышение уровня ФНО- $\alpha$  после операции, в 1-й группе составила 52, а во 2-й – 42. Однако абсолютное увеличение уровня этого маркера воспаления незначительно относительно индивидуальных вариаций, поэтому заключение только по данному параметру сделать весьма затруднительно.

Наиболее ярко эти изменения были выражены для ИЛ-6, уровень которого увеличился в 10–50 раз по сравнению с исходным у всех пациентов. В 1-й группе уровень ИЛ-6 значимо повысился у 40% больных, во 2-й – у 51%. Однако даже на фоне значительного увеличения уровня ИЛ-6 после проведения оперативного вмешательства у пациентов 2-й группы уровень креатинина, используемый для оценки функции почек наряду с СКФ, в ряде случаев значимо не изменялся. Таким образом, корреляция относительной величины изменения уровня или абсолютного значения уровня ИЛ-6, достигавшего 160 пг/мл от исходных 2 пг/мл, с состоянием пациентов или уровнями других маркеров или общими клиническими показателями фактически отсутствовала, что свидетельствует о несущественной значимости этого показателя для клинических заключений. Следовательно, невозможно утверждать, что значительное повышение уровня ИЛ-6 сигнализирует о развитии у пациента ОПП.

Несмотря на то что абсолютное и относительное увеличение уровня СРБ было менее выражено, чем таковой ИЛ-6, около 1/3 образцов крови после операции содержало в 10–15 раз больше СРБ (до 40 мг/л соответственно), еще в 1/3 образцов содержание СРБ было в 3–5 раз больше исходного, и только у 20% уровень СРБ значимо не повысился. Снижения уровня СРБ не наблюдалось ни для одной из проб. Однако, как и в случае ИЛ-6, корреляция изменения этого параметра с изменениями уровня креатинина не обнаружено.

Приведенная совокупность данных тестирования подтверждает предварительно сделанный для маркера ИЛ-6 вывод о том, что индикаторы воспалительного процесса объективно отражают изменения состояния организма, произошедшие в результате хирургического вмешательства и сопутствующей терапии, но не регистрируют повреждения почек.

### Обсуждение

Связь осложнений в виде ОПП с оперативным вмешательством на сердце с ИК установлена достоверно, однако причины, приводящие к нарушению функции почек, остаются неясными.

Сложившееся за последние десятилетия убеждение, что такой причиной является системное воспаление, которое следует контролировать, привело к появлению серии работ, в которых убедительно продемонстрировано значительное повышение уровня маркеров воспаления, в том числе ИЛ-6, СРБ и ФНО- $\alpha$  при ОПП [12, 13].

Все наблюдаемые пациенты получали стандартную терапию ХИБС, в том числе и ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ), статины, обладающие рядом плейотропных эффектов, которые влияют (снижают) в том числе и на уровень маркеров воспаления. В большинстве исследований их достоверное снижение наблюдалось при приеме значительно более высоких, чем стандартные, доз препаратов. Все наши больные получали статины и ИАПФ в общепринятой терапевтической дозе. Одно из исследований было нацелено на изучение влияния стандартных и высоких доз статинов и ИАПФ на уровень маркеров воспаления после операций на сердце с ИК [14]. Его результаты свидетельствовали о том, что только их высокие дозы достоверно влияют (снижают) на выраженность ССВО. Учитывая эти сведения и то, что все наши больные получали данные препараты, мы посчитали вправе пренебречь влиянием ИАПФ и статинов на уровни определявшихся нами маркеров воспаления.

В данной работе сделан акцент на взаимное соотношение уровней маркеров воспаления с клиническими показателями во всех послеоперационных случаях. Во-первых, из совокупности данных сразу стало очевидно, что значительное повышение уровня ИЛ-6 наблюдалось во всех случаях оперативного вмешательства. Во-вторых, даже 50-кратное повышение уровня ИЛ-6 не коррелировало ни с общим состоянием больных, ни с уровнями других показателей воспаления (СРБ, ФНО- $\alpha$ ). Проявления интегрального воспалительного процесса, очевидно связанного с реакцией организма на оперативное вмешательство, преобладали над специфическими проявлениями.

Формально примененные методы статистической обработки [10] показали исключительно высокий диапазон дисперсии значений и отсутствие прямой корреляции показателей трех индикаторов воспаления. При этом обнаружены особенности выявления отклонений некоторых показателей от исходных значений до операции и, соответственно, от нормы. Детектируемое увеличение уровня ФНО- $\alpha$  после операции было относительно небольшим (увеличение в среднем на 50% для каждого из пациентов) и находилось на уровне индивидуальных различий. Уровень СРБ после операции увеличивался значительно (в 5–10 раз) и, безусловно, отличался как от исходного значения, так и от нормы. Следует отметить достаточно явную корреляцию отклонений уровня СРБ и роста показателей уровня ФНО- $\alpha$  для большинства образцов крови исследуемых из этой группы. Уровни ИЛ-6 после операции значительно (в 10–50 раз) превышали как исходные показатели, так и уровень условной нормы. Соответствия абсолютных значений этих показателей с другими индикаторами (СРБ, ФНО- $\alpha$ ) установить не удалось.

Таким образом, сочетанное определение уровней трех маркеров воспаления (ФНО- $\alpha$ , СРБ,

ИЛ-6) позволяет достаточно надежно оценивать состояние воспалительных процессов, происходящих в организме после КШ. Каждый из маркеров имеет особенности: относительный рост уровня ФНО- $\alpha$  невелик, поэтому однократное измерение нивелируется индивидуальными отклонениями уровня; увеличение уровня ИЛ-6 весьма значительно, но для этого высокочувствительного теста абсолютные значения не являются индикативными; рост уровня СРБ определяется наиболее надежно, но должен обязательно соотноситься с наличием возможных сопутствующих заболеваний, прогрессированием тяжести ХИБС, а также и с влиянием сопутствующей лекарственной терапии [15–18].

В нашем исследовании не выявлено прогностической роли изменений уровней ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и СРБ в отношении развития ОПП с исходом в ОПН при операциях на сердце с ИК.

В целом, не подчеркивая противоречий с ранее опубликованными исследованиями по выявлению корреляции индикаторов воспаления с ОПП на фоне операции КШ с ИК [7, 8], следует основательно усомниться в прогностическом характере выявленного увеличения уровня ИЛ-6 (до 100 нг/л и более) именно для конкретного развития патологии. Следует обратить большее внимание на изменение других факторов крови, приводящих к повреждению почек, – белков системы свертывания крови в противовес активации ферментов фибринолиза (имея в виду осаждение микросгустков и блокирование почечных канальцев).

## Выводы

У всех без исключения больных после оперативного вмешательства на сердце с ИК наблюдается значительное повышение уровней маркеров воспаления, но даже их максимальное повышение никак не коррелирует ни с общим состоянием больных, ни между собой.

Наличие хронической дисфункции почек (ХБП I–III стадии) не сопровождается более выраженным повышением уровней маркеров воспаления после операции, чем у больных с ХИБС с нормальной функцией почек.

Прогностическая значимость маркеров воспаления (ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и СРБ) в отношении острого повреждения почек с исходом в ОПН при операциях на сердце с ИК в данном исследовании не выявлена.

## Литература

1. Хенсли ФА, Мартин ДЕ, Грэнвэл ГП. *Практическая кардиоанестезиология*. 3-е изд. М.: ООО «МИА», 2008.
2. Boyle E, Pohlman T, Johnson M et al. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery. The systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg* 1997; 63: 277–84.
3. Hall R, Smith M, Rucker G. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic and pharmacologic considerations. *Anesth Analg* 1997; 85: 766–82.
4. Asimakopoulas G. Systemic inflammatory and cardiac surgery: an update. *Perfusion* 2001; 16: 353–60.
5. Hennein H. Inflammation after cardiopulmonary bypass: therapy for the postpump syndrome. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* 2001; 5: 236–55.
6. Laffey J, Boylan J, Cheng D. The systemic inflammatory response to cardiac surgery. Implications for the anesthesiologist. *Anesthesiology* 2002; 97: 215–52.
7. Sablotzki A, Friedrich I, Mubling J et al. The systemic inflammatory response syndrome following cardiac surgery: different expression of proinflammatory cytokines and procalcitonin in patients with and without multiorgan dysfunctions. *Perfusion* 2002; 17 (2): 103–9.
8. Gueret G, Lion F, Guriec N et al. Acute renal dysfunction after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass is associated with plasmatic IL6 increase. *Cytokine* 2009; 45 (2): 92–8.
9. Ziabakhsb T. Can perioperative C-reactive protein and interleukin-6 levels predict atrial fibrillation after coronary artery bypass surgery? *Saudi Med J* 2008; 29 (10): 1429–31.
10. Реброва ОЮ. *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера, 2002.*
11. Cockcroft D, Gault M. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephrol* 1976; 16: 31–41.
12. Karu I, Taal G, Zilmer K et al. Inflammatory/oxidative stress during the first week after different types of cardiac surgery. *Scand Cardiovasc J* 2010; 44 (2): 119–24.
13. Kuller L, Tracy R. The role of inflammation in cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 901.
14. Radaelli A, Loardi C, Cazzaniga M et al. Inflammatory activation during coronary artery surgery and its dose-dependent modulation by statin/ACE-inhibitor combination. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27 (12): 2750–5.
15. Pepys M, Hirschfield G. C-reactive protein a critical update. *J Clin Invest* 2003; 111: 1805–12.
16. Messeri A, Seshadri N, Gregory L et al. Relation of albumin-creatinin ratio to C-reactive protein in the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 2003; 92 (5): 610–2.
17. de Ferranti S, Rifai N. C-reactive protein and cardiovascular disease a review of risk prediction and interventions. *Clinical Acta* 2002; 317: 1–15.
18. Staveling E, Bakker SJ et al. C-reactive protein and microalbuminuria. *Hypertension* 2004; 43: 791–6.

— \* —

А.Я.Шевелев<sup>1</sup>, Н.М.Каширина<sup>1</sup>, П.Н.Руткевич<sup>1</sup>, М.М.Пекло<sup>1</sup>, И.Н.Рыбалкин<sup>1</sup>,  
Т.Х.Гурская<sup>1</sup>, Е.В.Янушевская<sup>1</sup>, М.А.Слинкин<sup>1</sup>, Л.Н.Липатова<sup>1</sup>, Т.И.Арефьева<sup>1</sup>,  
Т.В.Кудряшова<sup>2</sup>, Н.В.Радюхина<sup>1</sup>, Т.Н.Власик<sup>1</sup>

## РНК-интерференция: система тестирования эффективности мишеней

<sup>1</sup>Институт экспериментальной кардиологии, ООО «Фирма МОНА», Москва;

<sup>2</sup>Кафедра биологической медицинской химии факультета фундаментальной медицины МГУ  
им. М.В.Ломоносова

### Резюме

**Цель исследования.** Разработать универсальную технологию, позволяющую определять эффективность мишеней РНК-интерференции в культивируемых клетках млекопитающих.

**Материалы и методы.** Клетки HEK293 трансфицировали смесью эффекторной и репортерной плазмид. Эффекторная плазида несет двунаправленную кассету для экспрессии siRNA, репортерная содержит 19-нуклеотидную мишень РНК-интерференции, помещенную перед геном люциферазы или после него. На основании измерений активности люциферазы в клетках после котрансфекции судили об эффективности той или иной мишени. Пригодность отобранных мишеней для подавления экспрессии генов проверяли в прямых экспериментах на клетках H1299 при помощи лентивирусной трансдукции.

**Результаты.** Протестировали 20 потенциальных мишеней РНК-интерференции: 10 для гена зеленого флуоресцентного белка копеподы и 10 для гена трансферринового рецептора человека. Из 6 отобранных мишеней, показавших высокую эффективность в системе тестирования, 5 оказались способными вызывать зависящее от дозы подавление экспрессии соответствующего природного гена.

**Заключение.** Предложенная система тестирования позволяет отбирать эффективные мишени с высокой степенью надежности.

**Ключевые слова:** подавление экспрессии генов, siRNA, мишени РНК-интерференции, трансфекция клеток, эффекторная и репортерная плазмиды.

A.Y.Shevelev<sup>1</sup>, N.M.Kashirina<sup>1</sup>, P.N.Rutkevich<sup>1</sup>, M.M.Peklo<sup>1</sup>, I.N.Rybalkin<sup>1</sup>, T.Ch.Gurskaya<sup>1</sup>, E.V.Yanushevskaya<sup>1</sup>,  
M.A.Slinkin<sup>1</sup>, L.N.Lipatova<sup>1</sup>, T.I.Arefeva<sup>1</sup>, T.V.Kudriasova<sup>2</sup>, N.V.Radyukhina<sup>1</sup>, T.N.Vlasik<sup>1</sup>

**RNA interference: a system for testing the efficiency of targets**  
Institute of Experimental Cardiology, Mona Ltd, Moscow

### Summary

**Objective.** To develop a universal technology allowing for evaluating the efficacy of targets for RNA interference in mammalian cultured cells.

**Materials and methods.** HEK293 cells were transfected with a mixture of effector and reporter plasmids, the effector plasmid bearing a dual-directed cassette for expression of siRNA, the reporter plasmid harboring a 19-nucleotide target for RNA interference placed either upstream or downstream to the luciferase gene. The efficacy of targets has been defined according to the measured activity of luciferase in the cells after co-transfection. Ability of selected targets to suppress the genes has been verified in H1299 cells, in the direct experiments using transduction with lentiviruses.

**Results.** 20 potential targets for RNA-interference have been tested, 10 for the gene of green fluorescent protein of Copepoda and 10 for the gene of human transferrin receptor. Five of six selected targets shown to be highly effective in the testing system proved to mediate a dose-dependent suppression of the corresponding natural gene.

**Conclusion.** The proposed testing system permits to select effective targets with a high reliability.

**Keywords:** gene silencing, siRNA, targets for RNA-interference, cell transfection, effector and reporter plasmids, luciferase, green fluorescent protein CopGFP, transferrin receptor CD71, lentiviral transduction, MOI determination, RT-PCR

### Сведения об авторах:

Шевелев Александр Ясенович – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. клеточной инженерии,  
тел.: (495) 414-69-55

Каширина Наталья Михайловна – науч. сотр. лаб. клеточной инженерии, тел.: (495) 414-69-55

Руткевич Павел Николаевич – науч. сотр. лаб. клеточной инженерии, (495) 414-69-54

Пекло Михаил Михайлович – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. клеточной инженерии,  
тел.: (495) 414-69-54

Рыбалкин Игорь Николаевич – науч. сотр. лаб. клеточной инженерии, тел.: (495) 414-65-98

Гурская Татьяна Хань-Цзы – мл. науч. сотр. лаб. клеточной инженерии, тел.: (495) 414-65-98

Янушевская Елена Вадимовна – науч. сотр. лаб. клеточной инженерии, тел.: (495) 414-69-55

Слинкин Михаил Алексеевич – канд. хим. наук, вед. науч. сотр. лаб. клеточной инженерии,  
тел.: (495) 414-69-55

Липатова Людмила Николаевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. клеточной инженерии,  
тел.: (495) 414-69-55

Арефьева Татьяна Игоревна – канд. биол. наук, ведущий науч. сотрудник лаб. клеточной инженерии,  
тел.: (495) 414-66-56

Кудряшова Татьяна Владимировна – ассистент, МГУ им. М.В.Ломоносова, фак. фундаментальной медицины,  
каф. биологической медицинской химии, тел.: (495) 932-99-04

Радюхина Наталья Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. клеточной инженерии,  
тел.: (495) 414-66-56

Власик Татьяна Николаевна – канд. биологических наук, рук. лаб. клеточной инженерии,  
тел.: (495) 414-69-54 (e-mail: t.vlasik@cardio.ru)

**Р**НК-интерференция – подавление экспрессии генов с помощью двухцепочечной РНК – была открыта в середине 90-х годов XX века при изучении круглого червя *Caenorhabditis elegans* [1]. В 2006 г. американские ученые A.Fire и S.Mello были удостоены за это открытие Нобелевской премии. Оказалось, что в мире эукариот обнаруженное явление носит универсальный характер, хотя детали процесса РНК-интерференции у разных групп эукариотических организмов различаются [2–6].

Во всех случаях основным действующим агентом РНК-интерференции служит так называемая малая интерферирующая РНК (small interfering RNA – siRNA\*), которая представляет собой короткую молекулу двухцепочечной РНК длиной 19 пар нуклеотидов с выступающими с каждого 3'-конца двумя неспаренными нуклеотидами. В цитоплазме siRNA связывается с белками-ферментами, при этом образуется комплекс RISC (RNA-induced silencing complex) [7]. Один из ферментов RISC, хеликаза, расплетает двухцепочечную siRNA, после чего в составе комплекса остается одна (направляющая) цепь siRNA, которая узнает участок с комплементарной последовательностью (мишень РНК-интерференции) в молекуле мРНК и связывается с этим участком. Вторая (пассажирская) цепь siRNA разрушается. Связывание служит сигналом для другого фермента RISC, рибонуклеазы, делающей одиночный разрыв мРНК в области комплементарного взаимодействия. Образовавшиеся в результате фрагменты мРНК быстро расщепляются затем другими внутриклеточными рибонуклеазами. Таким образом, при РНК-интерференции подавление экспрессии индивидуальных генов происходит за счет деградации соответствующих мРНК и, следовательно, уменьшения синтеза соответствующих белков.

Поскольку одним из основных свойств описанного процесса является высокая специфичность, вскоре после открытия РНК-интерференции стало понятно, что этот феномен может иметь огромное практическое значение. Действительно, за последние несколько лет появилось много работ, в которых описывается использование технологии РНК-интерференции для изучения функций генов (functional screening) [8, 9], выбора мишеней для терапевтического воздействия, подтверждения правильности выбора этих мишеней (target identification and validation) [10–12] и, наконец, для генотерапии прежде всего вирусных и онкологических заболеваний [13–18].

При разработке технологии РНК-интерференции исследователи столкнулись с двумя проблемами: как выбрать эффективную мишень РНК-интерференции (или эффективную siRNA, что одно и то же) и как доставить siRNA в клетку. Оказалось, что далеко не любой 19-нуклеотидный участок молекулы мРНК может быть эффективной мишенью РНК-интерференции [19–21]. У растений и беспозвоночных РНК-интерференция служит, по-видимому, механизмом защиты от вирусов, содержащих в своем геноме длинную двухцепочечную РНК [6]. После проникновения вируса в клетку siRNA появляется в результате нарезания двухцепочечной РНК ферментом дайсером (Dicer), локализованным в цитоплазме [22]. Дайсер режет случайным образом, при этом около 10% обра-

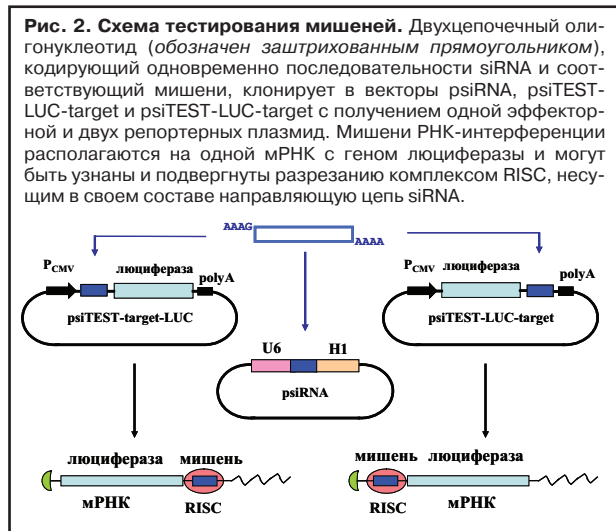
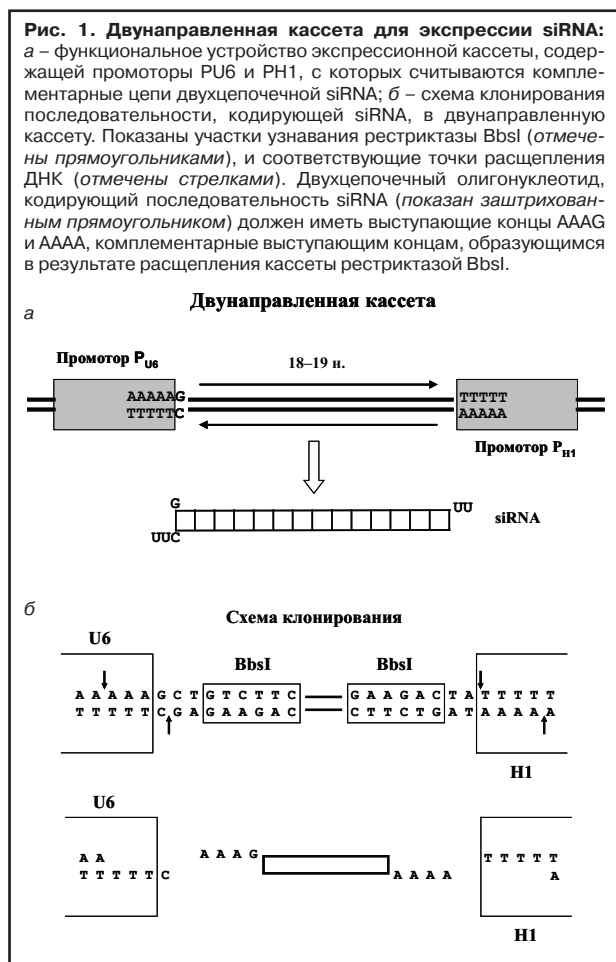
зующихся siRNA оказываются функционально активными и могут использоваться клеткой для эффективного подавления синтеза вирусных белков. При экспериментальном изучении функций генов дрозофилы и круглого червя *Caenorhabditis elegans* РНК-интерференцию инициируют путем введения в клетки длинной двухцепочечной РНК, совпадающей по последовательности с изучаемым геном, и этот способ действительно обеспечивает эффективное и специфичное подавление экспрессии данного гена [6]. У млекопитающих тоже существует дайсер, выполняющий аналогичную функцию образования siRNA [3]. Однако описанный технологический прием оказывается в данном случае непригодным, поскольку под действием длинной двухцепочечной РНК в клетках млекопитающих быстро развивается так называемый интерфероновый ответ, выражающийся в запуске каскада реакций, приводящих к тотальному выключению синтеза белка и в конечном счете к апоптозу [23].

Поэтому задача заблаговременного отбора эффективных мишеней РНК-интерференции при работе с клетками млекопитающих становится весьма актуальной. В настоящее время для решения этой задачи предлагают различные алгоритмы компьютерного поиска [19–21], однако в условиях реальных экспериментов по подавлению экспрессии генов в живых клетках эффективными оказываются не более половины мишеней siRNA, отобранных с помощью наилучших программ. Поскольку эксперименты, связанные с изучением функций индивидуальных генов млекопитающих, являются, как правило, долговременными и дорогостоящими, желательно иметь возможность предварительно проводить дополнительный отбор siRNA в условиях, приближенных к экспериментальным. В данной работе, в частности, подробно описывается разработанная нами система тестирования эффективности мишеней siRNA в клетках человека.

Вторая проблема – доставка siRNA в клетки млекопитающих. В настоящее время широкое распространение получил способ трансфекции клеток химически синтезированными siRNA [14, 24]. Основным преимуществом метода является то, что трансфекции подвергаются все клетки в культуре. Однако эффект подавления недолговечен, поскольку внесенная в клетки siRNA за несколько дней разрушается. Альтернативный способ – доставка siRNA в виде генетического материала, обеспечивающего производство siRNA внутри клеток. Таким генетическим материалом могут быть либо плазмиды, содержащие информацию о синтезе siRNA [14, 24], либо псевдовиральные частицы, несущие кассеты для экспрессии siRNA [11, 14, 16, 25–29]. В обоих случаях в клетках сначала образуется так называемая короткая шпильчатая РНК (small hairpin RNA – shRNA), которую узнает дайсер и, отрезая петлю шпильки, превращает shRNA в полноценную siRNA.

Транзитная трансфекция плазмидами обеспечивает высокоэффективное подавление экспрессии генов, поскольку в трансфицированной клетке одновременно оказывается до 1000 копий плазмиды. Однако плазмидная трансфекция затрагивает не все клетки в культуре, а только часть, иногда небольшую, и, кроме того, эффект, как и в

\*В статье используется англоязычное сокращение термина, поскольку соответствующая русская аббревиатура пока не является общепринятой.



случае синтетических siRNA, является кратковременным, поскольку плазмидная ДНК деградирует через несколько дней после введения в клетки. Существует, правда, небольшая вероятность того, что введенная ДНК встроится в клеточный геном, и тогда путем отбора соответствующих клеточных клонов (стабильные трансфектанты) можно будет получить линию клеток с пониженной экспрессией изучаемого гена. Эффективность собственно РНК-интерференции в этом случае оказывается невысокой, так как в геном встраивается всего несколько плазмидных копий, а из них не все попадают в участки активного хроматина.

Кроме того, для большинства первичных культур метод стабильной трансфекции в принципе неприемлем.

Заражение псевдовirusными частицами – наиболее современный и высокотехнологичный способ доставки генетического материала в клетки. В данной работе для доставки siRNA мы использовали один из вариантов самоинактивирующихся (т.е. неспособных к самостоятельному размножению), псевдотипированных белком оболочки вируса везикулярного стоматита (VSV-G) псевдолентивирусных частиц, созданных на основе HIV (вируса иммунодефицита человека) и модифицированных нами специально для этой цели совместно с американской компанией «System Biosciences» (детальное описание структуры векторов и кассет для экспрессии shRNA, а также протоколы получения псевдолентивирусных частиц находятся на веб-сайте [www.systembio.com](http://www.systembio.com)). Псевдолентивирусные частицы проникают в любые клетки млекопитающих (в том числе неделяющиеся), лентивирусные векторы с той или иной эффективностью встраиваются в геном клеток-реципиентов (до нескольких десятков копий на клетку), что обеспечивает стабильное и долговременное производство в клетке siRNA и, следовательно, возможность наблюдения за функциональными изменениями, возникающими при подавлении соответствующего гена.

Данная работа является частью исследовательской программы, посвященной изучению функций генов сердечно-сосудистой системы с помощью технологии РНК-интерференции.

## Материалы и методы

**Конструирование плазмид.** Эффекторные и репортерные плазмидные конструкции получали с применением стандартных методов генной инженерии. [30]. Вектор psiRNA содержит промоторы гена малой ядерной РНК U6 человека (P<sub>U6</sub>) и гена РНК H1 рибонуклеазы Р человека (P<sub>H1</sub>), расположенные навстречу друг другу и разделенные двумя участками узнавания рестриктазы BbsI. Векторы psiTEST-LUC-target и psiTEST-target-LUC (рис. 1), кодирующие люциферазу светляка под контролем промотора ранних генов цитомегаловируса человека (PCMV), содержат два участка узнавания рестриктазы BsmBI, расположенные непосредственно перед геном люциферазы (psiTEST-target-LUC) или сразу после него (psiTEST-LUC-target). Для клонирования последовательностей, кодирующих siRNA и мишени T1–T20, в вектор psiRNA, расщепленный BbsI, и в векторы psiTEST-LUC-target и psiTEST-target-LUC, расщепленные BsmBI, использовали следующие пары комплементарных олигонуклеотидов (Синтол, РФ): AAAGATCATCCGCAGCAACGCC и AAAAGGCGTTGCTGCGGATGAT (T1), AAAGATGAAGAGACCAAGGGC и AAAAGCCCTTGGTGCTCTTCAT (T2), AAAGAAGATCGAGTGCCGATCA и AAAATGATGCGGCACTCGATCTT (T3), AAAGCGTGATCTTCACCGACAA и AAAATTGTCGGTGAAGATCACG (T4), AAAGCCGCATGACCAACAAGA и AAAATCTTGTTGGTCATGCGGC (T5), AAAGCGCGACGGCGGCTACTAC и AAAAGTAGTAGCCGCGTCGCG (T6), AAAGCATGACCAACAAGATGAA и AAATTCATCTTGTGGTCATG (T7), AAAGAGGACAGCGTGATCTTCA и AAAATGAAGATCACGCTGTCTT (T8), AAAGATCGAGTGCCGCATCACC и AAAAGTGATGCGGCACTCGAT (T9), AAAGAGAAGTAC-

GAGGACGGCGG и AAAACCGCCGTCCTCGTACTTCT (T10), AAAGTAGATGGCGATAACAGTC и AAAAGACTGTTATCGCCATCTA (T11), AAAGTTGTCCGGA-GAAACTGGAC и AAAAGTCCAGTTTCTCCGACAA (T12), AAAGATTACAGTCAAAAGACAGC и AAAAG-STGTCTTTGACCTGAAT (T13), AAAGCAAGAATTGT-GAAGCTCAC и AAAAGTGAGCTTCACATCTTTG (T14), AAAGCATCCGGTACTGGGCAA и AAAATTG-CCCAGTAACCGGATG (T15), AAAGAGTCTC-STTTCCGACATG и AAAACATGTCGGAAAGGAGACT (T16), AAAGGAATGTAGCTGGTTC и AAAAGGAA-ACCAGCTACATTC (T17), AAAGCGAGCACTGACCA-GATAA и AAAATTATCTGGTTCAGTGTCTCG (T18), AA-AGCATTGGGTGGGTAATTC и AAAAGAATTAC-CCACCCAATG (T19), AAAGGTCATAGCTGAGATTCC и AAAAGGAATCTCAGCTATGAC (T20), в которых подчеркнуты выступающие концы. Для получения контрольной плазмиды psiRNA-negative в вектор psiRNA клонировали пару олигонуклеотидов AAAGTACACAAATCAGCGGAGA и AAAATCTC-CGCTGATTGTGTA, кодирующих последовательность из гена белка теплового шока HSP27 крысы. Плазмидную ДНК выделяли из бактерий *E. coli* методом щелочного гидролиза с последующим осаждением полиэтиленгликолем 8000 [30].

Для клонирования последовательностей, кодирующих отобранные shRNA, в лентивирусный вектор pSIH-CPH1 («System Biosciences», США), расщепленный рестриктазами BamHI и EcoRI, использовали следующие пары олигонуклеотидов: GATCCGCGTGATCTTCAACCGACAACACTCGA-GATTGTCCGGTGAAGATCACGCTTTTTGG и AATTC-CAAAAAGCGTGATCTTCAACCGACAATCTC-GAGTGTGTCGGTGAAGATCACGCG (shRNA-T4), GATCCGAGGACAGCGTGATCTTCAACTCGAGAT-GAAGATCACGCTGCTCTTTTTGG и AATTC-CAAAAAGAGGAGCTCCTTTTCCGACATGTCAGTGTGAA-GATCACGCTGCTCTCG (shRNA-T8), GATCCGTA-GATGGCGATAACAGTCCACTCGAGAGACTGTTATCG-CCATCTACTTTTTGG и AATTC-CAAAAAGTAGATG-GCGATAACAGTCTCTCGAGTGGACTGTTATCG-CCATCTACG (shRNA-T11), GATCCGAGTCTCCTTTC-GACATGCACTCGAGACATGTCGGAAAGGA-GACTCTTTTTGG и AATTC-CAAAAAGAGTCTCCTTTC-GACATGTCAGAGTGCATGTCGGAAAGGA-GACTCG (shRNA-T16), GATCCGCGAGCACTGACCA-GATAACACTCGAGATTATCTGGTCAAGT-GCTCGCTTTTTGG и AATTC-CAAAAAGCGAGCACT-GACCAAGATAATCTCGAGTGTATCTG-GTCAGTGGCTCGCG (shRNA-T18), GATCCGGTCA-TAGCTGAGATTCCTCACTCGAGAAGGAATCTCAG-STATGACCTTTTTGG и AATTC-CAAAAAGGTCATAG-CTGAGATTCCTTCTCGAGTGAAGAAATCTCAGCTAT-GACCG (shRNA-T20), GATCCGTCGCTTGTAGT-ACCAACCACTCGAGAGTTGGTACTAGCAACG-CACTTTTTGG и AATTC-CAAAAAGTGCCTTGTAGTA-CCAACCTCTCGAGTGGTGGTACTAGCAACGCACG (shRNA-LUC), в которых подчеркнуты последовательности, кодирующие двухцепочечный участок shRNA. Плазмидную ДНК лентивирусных векторов выделяли из бактерий *E. coli*, как указано ранее, и дополнительно очищали ультрацентрифугированием в градиенте плотности CsCl.

#### Культивирование и трансфекция клеток.

Клетки почки эмбриона человека HEK293 и карциномы легкого человека H1299 (ATCC №CRL-5803) культивировали в среде DMEM, содержащей 10% сыворотки плода коровы, 2 мМ L-глутамин, 100 ЕД./мл пенициллина и 0,1 мг/мл стрептоми-

цина (все реактивы компании «Invitrogen», США). Клетки HEK293, высеянные в лунки 24-луночной плашки (50 000 клеток на лунку), трансфицировали смесью эффекторной и репортерной плазмид с использованием реагента липофектамин 2000 («Invitrogen», США) в соотношении 1 мкг суммарной ДНК и 1 мкл реагента на лунку в соответствии с протоколом производителя.

**Получение псевдолентивирусных частиц и заражение клеток.** Для получения VSV-G псевдотипированных лентивирусных частиц  $15 \times 10^6$  клеток HEK293-TN («System Biosciences», США) трансфицировали 6 мкг ДНК лентивирусного вектора pSIH-CPH1-shRNA с добавлением 30 мкг смеси пакующих плазмид pPACK («System Biosciences», США) при помощи липофектамина 2000. Культуральную среду собирали через 72 ч после трансфекции и осаждали добавлением 40% (w/v) раствора полиэтиленгликоля 8000 («Sigma-Aldrich», США) в фосфатно-солевом буфере, pH 7,4 до конечной концентрации 12% [31]. Осадок, содержащий псевдолентивирусные частицы, суспендировали в одной сотой первоначального объема среды и использовали для заражения клеток H1299 или клеток H1299-CopGFP, стабильно трансфицированных геном зеленого флюоресцентного белка копеподы (CopGFP). Клетки, растущие в лунках 24-луночной плашки (80 000 клеток на лунку), инкубировали 24 ч с различными дозами концентрированного препарата псевдолентивирусных частиц в 0,3 мл свежей культуральной среды в присутствии 5 мкг/мл полибрена («Sigma-Aldrich», США), после чего среду меняли и клетки культивировали в течение 2 нед до проведения анализов.

**RT-PCR и оценка множественности заражения.** РНК из трансдуцированных клеток выделяли с помощью набора «RNeasy Mini Kit» («Qiagen», США). Обратную транскрипцию проводили с использованием oligo(dT)-затравки и обратной транскриптазы «PowerScript» («Clontech», США). Полученную кДНК подвергали полимеразной цепной реакции (ПЦР) с добавлением праймеров CCACGTGATGGGCTACGGCTTC и TCGGTGTTGCT-GTGCAGCTCCT в случае CopGFP и TGGGGACAG-TGTGACCTTACAC и STTTCGCTGGCCAGTTGCT-GTTC в случае CD71 в течение 29 циклов в следующих условиях: денатурация 30 с при 94°C, отжиг 30 с при 60°C, элонгация 30 с при 68°C. Для подтверждения наличия равных количеств кДНК параллельно проводили PCR с добавлением праймеров ACCACAGTCCATGCCATCAC и TCCACCACCT-GTTGCTGTA, служащих для амплификации фрагмента кДНК глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы (GAPDH) человека в течение 23 циклов в аналогичных условиях. Продукты амплификации разделяли в 1,5% агарозном геле в присутствии 1 мкг/мл бромида этидия.

Для оценки множественности заражения (МОИ) трансдуцированных клеток их геномную ДНК, выделенную при помощи набора «QIAamp DNA Mini Kit» («Qiagen», США), подвергали амплификации с добавлением праймеров GGGGACTGGAAG-GGCTAATTC и TGCGTTCGAGAGACTCTGGTT в течение 31 цикла в следующих условиях: денатурация 30 с при 94°C, отжиг 60 с при 60°C, элонгация 45 с при 72°C. Указанные праймеры специфичны исключительно для интегрированных в геном копий лентивирусного вектора pSIH-CPH1-

shRNA. По интенсивности флуоресценции амплифицированного фрагмента ДНК судили о количестве интегрированных в геном копий лентивирусного вектора. В качестве калибровочного стандарта использовали геномную ДНК из субклона клеток H1299, несущих ровно одну интегрированную копию лентивирусного вектора. Для подтверждения наличия равных количеств геномной ДНК параллельно проводили ПЦР с добавлением праймеров, специфичных к гену GAPDH, в течение 25 циклов в аналогичных условиях.

#### Измерение активности люциферазы, относительного содержания *SopGFP* и *CD71*.

Активность люциферазы в клеточных лизатах через 48 ч после трансфекции определяли с использованием набора «Luciferase Reporter Assay Kit» («BD Biosciences», США) и люцинометра LKB 1250 (Швеция) и выражали в относительных единицах активности. Эксперименты проводили в 4 повторностях и вычисляли среднее значение активности люциферазы и стандартное отклонение.

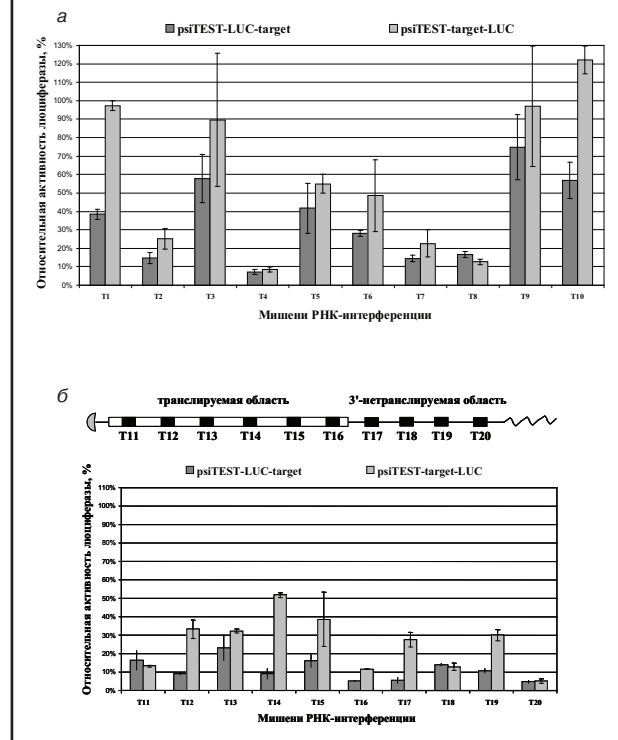
Интенсивность флуоресценции *SopGFP* измеряли с помощью поточного цитофлуориметра FACSCalibur и программного пакета CellQuest («BD Biosciences», США).

Определение содержания *CD71* на поверхности клеток проводили методом поточной цитофлуориметрии с использованием мышиных моноклональных антител к *CD71* человека, конъюгированных с фикоэритрином – PE («BD Biosciences», США). Для проведения вестерн-блоттинга клеточные лизаты разделяли в 10% полиакриламидном геле, переносили на PVDF-мембрану и проявляли при помощи мышиных моноклональных антител к *CD71* человека, кроличьих антимышиных антител, конъюгированных с пероксидазой хрена (все антитела компании «BD Biosciences», США), и хемилюминесцентного субстрата («Amersham», Великобритания). Для подтверждения наличия равного количества белка в клеточных лизатах все образцы были проанализированы на содержание маркерного белка GAPDH, который выявляли с помощью соответствующих антител («Chemicon», США).

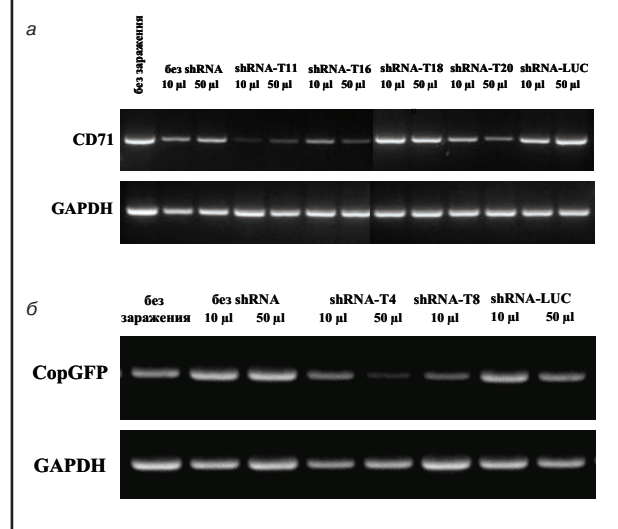
## Результаты

**Создание векторных конструкций для системы тестирования эффективности мишеней РНК-интерференции.** Двухнаправленную кассету, предназначенную для экспрессии siRNA, конструировали следующим образом. Промоторы  $P_{U6}$  и  $P_{H1}$  РНК-полимеразы III размещали навстречу друг другу. При этом 5 нуклеотидов каждого промотора, непосредственно предшествующих точке старта транскрипции, меняли на последовательность AAAAAA. Соответствующая комплементарная последовательность TTTTTT является сигналами терминации транскрипции РНК-полимеразы III. Такая модификация не влияет на работу промоторов  $P_{U6}$  и  $P_{H1}$  [32]. Для обеспечения возможности клонирования последовательностей, кодирующих siRNA, в промежуток между промоторами были внесены два участка узнавания рестриктазы BbsI. Благодаря тому, что рестриктаза BbsI расщепляет ДНК вне участка узнавания, встраиваемая последовательность siRNA располагается строго между точкой старта одного промотора и сигналом терминации, находящимся в другом промоторе. В результате с про-

**Рис. 3. Тестирование мишеней для генов *SopGFP* и *CD71*.** Показана относительная активность люциферазы, произведенной клетками HEK293 после котрансфекции в пропорции 2:1 плазмидами psiRNA и psiTEST-LUC-target (темные столбцы) или psiRNA и psiTEST-target-LUC (светлые столбцы), кодирующими соответствующие siRNA и их мишени: а – тестирование мишеней для гена *SopGFP*; б – тестирование мишеней для гена *CD71*. Показано примерное расположение мишеней на мРНК *CD71*.



**Рис. 4. Уменьшение количества мРНК *SopGFP* и *CD71*, анализ методом RT-PCR:** а – клетки H1299-*SopGFP*, трансдуцированные псевдовидными частицами с shRNA против гена *SopGFP*; б – клетки H1299, трансдуцированные псевдовидными частицами с shRNA против гена *CD71*. Представлены амплифицированные фрагменты кДНК *SopGFP*, *CD71* и GAPDH, разделенные электрофорезом в агарозном геле. Над дорожками указаны типы и дозы псевдовидных частиц.



мотора  $P_{U6}$  считывается пассажирская цепь siRNA, начинающаяся нуклеотидом G и оканчивающаяся двумя неспаренными нуклеотидами TT сигнала терминации, а с промотора  $P_{H1}$  – ей комплементарная, направляющая цепь siRNA, также оканчивающаяся двумя неспаренными нуклеотидами TT. В клетке эти цепи способны образовать двухцепо-



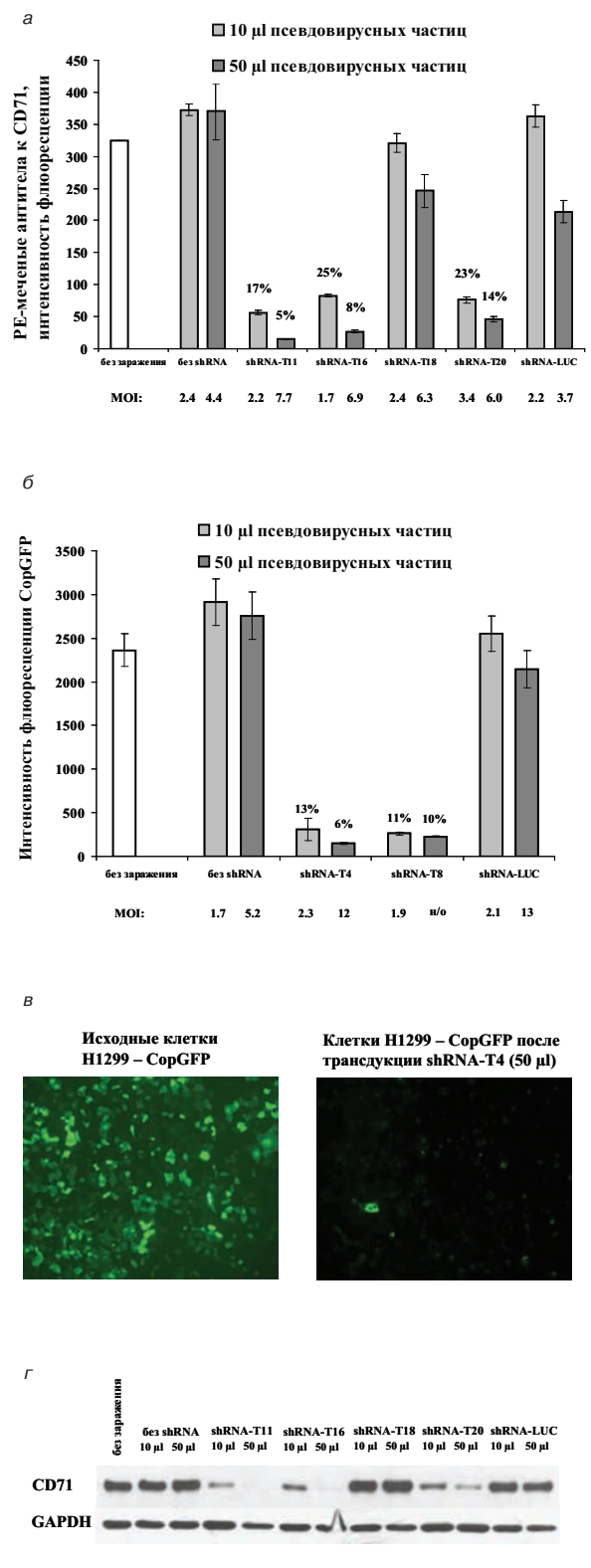
чечную siRNA, пригодную для встраивания в комплекс RISC. Вектор, несущий двунаправленную кассету, был обозначен как psiRNA.

Для получения репортерных векторов в плазмиду, несущую ген люциферазы светляка под контролем промотора  $P_{CMV}$  ранних генов цитомегаловируса, встраивали фрагмент ДНК, содержащий два участка узнавания рестриктазы BsmBI и предназначенный для клонирования последовательности-мишени РНК-интерференции. В векторе psiTEST-target-LUC этот участок располагали между промотором и геном люциферазы, а в векторе psiTEST-LUC-target – сразу после гена люциферазы (см. рис. 1). Рестриктаза BsmBI расщепляет ДНК также вне своего участка узнавания, что дает возможность получать выступающие концы, идентичные выступающим концам в векторе psiRNA после его расщепления рестриктазой BbsI. Благодаря тому что нуклеотидные последовательности siРНК и соответствующей мишени совпадают, один и тот же двухцепочечный олигонуклеотид может быть клонирован в вектор psiRNA с получением эффекторной плазмиды, а также в векторы psiTEST-target-LUC и psiTEST-LUC-target с получением двух репортерных плазмид. В результате клонирования в репортерных плаزمиде появляются мишени РНК-интерференции, которые в клетке после транскрипции окажутся на мРНК люциферазы, причем в первом случае – в 5'-нетранслируемой области, а во втором – в 3'-нетранслируемой области этой мРНК.

В качестве контрольной эффекторной плазмиды, не оказывающей влияния на экспрессию гена люциферазы, использовали плазмиду psiRNA-negative, кодирующую siRNA против мишени в гене белка теплового шока HSP27 крысы. В предварительных экспериментах было показано, что siRNA, соответствующая данной мишени, не вызывает эффекта РНК-интерференции в описываемой системе (данные не приведены). По уровню активности люциферазы в клетках, котрансфицированных эффекторной и одной из репортерных плазмид, можно судить об эффективности той или иной мишени для подавления экспрессии интересующего гена.

**Тестирование мишеней для генов *SorGFP* и *CD71*.** Тестирование потенциальных мишеней РНК-интерференции проводили для гена зеленого флуоресцентного белка копеподы *SorGFP*, не встречающегося у млекопитающих, а также для гена трансферринового рецептора человека *CD71*, представленного практически на всех клетках. Для гена *SorGFP* были выбраны десять 19-нуклеотидных последовательностей, расположенных в транслируемой области *SorGFP* мРНК (мишени T1–T10). Для гена *CD71* были выбраны десять 19-нуклеотидных последовательностей, расположенных как в транслируемой (мишени T11–T16), так и в 3'-нетранслируемой (мишени T17–T20) областях *CD71* мРНК. Для тестирования каждой из 20 потенциальных мишеней было изготовлено по 3 соответствующих этим мишеням плазмиды: по 1 эффекторной и по 2 репортерных. Затем клетки HEK293 были котрансфицированы эффекторной и одной из репортерных плазмид в соотношении 2:1, причем каждая мишень была протестирована в 2 независимых экспериментах – с одной и другой репортерными плазмидами. В каждом эксперименте измеряли

**Рис. 5. Подавление экспрессии генов *SorGFP* и *CD71*:** а – интенсивность флуоресценции зеленого белка в клетках H1299-*SorGFP*, трансдуцированных псевдовидными частицами в дозах 10 ml и 50 ml. Над столбцами указаны остаточные уровни флуоресценции при использовании мишеней РНК-интерференции T4 и T8 (в процентах по отношению к уровню флуоресценции исходных клеток). Внизу диаграммы приведены полученные значения MOI (н/о – значение MOI не определяли); б – микрофотография трансдуцированных клеток H1299-*SorGFP* в сравнении с исходными клетками; в – продукция *CD71* клетками H1299, трансдуцированными псевдовидными частицами в дозах 10 ml и 50 ml. Измерения методом поточной цитофлуориметрии; г – вестерн-блоттинг лизатов трансдуцированных клеток H1299. Расположение дорожек соответствует расположению столбцов на диаграмме в.



**Таблица 1. Эффективность отобранных мишеней РНК-интерференции. Приведены относительные остаточные активности люциферазы при использовании эффекторной плазмиды psiRNA и репортерной плазмиды psiTEST-LUC-target в указанных соотношениях**

Ген	Мишень РНК-интерференции	Отношение эффекторной и репортерной плазмид	Остаточная активность люциферазы, %
Т-кадгерин человека	AATCGCTGTTTATCAACTA	1:10	33
	GGTGAGTGTCTTAGCATAT	1:10	7
Интегрин альфа-М человека (CD11b, ITGAM)	GATGCAGTACTCTGAAGAA	1:10	27
	GTGGTACGAGAGCTGTTTA	1:10	14
	GGAGCTGCCGGTGAATAT	1:10	29
	GTACAAGAGGAGCAACGAA	1:10	27
Интегрин бета-2 человека (CD18)	GGAGCAACGAATTCGACTA	1:10	11
	GTAGGATGGTGAAGACCTA	1:10	20
	GCAACACAGTCCAGATAGT	1:10	15
Поверхностный белок лейкоцитов человека PECAM-1 (CD31)	GTGACGGAAATCCTTCTCTA	1:10	13
	GGACTTATTGCAGTGGTTA	1:10	19
	GTAGTCAATCCTATCAGA	1:10	13
Интегрин бета-3 человека (CD61)	GAGTTGTCTTATCCTTCA	1:10	7
	GGATGCAGTGAATTGTACC	1:10	16
	GGAGTTCGACCCACAATA	1:5	6
Кальдесмон человека	GATACGAGATAGAGGAAAC	1:5	11
	GTCCGAGAATGGAGAATTC	1:5	9
Кальдесмон мыши	GGAGTTTGATCCGACCATA	1:5	9
	GGCGCAGAATGGAGAATTC	1:5	8
Кальдесмон крысы	GGAGTTTGATCCACAATA	1:5	8

активность люциферазы, произведенной трансфицированными клетками, а затем вычисляли относительную активность (в %), принимая за 100% активность люциферазы в клетках, котрансфицированных той же репортерной плазмидой и контрольной эффекторной плазмидой psiRNA-negative. Как видно, в случае мишеней T4, T8, T11, T16, T18 и T20 наблюдается значительный эффект РНК-интерференции: активность люциферазы оказывается подавленной более чем на 80%. Остальные мишени гораздо менее эффективны. Следует отметить высокую степень корреляции между значениями остаточной активности люциферазы при использовании репортерных плазмид с различным расположением фрагментов ДНК, кодирующих мишени (перед геном люциферазы и после него): коэффициент корреляции по всем 20 мишеням составляет 0,89.

**Подавление экспрессии генов SorGFP и CD71 с помощью siRNA, направленных против отобранных мишеней.** Последовательности, кодирующие шпилечные РНК (shRNA), направленные против мишеней T4, T8, T11, T16, T18 и T20, были встроены в лентивирусный вектор pSIN-CPH1 под контроль промотора P<sub>h1</sub>. Концентрированные препараты соответствующих псевдовиральных частиц были использованы для трансдукции клеток легочной карциномы человека H1299 (в случае мишеней гена CD71) или клеток H1299-SorGFP, стабильно продуцирующих зеленый флуоресцентный белок (в случае мишеней гена SorGFP). Через 2 нед после заражения различными дозами псевдовиральных частиц (10 ml и 50 ml) измеряли продукцию клетками мРНК (рис. 4) и белков CD71 или SorGFP (рис. 5), а также проводили PCR-анализ клеточной ДНК для определения множественности заражения (MOI). В качестве контрольной конструкции использовали лентивектор, кодирующий функционально активную shRNA против гена люциферазы (shRNA-LUC). Результаты, представленные на рис. 4 и 5, показывают, что для всех мишеней, за исключением T18, имеет место зависимое от дозы подавление экспрессии гена, достигающее при высоких MOI уровня 95%. При подавлении экс-

прессии CD71 с использованием мишеней T11, T16 и T20 отмечено существенное замедление роста клеток и снижение их жизнеспособности (данные не приведены).

**Отбор эффективных мишеней для подавления экспрессии других генов.** Эффективные мишени РНК-интерференции для генов Т-кадгерина, интегрин альфа-М (CD11b, ITGAM), интегрин бета-2 (CD18), поверхностного белка лейкоцитов PECAM-1 (CD31), интегрин бета-3 (CD61), кальдесмона человека, мыши и крысы отбирали с помощью разработанной нами системы тестирования. Как уже было сказано, при тестировании мишеней для генов SorGFP и CD71 мы обнаружили высокую степень корреляции между значениями остаточной активности люциферазы при использовании репортерных плазмид с расположением мишени перед геном люциферазы и после него. Поэтому во всех последующих экспериментах тестирование проводили только с одной репортерной плазмидой, а именно с той, в которой фрагмент ДНК, кодирующий мишень, находится после гена люциферазы. Были проведены также дополнительные опыты по оптимизации соотношения эффекторной и репортерной плазмид при котрансфекции (данные не показаны). Оказалось, что уменьшение количества эффекторной плазмиды позволяет отбирать наиболее эффективные мишени РНК-интерференции. В табл. 1 приведены последовательности отобранных мишеней с указанием степени подавления активности репортерного белка люциферазы. Некоторые из этих мишеней уже были использованы для подавления экспрессии соответствующих генов при помощи лентивирусной трансдукции в различных клеточных моделях. Функциональные эффекты, наблюдаемые в результате подавления Т-кадгерина и кальдесмона человека, подробно описанные в других публикациях [33, 34], приведены в табл. 2.

### Обсуждение

Технология РНК-интерференции к настоящему времени получила чрезвычайно широкое распространение в фундаментальных и прикладных исследованиях. Ее используют для подавления экс-

Таблица 2. Гены, экспрессию которых удалось подавить с помощью siРНК

Ген	Клетки	Степень подавления, %	Функциональный эффект	Ссылка
T-кадгерин человека	HUVEC (эндотелий пупочной вены человека)	80	Снижение проницаемости эндотелия	[33]
Кальдесмон человека	HeLa 1469	90	Нарушение формирования актиновых фибрилл, ускорение миграции клеток в зону поврежденного монослоя	[34]

прессии практически любых генов с целью изучения их функций, а также для поиска выбора объекта терапевтического воздействия на молекулярном уровне и подтверждения правильности такого выбора. Делаются попытки применить данную технологию для лечения прежде всего онкологических и вирусных заболеваний.

Существуют различные алгоритмы компьютерного поиска последовательностей, потенциально способных служить мишенями РНК-интерференции [19–21]. Как правило, дальнейшая проверка показывает, что более 50% найденных таким путем мишеней оказываются неэффективными и подлежат отбраковке. В то же время непосредственная проверка группы потенциальных мишеней в прямых экспериментах по подавлению экспрессии гена часто оказывается трудоемкой и дорогостоящей, так как требует привлечения техники рибонуклеотидного синтеза либо лентивирусной трансдукции, а также анализа методами real-time PCR или количественной иммуноцитохимии. Поэтому универсальная технология предварительного отбора мишеней в несложных экспериментах по транзитной трансфекции и измерению активности репортерного белка может оказаться полезной во многих исследованиях, базирующихся на применении технологии РНК-интерференции.

В немногочисленных коммерчески доступных системах тестирования мишеней РНК-интерференции предлагается использовать векторы, сконструированные таким образом, что ген, экспрессию которого планируется подавить, и ген какого-либо репортерного белка должны транскрибироваться с образованием одной общей мРНК. Таким образом, необходимо иметь в наличии полноразмерную кДНК исследуемого гена, что иногда бывает затруднительно, в особенности при скринингах, охватывающих большие массивы генов. Кроме того, присутствие последовательности, соответствующей исследуемому гену, на мРНК репортерного гена может существенно снижать уровень экспрессии репортера из-за сигналов деградации РНК, встречающихся на многих природных мРНК [35]. Предложенная нами тест-система лишена упомянутых недостатков, поскольку оперирует лишь с короткими последовательностями-мишенями, легко получаемыми методами олигонуклеотидного синтеза. При этом экономичность тестирования достигается за счет того, что одна и та же пара комплементарных олигонуклеотидов используется как для кодирования мишеней в репортерных векторах, так и для кодирования siRNA в двунаправленной кассете эффекторного вектора. Применение двунаправленной кассеты для экспрессии siRNA было описано ранее в работе L.Zheng и соавт. [36]. В нашей работе продемонстрирована возможность тестирования мишеней, изолированных от своего окружения и помещенных на мРНК репор-

терного гена люциферазы. Для проведения отбора эффективных мишеней данным методом не нужна клонированная копия кДНК исследуемого гена, достаточно иметь информацию о ее нуклеотидной последовательности, представленную в базах данных национального центра биотехнологической информации США (NCBI).

Известно, что на эффективность механизма РНК-интерференции может влиять не только нуклеотидная последовательность конкретной мишени, но также ее доступность для узнавания комплексом RISC, что зависит от местоположения данной мишени на матричной РНК и от конформации этой РНК [37, 38]. В наших экспериментах были использованы два различных положения чужеродных изолированных мишеней на мРНК репортерного гена люциферазы: в области предшествующего инициирования трансляции и после стоп-кодона. Высокий уровень корреляции полученных результатов ( $r=0,89$ ) свидетельствует в пользу предположения, что фактор положения мишени статистически не столь значим для ее успешной работы. На это же указывает факт подтверждения (в 5 случаях из 6) эффективности отобранных мишеней в прямых экспериментах по подавлению экспрессии соответствующих природных генов. С другой стороны, неудача с мишенью T18 может как раз объясняться недоступностью данной последовательности на мРНК CD71 вследствие локальной вторичной структуры или других особенностей конформации РНК.

Лентивирусная трансдукция является распространенным методом переноса чужеродных генов в клетки млекопитающих. Она применима в сложных случаях первичных клеточных культур и на уровне целых органов и тканей, поскольку позволяет доставить трансген в неделящиеся клетки [39]. Как показали эксперименты по подавлению генов SorGFP и CD71 в культуре клеток H1299, из 6 отобранных мишеней 5 способны опосредовать значительное подавление экспрессии соответствующего гена. При этом степень подавления зависит от количества копий лентивирусного вектора, вошедших в клеточный генотип, т.е. от параметра MOI. Чтобы ослабить экспрессию гена в 4–6 раз, достаточно ввести в генотип одну-две копии лентивектора. Чтобы добиться подавления в 10–15 раз, необходимо обеспечить порядка 10 копий вошедшего лентивектора на клетку. Эти данные в целом согласуются с аналогичными результатами, полученными другими авторами [27–29]. Таким образом, предложенная система тестирования позволяет отбирать работающие мишени с высокой степенью надежности.

**Исследование поддержано грантом CRDF #RUB1-576-MO-04 (2005-2006) «A New siRNA Expression System for Functional Genomics».**

## Литература

1. Fire F, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998; 391: 806–11.
2. Кузнецов В.В. РНК-интерференция. Использование метода для создания нокаутных организмов и клеточных линий. *Биохимия*. 2003; 68: 1301–17.
3. Cartbew RW, Sontheimer EJ. Origins and mechanisms of miRNA and siRNA. *Cell* 2009; 136: 642–55.
4. Elbasbir SM, Harborth J, Lendeckel W et al. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature* 2001; 411: 494–8.
5. Caplen NJ, Parrish B, Imani F et al. Specific inhibition of gene expression by small double-stranded RNAs in invertebrate and vertebrate systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 9742–7.
6. Hannon GJ. RNA interference. *Nature* 2002; 418: 244–51.
7. Hammond SM, Bernstein E, Beach D, Hannon GJ. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells. *Nature* 2000; 404: 293–6.
8. Hannon GJ, Rossi JJ. Unlocking the potential of the human genome with RNA interference. *Nature* 2004; 431: 371–8.
9. Zhang J, Hua ZC. Targeted gene silencing by small interfering RNA-based knock-down technology. *Curr Pharm Biotechnol* 2004; 5: 1–7.
10. Ito M, Kawano K, Miyagishi M, Taira K. Genome-wide application of RNAi to the discovery of potential drug targets. *FEBS Letters* 2005; 579: 5988–95.
11. Moffat J, Grueneberg DA, Yang X et al. A lentiviral RNAi library for human and mouse genes applied to an arrayed viral high-content screen. *Cell* 2006; 124: 1283–98.
12. Fuchs U, Borkhardt A. The application of siRNA technology to cancer biology discovery. *Advan Cancer Res* 2006; 96: 75–102.
13. Takeshita F, Ochiya T. Therapeutic potential of RNA interference against cancer. *Cancer Sci* 2006; 97: 689–96.
14. Lee S-K, Kumar P. Conditional RNAi: Toward a silent gene therapy. *Advan Drug Deliv Rev* 2009; 61: 650–64.
15. Dykxboom DM, Lieberman J. Knocking down disease with siRNAs. *Cell* 2006; 126: 231–5.
16. Manjunath N, Wu H, Sabramanya S, Shankar P. Lentiviral delivery of short hairpin RNAs. *Advan Drug Deliv Rev* 2009; 61: 732–45.
17. Aagaard L, Rossi JJ. RNAi therapeutics: Principles, prospects and challenges. *Advan Drug Deliv Rev* 2007; 59: 75–86.
18. Rao DD, Vorbies JS, Senzer N, Nemunaitis J. siRNA vs. shRNA: Similarities and differences. *Advan Drug Deliv Rev* 2009; 61: 746–59.
19. Khvorova A, Reynolds A, Jayasena SD. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. *Cell* 2003; 115: 209–16.
20. Huesken D, Lange J, Mickanin C et al. Design of a genome-wide siRNA library using an artificial neural network. *Nat Biotechnol* 2005; 23: 995–1001.
21. Kumar R, Conklin DS, Mittal V. High-throughput selection of effective RNAi probes for gene silencing. *Genome Res* 2003; 13: 2333–40.
22. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* 2001; 409: 363–66.
23. Gantier MP, Williams BRG. The response of mammalian cells to double-stranded RNA. *Cytokine & Growth Factor Rev* 2007; 18: 363–71.
24. Amarzguoui M, Rossi JJ, Kim D. Approaches for chemically synthesized siRNA and vector-mediated RNAi. *FEBS Letters* 2005; 579: 5974–81.
25. Miest T, Saenz D, Meehan A et al. Intensive RNAi with lentiviral vectors in mammalian cells. *Methods* 2009; 47: 298–303.
26. Frka K, Facchinello N, Del Vecchio C et al. Lentiviral-mediated RNAi in vivo silencing of *Col6a1*, a gene with complex tissue specific expression pattern. *J Biotechnol* 2009; 141: 8–17.
27. Root DE, Hacohen N, Hahn WC et al. Genome-scale loss-of-function screening with a lentiviral RNAi library. *Nat Methods* 2006; 3: 715–9.
28. Bernards R, Thijn R, Brummelkamp TR, Beijersbergen RL. shRNA libraries and their use in cancer genetic. *Nat Methods* 2006; 3: 701–6.
29. Liu L, Zhang Q, Zhang Y et al. Lentivirus-mediated silencing of *tiam1* gene influences multiple functions of a human colorectal cancer cell line. *Neoplasia* 2006; 8: 917–24.
30. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning*. 2nd ed. New York, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
31. Sauter SL, Gasmi M. FIV Vector Systems. *Somat Cell Mol Genet* 2001; 26: 99–129.
32. Myslinski E, Ame I JC, Krol A et al. An unusually compact external promoter for RNA polymerase III transcription of the human H1RNA gene. *Nucleic Acids Res* 2001; 29: 2502–9.
33. Семина Е.В., Рубина КА, Руткевич П.Н. и др. Т-кадгерин активирован *Rac1* и *Cdc42* и влияет на проницаемость эндотелия. *Биохимия*. 2009; 74: 448–58.
34. Кудряшова Т.В., Руткевич П.Н., Шевелев А.Я. и др. Кальдесмон изменяет структуру актина на лидирующем крае и подавляет миграцию клеток. *Биофизика*. 2008; 53: 978–85.
35. Barreau C, Paillard L, Osborne HB. AU-rich elements and associated factors: are there unifying principles? *Nucleic Acids Res* 2005; 33: 7138–50.
36. Zheng L, Liu L, Batalov S et al. An approach to genomewide screens of expressed small interfering RNAs in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 135–40.
37. Ameres SL, Martinez J, Schroeder R. Molecular Basis for Target RNA Recognition and Cleavage by Human RISC. *Cell* 2007; 130: 101–12.
38. Tafer H, Ameres SL, Obernosterer G et al. The impact of target site accessibility on the design of effective siRNAs. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 578–83.
39. Salmon P, Kindler V, Ducrey O et al. High-level transgene expression in human hematopoietic progenitors and differentiated blood lineages after transduction with improved lentiviral vectors. *Blood* 2000; 96: 3392–8.

\* —————

С.Н.Павличенко, Э.В.Кудрявцева, Н.Е.Арзамасцева, Е.В.Арзамасцев

## Особенности фармакологического и токсического действия $\beta$ -адреноблокаторов при экспериментальном стрептозотоциновом сахарном диабете

Институт экспериментальной кардиологии РКНПК Росмедтехнологий

### Резюме

**Цель исследования.** Изучение в эксперименте на животных с инсулинозависимым сахарным диабетом (ИЗСД) некоторых особенностей фармакологического действия и токсичности представителей различных подгрупп  $\beta$ -адреноблокаторов ( $\beta$ -АБ).

**Материалы и методы.** Изучение фармакологического действия и токсичности соталола, пропранолола, метопролола и атенолола проводили на интактных и со стрептозотоциновым диабетом мышцах линии BALB/c и крысах линий Wistar и SHR. Модель ИЗСД воспроизводили однократным внутривентральным введением стрептозотина крысам Wistar по 60 мг/кг, крысам SHR по 45 мг/кг и мышам BALB/c по 250 мг/кг.

**Результаты.** На модели ИЗСД у мышей установлено увеличение токсичности соталола, а также замедление в 1,6–3,3 раза скорости элиминации из организма всех изучаемых  $\beta$ -АБ. Атенолол и соталол вызывали нарушение толерантности к глюкозе. Пропранолол при длительном введении животным с ИЗСД увеличивал уровень глюкозы и гликозилированного гемоглобина в крови, негативно влиял на микроциркуляцию и угнетал выделительную функцию почек. Установлено усиление и пролонгирование гипотензивного действия всех изучаемых  $\beta$ -АБ у крыс SHR. На фоне развития ИЗСД повышалась чувствительность миокарда к аритмогенному действию аконитина, эффективность антиаритмического действия соталола и метопролола несколько возросла.

**Заключение.** Выявленные особенности фармакологического и токсического действия  $\beta$ -АБ следует учитывать при выборе схемы фармакотерапии для больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями и сопутствующим сахарным диабетом.

**Ключевые слова:**  $\beta$ -адреноблокаторы, стрептозотин, сахарный диабет.

S.N. Pavlichenko, E.V. Kudryavtseva, N.E. Arzamastseva, E.V. Arzamastsev

### The pharmacological and toxic effects of $\beta$ -adrenoblockers in streptozocin-induced experimental diabetes mellitus

Institute of Experimental Cardiology, Russian Cardiology Research-and-Production Complex, Russian Agency for Medical Technologies

### Summary

**Aim.** To study some features of the pharmacological and toxic effects of representatives from different subgroups of  $\beta$ -adrenoblockers ( $\beta$ -AB) in an experiment on animals with insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM).

**Materials and methods.** The pharmacological effect and toxicity of sotalol, propranolol, metoprolol, and atenolol were studied in intact and streptozocin-induced diabetes BALB/c mice and Wistar and SHR rats. The model of IDDM was simulated via single intraperitoneal injection of streptozocin in dose of 60, 45, and 250 mg/kg in the Wistar and SHR rats and BALB/c mice, respectively.

**Results.** The murine model of IDDM showed an increase in the toxicity of sotalol and a 1.6–3.3-fold reduction in the elimination rate of all the test  $\beta$ -ABs. Atenolol and sotalol induced glucose intolerance. When long used in IDDM animals, propranolol elevated the blood levels of glucose and glycated hemoglobin, negatively affected microcirculation, and suppressed renal excretory function. All the test  $\beta$ -ABs were found to have a potentiated and prolonged antihypertensive effect in the SHR rats. In evolving IDDM, there was a rise in myocardial sensitivity to the arrhythmogenic activity of aconitine; the effectiveness of sotalol and metoprolol in preventing arrhythmia slightly increased.

**Conclusion.** The found features of the pharmacological and toxic effects of  $\beta$ -ABs should be kept in mind while choosing a pharmacotherapy regimen for patients with cardiovascular diseases concurrent with diabetes mellitus.

**Keywords:**  $\beta$ -adrenoblockers, coronary stenting, streptozocin, diabetes mellitus.

### Сведения об авторах:

Павличенко Светлана Николаевна – канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. лекарственной токсикологии ИЭК РКНПК, тел.: 414-69-36

Кудрявцева Эльвира Валерьевна: науч. сотр. лаб. лекарственной токсикологии ИЭК РКНПК, тел.: 414-69-36

Арзамасцева Наталья Евгеньевна – канд. мед. наук, мл. науч. сотр. диспансерно-диагностического отделения РКНПК

Арзамасцев Евгений Вениаминович – д-р мед. наук, проф., рук. лаб. лекарственной токсикологии ИЭК РКНПК, тел.: 414-69-31

**В**ысокая распространенность сахарного диабета (СД) признана неинфекционной эпидемией и представляет собой серьезную медико-социальную проблему. Это обусловлено тяжестью его течения, большим количеством осложнений [1, 2]. По данным ВОЗ, в настоящее время в мире насчитываются более 220 млн больных СД [3], 10–20% из них больные СД типа 1 [4]. В 2005 г. СД стал причиной смерти 1,1 млн человек по всему миру [3], а в период с 2005 по 2030 г. эксперты ВОЗ ожидают удвоение смертности от этого заболевания [5, 6].

Причинами смерти больных СД являются осложнения, связанные с поражением сердечно-сосудистой системы (при ишемической болезни сердца – ИБС, инфаркте миокарда, артериальной гипертензии – АГ, нарушениях сердечного ритма – НСР и проводимости, хронической сердечной недостаточности – ХСН, гангрене нижних конечностей), а также с поражением почек, при диабетической нефропатии и др. [9, 10].

$\beta$ -Адреноблокаторы ( $\beta$ -АБ), вошедшие в клиническую практику около 50 лет тому назад в качестве средства для лечения ИБС, АГ и НСР, в настоящее время применяют и для лечения инфаркта миокарда, вторичной его профилактики, а также для лечения ХСН [11, 12].

Препараты данного класса фармакологических веществ дают побочные эффекты при наличии у больных сопутствующего СД; они могут маскировать симптомы гипогликемии, снижать чувствительность к инсулину, усугублять дислипидемию [13].

**Цель исследования** – сравнительное изучение в эксперименте на лабораторных животных с инсулинозависимым СД (ИЗСД) особенностей фармакологического действия и проявления токсичности типичных представителей различных подгрупп  $\beta$ -АБ.

### Материалы и методы

Исследования выполняли на самцах мышей линии BALB/c, крысах линии Wistar и самцах крыс линии SHR. Все манипуляции, кроме исследования острой токсичности и параметров токсикокинетики, причиняющие боль, проводили при внутрибрюшном наркозе – уретан в дозе 800 мг/кг («ICN Biomedicals Inc.», США). Применяли лекарственные средства, зарегистрированные в России:

1. Селективный гидрофильный  $\beta_1$ -АБ атенолол («Nycomed», Дания).
2. Неселективный липофильный  $\beta$ -АБ пропранолол (анаприлин) («Акрихин», Россия).
3. Селективный липофильный  $\beta_1$ -АБ метопролола тартрат (вазокардин; «Словакофарма», Словакия).
4. Неселективный гидрофильный  $\beta$ -АБ соталол (соталекс; «Bristol-Myers Squibb», Франция).

Таблетки измельчали в фарфоровой ступке, из порошков готовили водные суспензии, которые вводили в желудок лабораторным животным с помощью металлического зонда.

Модель ИЗСД воспроизводили однократным внутрибрюшным введением стрептозотоцина – СТЦ («ICN Biomedicals Inc.», США) крысам Wistar по 60 мг/кг, крысам SHR по 45 мг/кг и мышам BALB/c по 250 мг/кг (Current test. Protocols Streptozotocin Diabetes). Регистрировали общее со-

стояние, динамику массы тела животных, уровень глюкозы в цельной крови. Для характеристики СД у крыс однократно до начала эксперимента, а также в разные сроки развития СД исследовали морфологический состав периферической крови (количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов), уровень гемоглобина, биохимические показатели: уровень общего белка, холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), билирубина, глюкозы, мочевины, креатинина; определяли активность ферментов сыворотки крови: щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аспартат- и аланинаминотрансферазы (АсАТ и АлАТ).

Определение параметров токсичности изучаемых веществ при однократном введении животным проводили с использованием двухэтапного метода, на I этапе устанавливали ориентировочные средние смертельные дозы на малом количестве животных методом Deichman и Le Blanc, на II этапе – точные показатели ЛД<sub>10</sub>, ЛД<sub>16</sub>, ЛД<sub>50</sub>, ЛД<sub>84</sub> и ЛД<sub>95</sub> методом пробит-анализа по J.Litchfield и F.Wilcoxon. При исследовании некоторых параметров токсикокинетики применяли метод элиминации токсического эффекта, основанный на ослаблении токсического действия препаратов со временем при их повторном введении. Для определения уровня гликозилированного гемоглобина (HbA<sub>1c</sub>) при развитии ИЗСД применяли гликогемтест, основанный на аффинной хроматографии гликозилированной и негликозилированной фракций гемоглобина в гемолизате крови.

Исследование влияния  $\beta$ -АБ на микроциркуляцию в органах и тканях оценивали по изменению накопления красителя нейтрального красного («ICN Biomedicals Inc.», США), который в виде 0,25% раствора вводили внутривенно (в/в) крысам в дозе 37,5 мг/кг.

Исследование влияния  $\beta$ -АБ на уровень систолического артериального давления (САД) у бодрствующих интактных и с ИЗСД крыс линии SHR проводили плетизмографическим методом на хвостовой артерии на установке «Beckman R 711» (США) и тонометром «Infraton» Tensiomat FIB 4 фирмы «Boucke» с помощью программы «Origin 5.0 Professional».

Записывали электрокардиограмму – ЭКГ (скорость записи 25 мм/с) во II стандартном отведении с помощью электрокардиографа ЭК1Т-03М2 (Россия) до начала опыта в различные периоды развития СД и введения препаратов.

Оценку чувствительности миокарда к аритмиям на фоне применения  $\beta$ -АБ у интактных животных и с ИЗСД проводили с использованием аконитина, который вводили в/в в дозе 25 мкг/кг в виде 0,005% раствора.

Функциональное состояние почек при действии  $\beta$ -АБ у крыс интактных и крыс с ИЗСД оценивали в условиях водной нагрузки при (в/ж) введении водопроводной воды с температурой 25°C в объеме 5% от массы тела животного. При биохимическом исследовании мочи (рН, удельный вес, белок, глюкоза, уробилиноген, билирубин, кетоны и скрытая кровь) у интактных и с ИЗСД крыс были использованы диагностические полоски CYBOW TM 8SG фирмы «Диакон» (Корея).

После окончания эксперимента проводили эвтаназию крыс передозировкой диэтилового эфира для патоморфологических исследований внутренних органов и тканей животных. Для патогии-

Таблица 1. Показатели ЛД<sub>50</sub> β-АБ при однократном в/ж введении интактным и с ИЗСД мышам линии BALB/c

Исследуемый препарат	Показатели ЛД <sub>50</sub> ±m, мг/кг	
	интактные мыши	мыши с диабетом
Атенолол	3500±130	3300±94
Пропранолол	335±30	325±25
Метопролол	1340±104	1610±201
Соталол	12300±707	8600±375*

Примечание. См. здесь и в табл. 2: \*статистически достоверные отличия (при  $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой; \*\*при  $p < 0,001$ .

стологических исследований образцы свежей ткани подвергали криостатированию на замораживающем микротоме «Cryo-Cut» (США) или фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина для получения окрашенных гематоксилин-эозином срезов.

Достоверность результатов при проведении всех экспериментальных исследований обеспечивалась достаточным количеством животных в контрольных и подопытных группах и подтверждалась статистически при помощи критерия t Стьюдента ( $p < 0,05$ ).

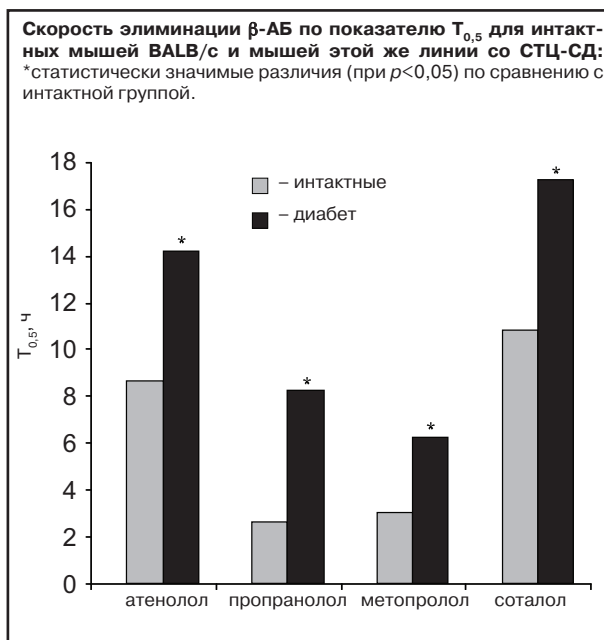
## Результаты

### Характеристика экспериментальной модели диабета у мышей линии BALB/c и крыс линии Wistar

Диабетоподобный синдром у животных может быть индуцирован различными воздействиями: панкреатэктомией, химической деструкцией β-клеток, вирусной инфекцией, антагонистами инсулина, а также с помощью иммунологических механизмов, инактивирующих инсулин или повреждающих панкреатические островки [14, 15]. Химическими агентами, оказывающими прямое токсическое действие на β-клетки островков Лангерганса, являются пентамидин, аллоксан, СТЦ, diazoxid, N-нитрозосоединения [16]. Парентеральное введение лабораторным животным СТЦ необратимо повреждает β-клетки поджелудочной железы, что приводит к снижению уровней плазменного и панкреатического инсулина, повышению уровня глюкозы в крови и развитию СД [17]. Диабетогенное действие СТЦ зависит от его дозы, вида и пола животных (самцы более чувствительны к его повреждающему действию) [18].

Оценку тяжести развития СД у мышей в зависимости от дозы СТЦ провели на 70 мышках линии BALB/c (самцы, масса тела 18–20 г), которых разделили на 7 групп (по 10 животных в каждой): 1-я группа – контроль, животным 2–7-й групп (в/б) вводили СТЦ в дозах 60, 80, 100, 120, 150 и 250 мг/кг соответственно. На протяжении 4 нед еженедельно натошак определяли уровень глюкозы в цельной крови с помощью тест-полосок на глюкометре «Asc-Chek Active» фирмы «Roche» (Германия). Под влиянием однократного в/б введения СТЦ мышам в дозе 250 мг/кг у них развивался тяжелый СД, сопровождавшийся нарушением общего состояния животных (вялость, заторможенность, адинамия), полидипсией, полиурией, а также стойкой гипергликемией, достигавшей 23,8±0,9 ммоль/л на 4-й неделе эксперимента (при уровне глюкозы в крови у контрольных животных 4,7±0,8 ммоль/л). летальность мышам к концу 2-й и 4-й недель эксперимента составляла 20 и 40% соответственно.

Изучение особенностей моделирования ИЗСД у крыс Wistar провели на 50 животных (самцы, мас-



са тела 200–220 г): 1-я группа (25 животных) – контроль, 2-я группа – СД. Развитие СД у крыс, вызванное введением СТЦ в дозе 60 мг/кг, характеризовалось нарушением общего состояния и поведения животных, снижением массы тела, полидипсией, полиурией, полифагией, выраженной гипергликемией, достигавшей 20,2±1,0 ммоль/л на 4-й неделе эксперимента (при уровне глюкозы в крови у контрольных животных 4,5±0,8 ммоль/л). Развитие ИЗСД у крыс сопровождалось также развитием лейкопении, тромбоцитопении и гипохромной анемии. Отмечено увеличение активности ЩФ, ЛДГ, АлАТ и АсАТ, повышение уровня общего ХС, ТГ и общего билирубина, мочевины и креатинина, а также НВА<sub>1с</sub> (в 3,2 раза). При биохимическом исследовании мочи у крыс с ИЗСД обнаружили высокий уровень глюкозы, снижение удельного веса, следы крови, белка и кетонов.

При патогистологическом исследовании поджелудочной железы подопытных крыс установлены дегенеративные и деструктивные изменения ее ткани, особенно эндокринной части – островков Лангерганса. Уже в 1-ю неделю заболевания в поджелудочной железе отмечены некротические изменения β-клеток, которые усилились ко 2-й неделе. На 3-й неделе заболевания β-клетки полностью дегенерировали и не выявлялись при микроскопическом исследовании. При патогистологическом исследовании сердечной мышцы, печени и почек при развитии СТЦ-СД были выявлены компенсаторно-приспособительные, а в более поздние сроки дегенеративно-деструктивные изменения.

**Таблица 2. Содержание нейтрального красного (в мкг) в навесках органов (массой по 200 мг) крыс Wistar при в/ж введении β-АБ на 4-й неделе СТЦ-СД**

Орган	Диабет контроль	Атенолол 15 мг/кг	Пропранолол 23 мг/кг	Метопролол 10 мг/кг	Соталол 15 мг/кг
Печень	4,76±0,14	5,03±0,15	4,8±0,15	5,18±0,24	5,16±0,13
Селезенка	4,12±0,30	4,0±0,08	4,0±0,16	4,7±0,19	4,74±0,14
Почки	6,44±0,3	6,44±0,21	5,48±0,26*	6,82±0,23	7,0±0,45
Надпочечники	3,46±0,05	3,06±0,08*	3,19±0,1*	3,14±0,05*	2,34±0,07**
Легкие	3,96±0,13	3,59±0,17	2,1±0,1**	2,48±0,11**	3,32±0,19*
Панкреас	1,16±0,09	1,05±0,09	0,88±0,09	1,22±0,15	1,28±0,2
Миокард	0,9±0,14	1,1±0,14	1,2±0,07*	1,32±0,18	1,46±0,06
Мышца бедра	0,79±0,09	0,79±0,12	0,75±0,11	0,79±0,07	0,8±0,13

### Изучение токсичности и параметров токсикокинетики β-АБ на интактных и с ИЗСД мышцах линии BALB/c

Однократное в/ж введение атенолола, пропранолола, метопролола и соталолола интактным мышам BALB/c и мышам этой же линии на 2-й неделе СТЦ-СД привело к увеличению токсичности (по показателям ЛД<sub>50</sub>) соталолола на 30% у животных с СД по сравнению с его токсичностью у контрольных мышей. Чувствительность мышей с СД к токсическому действию атенолола, пропранолола и метопролола не изменялась (табл. 1).

При в/ж введении β-АБ интактным и с ИЗСД мышам BALB/c на 2-й неделе заболевания наступало существенное замедление скорости их выведения из организма мышей с ИЗСД. При этом периоды их полувыведения (T<sub>0,5</sub> по снижению токсического эффекта) из организма мышей линии BALB/c с ИЗСД по сравнению с интактными животными этой линии увеличились для атенолола, пропранолола, метопролола и соталолола соответственно в 1,7; 3,3; 2,1; 1,6 раза (см. рисунок).

Выявленное замедление скорости элиминации β-АБ из организма мышей с СД, по-видимому, связано с нарушением процессов их метаболизма и обезвреживания в печени и почках, обусловленных развитием ИЗСД.

### Изучение влияния β-АБ на уровень глюкозы в крови интактных и с ИЗСД крыс линии Wistar

При однократном в/ж введении десятикратных максимальных разовых доз β-АБ (для человека) интактным крысам Wistar влияния на спонтанный уровень глюкозы в крови животных на протяжении 4 ч наблюдения не отмечено. При проведении пероральной пробы на толерантность к глюкозе на интактных крысах Wistar гидрофильные β-АБ атенолол и соталол в дозах 30 мг/кг снижали толерантность. Начиная с 45 и до 120 мин после в/ж введения отмечено достоверное повышение уровня глюкозы в крови по сравнению с ее уровнем в контрольной группе. Липофильные β-АБ метопролол и пропранолол в дозах 20 и 46 мг/кг при однократном в/ж введении не влияли на толерантность.

При пероральной нагрузке глюкозой все изучаемые препараты в указанных выше дозах при однократном в/ж введении интактным крысам замедляли всасывание глюкозы из кишечника. При этом атенолол и метопролол оказывали более выраженное и длительное тормозящее влияние на резорбцию глюкозы из кишечника, сдерживая повышение уровня глюкозы в крови по сравнению с контрольным уровнем даже через 4 ч после нагрузки глюкозой (контроль – 6,3±0,4 ммоль/л; атенолол – 5,1±0,1 ммоль/л; метопролол – 4,8±0,3 ммоль/л).

Ежедневное в течение 3 нед в/ж введение атенолола, пропранолола, метопролола и соталолола в дозах 30, 46, 20 и 30 мг/кг соответственно на фоне развивающегося СД не предотвращало развитие гипергликемии, вызванной введением СТЦ. Под влиянием атенолола, метопролола и соталолола не наблюдали достоверного повышения уровня глюкозы в крови подопытных животных по сравнению с контрольными животными с ИЗСД. В то же время длительное введение пропранолола в испытанной дозе 46 мг/кг вызывало достоверное повышение глюкозы в крови подопытных крыс на 4-й неделе заболевания на 17% ( $p<0,05$ ) по сравнению с ее уровнями у контрольных животных с СД.

Предпринятое в конце 4-й недели экспериментального СД определение уровня HbA<sub>1c</sub> в крови животных свидетельствовало о его увеличении с 2,12±0,08 до 6,72±0,24% (в 3,2 раза). Ежедневное в течение 3 нед в/ж введение атенолола, метопролола и соталолола в указанных выше дозах крысам с ИЗСД не оказывало достоверного влияния на уровень HbA<sub>1c</sub> по сравнению с его уровнем в контрольной группе с ИЗСД. В то время как под влиянием длительного в/ж введения пропранолола наблюдали повышение уровня HbA<sub>1c</sub> на 15% (до 7,70±0,28%) по сравнению с контролем ( $p<0,05$ ).

### Исследование влияния β-АБ на микроциркуляцию в органах и тканях крыс при СД

Исследования выполняли на 100 крысах Wistar (самцы, масса тела 200–220 г) в двух сериях экспериментов. Методом суправитальной окраски нейтральным красным (НК) установили, что при однократном в/ж введении интактным крысам в пятикратных максимальных разовых дозах (для человека) все β-АБ усиливали микроциркуляцию в органах и тканях животных. При этом наиболее выраженным стимулирующим действием на микроциркуляцию обладал β<sub>1</sub>-селективный гидрофильный атенолол. Под его влиянием в дозе 15 мг/кг содержание НК возрастало в миокарде левого желудочка, надпочечниках, поджелудочной железе и селезенке на 86, 75, 66 и 48% соответственно по сравнению с его содержанием в контрольной группе ( $p<0,05$ ). В печени, легких и почках содержание красителя увеличилось на 25, 21 и 12% ( $p<0,05$ ) по сравнению с контролем.

На 4-й неделе течения ИЗСД, когда у крыс более чем в 3 раза увеличивалось содержание HbA<sub>1c</sub>, отмечено существенное ухудшение микроциркуляции. Достоверно снизилось накопление НК в поджелудочной железе, почках и надпочечниках, миокарде левого и правого желудочков на 34, 25, 33, 31 и 41% соответственно ( $p<0,05$ ) по сравнению с этими показателями в контрольной группе животных.



Ежедневное в течение 3 нед в/ж введение  $\beta$ -АБ в пятикратных максимальных разовых дозах (для человека) на фоне развития ИЗСД не предотвращало нарушений процессов микроциркуляции в органах и тканях крыс, вызванных СД. Более того,  $\beta$ -АБ сменили свое стимулирующее влияние на накопление НК, отмеченное у интактных животных, на негативное. По негативному влиянию на накопление НК в органах и тканях животных с ИЗСД  $\beta$ -АБ разместились в следующей последовательности: пропранолол>соталол>метопролол>атенолол (табл. 2).

### Исследование влияния $\beta$ -АБ на АД интактных и с ИЗСД крыс линии SHR

Исследования выполняли на 80 крысах линии SHR (самцы, масса тела 340–360 г, возраст 8 мес). СД вызывали однократным в/б введением СТС в дозе 45 мг/кг. На 2-й неделе эксперимента САД у крыс с СД достоверно повысилось до 168–170 мм рт. ст. по сравнению с САД у интактных крыс. Наиболее длительным и выраженным гипотензивным действием при однократном в/ж введении интактным крысам в десятикратных максимальных разовых дозах для человека обладал метопролол (снижал САД на 16% в 1-й час наблюдений и на 40,2% во 2-й час наблюдений по отношению к фоновому уровню). Далее по выраженности гипотензивного эффекта располагались атенолол, пропранолол и соталол. При однократном в/ж введении  $\beta$ -АБ в тех же испытанных дозах крысам на 2-й неделе СТС-СД усиливалось и пролонгировалось их гипотензивное действие по сравнению с гипотензивным действием у интактных крыс. Наиболее длительным и выраженным гипотензивным эффектом также обладал метопролол (снижал САД по отношению к фоновому уровню на 40,1% в 1-й час наблюдений и на 43,5% во 2-й час), наименее активным был соталол. Усиление и пролонгирование гипотензивного эффекта  $\beta$ -АБ у крыс линии SHR с СД по сравнению с интактными крысами, по-видимому, объясняются нарушением метаболизма препаратов и замедлением их выведения из организма животных.

### Исследование чувствительности миокарда крыс со СТС-СД к аритмиям на фоне действия $\beta$ -АБ

Исследования выполняли на 130 крысах линии Wistar. При развитии СТС-СД повысилась чувствительность миокарда к аритмогенному действию аконитина. Это проявлялось на 4-й неделе развития заболевания увеличением частоты возникновения аритмий, сокращением их латентного периода после в/в введения аконитина гидрохлорида в дозе 25 мкг/кг; развитием более длительных и тяжелых нарушений сердечного ритма, чем у контрольных интактных животных. Все  $\beta$ -АБ при однократном в/ж введении интактным крысам в десятикратных максимальных разовых дозах (для человека) обладали антиаритмическим действием при нарушениях сердечного ритма, вызванных в/в введением аконитина в дозе 25 мкг/кг, при этом наибольшей активностью обладал метопролол в дозе 20 мг/кг. Все  $\beta$ -АБ при ежедневном в течение 3 нед в/ж введении в пятикратных максимальных разовых дозах (для человека) крысам с ИЗСД сохраняли свои антиаритмические свойства на модели аконитиновой аритмии, при этом эффективность антиаритмического действия метопролола в дозе 10 мг/кг и соталола в дозе 15 мг/кг

усиливалась. Нарушения сердечного ритма возникали только у 10% животных, получавших метопролол, и у 40% животных, получавших соталол, при 70% – у крыс, не получавших  $\beta$ -АБ.

### Исследование влияния $\beta$ -АБ на функциональное состояние почек интактных и с ИЗСД крыс

Исследование выполнено на 70 крысах Wistar в 3 сериях экспериментов. У интактных крыс однократное в/ж введение пропранолола в дозе 23 мг/кг изменяло почасовое выделение мочи и вызывало полиурию. Остальные препараты при однократном в/ж введении в пятикратных максимальных разовых дозах (для человека) не оказывали влияния на выделительную функцию почек в условиях водной нагрузки. При развитии ИЗСД на 4-й неделе заболевания отмечено нарушение функционального состояния почек в условиях водной нагрузки: существенное увеличение диуреза в 1-й час после нее, появление в моче глюкозы, следов белка, кетонов, скрытой крови. При ежедневном в течение 3 нед в/ж введении  $\beta$ -АБ крысам со СТС-СД достоверно снижалась выделительная функция почек на фоне водной нагрузки при назначении пропранолола в дозе 23 мг/кг и метопролола в дозе 10 мг/кг. Диурез уменьшился на 29 и 26% соответственно по сравнению с диурезом у контрольных крыс. Атенолол и соталол в дозах 15 мг/кг не влияли на выделительную функцию почек у крыс со ИЗСД. Длительное в/ж введение  $\beta$ -АБ крысам с СД, по-видимому, может частично защитить почки от тяжелого поражения, так как введение этих препаратов предотвращает появление в моче крыс при проведении функциональной пробы скрытой крови, а также положительно влияет на концентрационную функцию почек.

### Заключение

Выявленные особенности фармакологического действия и проявления токсичности  $\beta$ -АБ в экспериментах на интактных и с ИЗСД животных следует учитывать при выборе схемы комплексной терапии для лечения больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями и сопутствующим СД. Требуется дальнейшего уточнения механизм повышения токсичности и изменения параметров токсикокинетики  $\beta$ -АБ на модели СТС-СД у лабораторных животных. Возможно, он связан с нарушением активности изоформы цитохрома P-450 2D6, который участвует в биотрансформации большинства  $\beta$ -АБ.

### Литература

1. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and hyperglycemia: report of WHO/IDF consultation. Geneva, World Health Org, 2006.
2. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabet Care 2010; 33: S62–9.
3. WHO, Fact sheet 312, November 2009.
4. Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. Diabet Med 1997; 14 (5): 1–85.
5. Roglic G, Unwin N, Bennett P et al. The burden of mortality attributable to diabetes. Realistic estimates for the year 2000. Diabet Care 2005; 28: 2130–5.
6. Wild S, Roglic G, Green A, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabet Care 2004; 27: 1047–53.

7. Murray CJ, Lopez AD, Morrish NJ et al. Mortality and causes of death in the WHO Multination Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetologia* 2001; 44 (Suppl. 2): S14–21.
8. Балаболкин М.И. *Диабетология*. М.: Медицина, 2000.
9. Laakso MK. Understanding patients needs diabetology for cardiologist. *Eur Heart J (Suppl)* 2003; 5 (B): 5–13.
10. David SH, Bell DS. Heart Failure: The frequent, forgotten, and often fatal complication of diabetes. *Diabet Care* 2003; 26: 2433–4.
11. Yusuf S, Wittes J, Friedmen L. Overview of results of randomized clinical trials in heart disease. Treatments following myocardial infarction. *JAMA* 1988; 260: 2088–93.
12. Palatini P, Casiglia E, Julius S, Pesina AS. High heart rate: a risk factor for cardiovascular death in elderly men. *Arch Int Med* 1999; 159: 585–92.
13. Bell DS. Beta adrenergic blocking agents in patients with diabetes: friend and foe. *Endocr Pract* 1999; 5: 51–3.
14. Yoon J-W. Role of viruses in the pathogenesis of IDDM. *Ann Med* 1999; 4: 437–45.
15. Hyoty H, Ilonen J, Knip M. Is type 1 diabetes caused by an enterovirus infection? *Eur J Endocrinol* 1996; 134 (1): 15–8.
16. Лавин Б. *Эндокринология*. Пер. с англ. М.: Практика, 1999.
17. Ferner RE. Drug-induced diabetes. *Bailliers. Clin Endocrinol Metab* 1992; 6: 649–53.
18. Paik SG, Fleicher N, Shin SI. Insulin-dependent diabetes mellitus induced by subdiabetogenic doses streptozotocin: obligatory role cell-mediated autoimmune process. *Proc Natl Sci USA* 1980; 77 (10): 6129–33.

В.Л.Лакомкин, Ц.Р.Орлова, С.В.Лакомкин, В.И.Капелько

## Модифицированный нейропептид FF в терапии геморрагического шока

Институт экспериментальной кардиологии РКНПК Росмедтехнологий, Москва

### Резюме

**Цель работы.** Изучение лечебного действия модифицированного нейропептида FF при геморрагическом шоке.

**Материалы и методы.** Работа проведена на крысах, подвергнутых дозированной геморрагии (2,5% массы тела за 10 мин). Регистрировали среднее артериальное давление (САД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС). Через 3 мин после прекращения геморрагии вводили модифицированный нейропептид FF в разных дозировках, в контрольной группе вводили физиологический раствор в том же объеме. Восстановление САД наблюдали в течение 1 ч.

**Результаты.** В контрольной группе геморрагию перенесли 62% крыс, при этом САД восстановилось до 80 мм рт. ст. Трехкратное введение модифицированного нейропептида FF в дозе 0,1 мг/кг дало примерно такой же результат, в то время как более высокие дозировки – 0,3 и 0,6 мг/кг – ускоряли восстановление САД и ЧСС и повышали выживаемость животных. В обеих основных группах опыт перенесли 94%, а через 1 сут выжило 50 и 67% крыс соответственно (в контрольной группе 22%).

**Заключение.** Модифицированный нейропептид FF является эффективным средством лечения геморрагического шока. Результаты исследования создали основу для разработки модифицированного нейропептида FF в качестве лечебного средства.

**Ключевые слова:** артериальное давление, частота сердечных сокращений, регуляция кровообращения, нейропептид FF.

V.L. Lakomkin, Ts.R. Orlova, S.V. Lakomkin, V.I. Kapelko

### Modified neuropeptide FF in therapy for hemorrhagic stroke

Institute of Experimental Cardiology, Moscow

### Summary

**Aim.** To study the therapeutic effect of modified neuropeptide FF in hemorrhagic stroke.

**Materials and methods.** The rats with graduated hemorrhage (2.5% of body weight for 10 min) were studied. Mean blood pressure (MBP) and heart rate (HR) were recorded. Modified neuropeptide FF was administered in different dosages 3 minutes after hemorrhage elimination; physiological saline was used in the same volume in the control group. MBP recovery was observed within an hour.

**Results.** In the control group, 62% experienced hemorrhage; MBP was normalized to 80 mm Hg. Triple administration of modified neuropeptide FF in a dose of 0.1 mg/kg yielded nearly the same result while the higher dosages 0.3 and 0.6 mg/kg accelerated the recovery of MBP and HR and increased animal survival time. In both experimental groups, 94% experienced the experiment and a day later the rat survivors were 50 and 67%, respectively (22% in the control group).

**Conclusion.** Modified neuropeptide FF is an effective agent in treating hemorrhagic stroke. The results of the study have provided the basis for designing modified neuropeptide FF as a medicine.

**Keywords:** blood pressure, heart rate, circulatory regulation, modified neuropeptide FF.

### Сведения об авторах:

Лакомкин Владимир Леонидович – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. экспериментальной патологии сердца, тел.: (495) 414-67-55 (mail: v.lakomkin@cardio.ru)

Орлова Цветина Романовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. экспериментальной патологии сердца, тел.: (495) 414-67-55

Лакомжин Сергей Владимирович – ординатор 2-го года 2-го клинического отд-ния  
Капелько Валерий Игнатьевич – д-р мед. наук, проф., рук. лаб. экспериментальной патологии сердца,  
тел.: (495) 414-67-54 (mail: vkapelko@cardio.ru)

От травм ежегодно в мире погибают более чем 2,5 млн человек (46 на 100 тыс. населения) [1]. Большинство погибают в течение 1-го часа после травмы в результате острой кровопотери (ОКП) [2]. Несмотря на многочисленные исследования, оптимальная стратегия по стабилизации посттравматического состояния не выработана [3]. Основными причинами смерти при ОКП являются недостаточная перфузия тканей и клеточная гипоксия и последующее развитие воспаления. Лечение направлено главным образом на остановку кровотечения и восстановление внутрисосудистого объема крови. Однако массивное и быстрое вливание жидкостей для поддержания артериального давления (АД) не всегда оказывает нужный эффект из-за возможного усиления кровопотери и клеточных повреждений [1–4]. К тому же применение кровезамещающей терапии не всегда возможно на месте травмы или на поле боя. Поэтому особое внимание исследователей привлекают способы повышения выживаемости при ОКП с помощью введения веществ, противодействующих развитию повреждающих изменений в органах.

Известны две группы веществ, уменьшающих повреждения тканей. Одни из них уменьшают интенсивность окислительного стресса, другие оказывают адреномодулирующее действие. Применение антиоксидантов в ряде опытов на животных позволяло повысить выживаемость после ОКП. Однако эти результаты имеют лишь теоретическое, но не практическое значение, поскольку синтетические ловушки свободных радикалов, как правило, являются токсичными для клеток и, следовательно, не могут быть использованы для практического применения у людей. Более перспективным направлением является использование естественных нейромедиаторов, в том числе нейропептидов. Большинство из них модулируют активность симпатoadренальной системы – основного экстренного защитного механизма при кровопотере. Применение катехоламинов отдельно [5] или в сочетании с вазопрессорином [6] во время жидкостнозамещающей терапии требует очень точного дозирования, поскольку они могут оказывать как защитное, так и повреждающее действие [7]. Более перспективным выглядит прицельное использование веществ, модулирующих естественные механизмы.

Установлено повышение выживаемости животных при использовании пептидов, содержащих в молекуле последовательность -His-Phe-Arg-Trp-; такие пептиды в больших количествах секретятся при ОКП [8]. Это адренокортикотропный гормон (АКТГ), стимулирующий меланоциты гормон ( $\alpha$ -MSH) и его аналоги – меланокортины. Действие этих пептидов осуществляется путем активации  $MC_4$ -рецепторов продолговатого мозга [9–11] и сопровождается усилением секреции глюкокортикоидов, нормализацией уровня оксида азота, ингибированием образования свободных радикалов [8]. D.Juliani и соавт. показали, что как специфические Ac-Nle-c[Asp-Pro-D-Phe-Arg-Trp-Lys]Pro-Val-NH<sub>2</sub> (PG-931), Butir-His-DPhe-Arg-

Trp-Sar-NH<sub>2</sub> (RO27-3225), так и неспецифические Ac-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (NDP- $\alpha$ -MSH) агонисты рецептора  $MC_4$  снижают уровень активных форм кислорода в крови, уменьшают степень поражения органов, улучшают функции кровообращения и дыхания, а также выживаемость крыс (обоих полов) при летальной кровопотере [11].

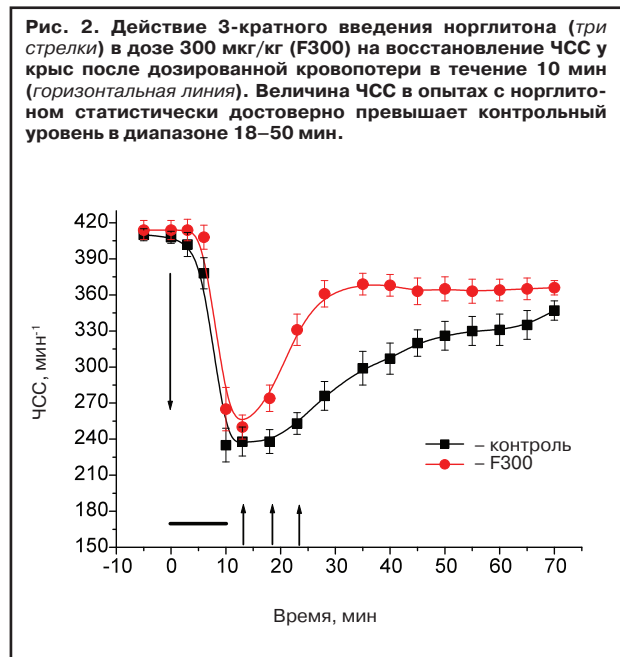
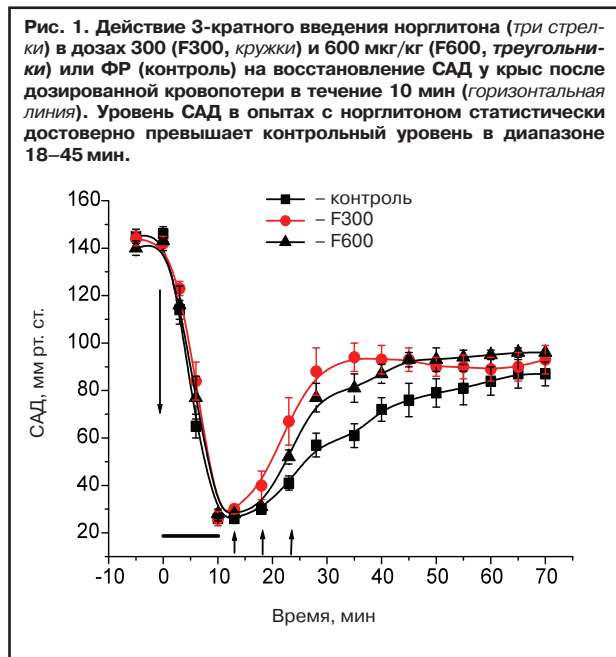
Мы использовали другой адреномодулятор – нейропептид FF, модифицированный в лаборатории синтеза пептидов (руководитель – Ж.Д.Беспалова) посредством замены пролина в положении 7 на глицин и лейцин в положении 2 на норлейцин. Такая модификация удешевила синтез и значительно повысила чувствительность рецепторов к пептиду, что позволило применять дозы в 5–7 раз меньшие по сравнению с дозами натуральных пептидов [12]. Оригинальный препарат получил название «Норглитон».

### Материалы и методы

Действие модифицированного нейропептида FF (норглитона) на параметры гемодинамики изучали на наркотизированных кетаминем (100 мг/кг) самцах крыс Вистар массой весом 400–450 г, которым вставляли катетеры в сонную и бедренную артерии и яремную вену. С помощью электроманометра Gould Statham P23 Db (США) измеряли среднее АД (САД) в бедренной артерии и частоту сердечных сокращений (ЧСС) в спокойном состоянии животного. Параметры гемодинамики регистрировали на полиграфе «Biograph-4» (Санкт-Петербургский государственный университет аэрокосмического приборостроения). Запись данных на компьютер выполняли с помощью аналогоцифрового преобразователя USB 6210 («National Instruments», США) и программы «Data Acquisition», модифицированной д-ром биол. наук Е.В.Лукошковой для обработки физиологических сигналов. Для регистрации параметров гемодинамики использовали бедренную артерию, сонная артерия служила для кровопускания, а яремная вена – для введения пептида или физиологического раствора (ФР; 0,5 мл). Кровь забирали в течение 10 мин, критической величиной кровопотери являлось 2,5% от массы тела [4]. Модифицированный пептид FF вводили в дозах 0,1, 0,3 и 0,6 мг/кг в 0,5 мл ФР трижды сразу после кровопотери с 5-минутными интервалами, в контрольных опытах вводили ФР. В каждой группе, получавшей пептид, было по 16–17 животных, в контрольной группе – 30.

### Результаты и обсуждение

Средние уровни САД были примерно одинаковы во всех группах (141–146 мм рт. ст.), также ЧСС была сходной (400–422 мин<sup>-1</sup>). Средние величины кровопотери были одинаковы во всех группах – 2,23–2,28% массы тела. При этом САД падало до 24–28 мм рт. ст., а ЧСС – до 190–230 мин<sup>-1</sup>. В контрольной группе после 3-кратного введения ФР с 5-минутным интервалом у перенесших ОКП крыс (62%) САД повышалось через 1 ч до 80±5 мм рт. ст. Эффект норглитона зависел от его дозировки: в



результате 3-кратного введения 0,1 мг/кг в опыте выжили 11 (65%) крыс из 17, доз 0,3 и 0,6 мг/кг – по 15 (94%) из 16. Динамика САД и ЧСС в серии опытов с применением норглитона в дозе 0,1 мг/кг не отличалась от таковой в контрольных опытах. В группах крыс с введением 0,3 и 0,6 мг/кг нейропептида восстановление САД происходило гораздо быстрее (рис. 1) и ЧСС восстанавливалась раньше (рис. 2).

Через 1 сут после опыта в контрольной группе выжило 22% животных, а в группе, получавшей 0,1 мг/кг нейропептида, – 18%. Зато в группе, получавшей 0,3 мг/кг нейропептида, выжили 50% животных, а в группе, получавшей 0,6 мг/кг, – 2/3 животных. Таким образом, применение нейропептида в дозах 0,3–0,6 мг/кг повышало выживаемость животных после геморрагии в 2,5–3 раза.

Основной результат этих опытов состоит в установлении зависимости от дозы терапевтического действия норглитона: дозы 0,3 и 0,6 оказали примерно одинаковый эффект, в то время как доза 0,1 мг/кг была неэффективной. При этом важно отметить, что повышение выживаемости животных сочеталось с восстановлением САД и ЧСС в течение 1-го часа после геморрагии. Одновременное увеличение АД и ЧСС скорее всего было обусловлено действием норадреналина, концентрация которого в крови возрастает под влиянием нейропептида FF [12]. Это позволяет предположить, что способность этого пептида ускорять восстановление САД и ЧСС благоприятствует выживаемости. Такое предположение хорошо согласуется с наблюдением на другой модели дозированной геморрагии. Уровень АД и частоты дыханий, достигаемый через 5 мин после введения агониста рецептора  $M_4$  меланокортина, фактически стабилизировался на протяжении последующих 2 ч [11]. Это позволяет предположить, что данный период является критическим для выживаемости, и максимально быстрый подъем АД в это время – жизненно важный фактор, в частности для деятельности головного мозга. Однако само по себе повышение САД, достигнутое другими способами, например путем введения гипертонического раствора NaCl с декстраном [13], вазо-

прессина с адреналином [6] или параопиоидного пептида FMRFa, принадлежащего к той же группе RF-амидов, что и нейропептид FF, не сопровождалось повышением выживаемости [14, 15]. При этом длительное введение параопиоидного пептида FMRFa сразу после кровопотери способно повысить АД, однако после прекращения введения оно необратимо снижается. Очевидно, нейропептид FF оказывает более сложное действие на систему кровообращения. Вероятно, он, воздействуя на опиатные рецепторы и нейроны вегетативной нервной системы, снимает синдром дисрегуляции (спазм сосудов печени, почек, кишечника) центрального происхождения. Подобный благоприятный эффект при кровопотере оказывали двусторонняя ваготомия, введение холинолитика центрального действия амизола или блокатора опиатных рецепторов налоксона. В отличие от этого препараты, блокирующие периферические холино- и адренорецепторы, в этой ситуации были неэффективны [4].

Близкие к нашим результаты были получены группой итальянских авторов, использовавших другую модель геморрагии – 25-минутное кровопускание [10, 11]. Применение высоких доз меланокортинов в их опытах обеспечило почти полную выживаемость при практически полной гибели животных в контрольной группе. Вместе с тем авторы указывали, что вызванное меланокортином улучшение является временным и требует восстановления объема крови в пределах 1–3 ч [10]. Кроме того, эти эксперименты не были свободны от недостатков. Во-первых, авторы использовали крыс обоих полов, а хорошо известно, что самки отличаются большей резистентностью к кровопотере, чем самцы [4]. Неконтролируемое распределение самок и самцов по группам могло послужить одной из причин чрезвычайно высокой гибели в контрольной группе, в которой все крысы погибали в течение 35 мин. Во-вторых, кровопотеря из бедренной вены в этих опытах происходила постепенно – за 25 мин, такая длительность более свойственна венозным кровотечениям, в то время как при повреждении артериального русла кровотечение происходит на-

много быстрее. В-третьих, опыты проводили под уретановым наркозом, подавляющим естественные компенсаторные механизмы.

Приведенный анализ оставляет пока открытым вопрос о сравнительной эффективности меланокортина и нейропептида FF при геморрагическом шоке. Тем не менее уже сейчас очевидно, что использование естественных нейромедиаторов, модулирующих активность симпатoadrenalовой системы, – основного экстренного защитного механизма при кровопотере – открывает новые возможности для создания лекарственных средств для эффективной терапии геморрагического шока.

Работа поддержана грантом Роснауки  
НШ-5916.2008.7.

#### Литература

- Garcia A. Critical care issues in the early management of severe trauma. *Surg Clin North Am* 2006; 86 (6): 1359–87.
- Wu R, Wang P. Preclinical studies with adrenomedullin and its binding protein as cardiovascular protective agents for hemorrhagic shock. *Cardiovasc Drug Rev* 2006; 24 (3–4): 204–13.
- Lienhart HG, Lindner KH, Wenzel V. Developing alternative strategies for the treatment of traumatic haemorrhagic shock. *Curr Opin Crit Care* 2008; 14 (3): 247–53.
- Коваленко Н.Я., Мацневский Д.Д. Индивидуальная устойчивость к кровопотере – реальность и проблемы. *Патогенез*. 2004; 2: 53–68.
- Poloujadoff MP, Borron SW, Amathieu R et al. Improved survival after resuscitation with norepinephrine in a murine model of uncontrolled hemorrhagic shock. *Anesthesiology* 2007; 107 (4): 591–6.
- Wenzel V, Lindner KH. Vasopressin combined with epinephrine during cardiac resuscitation: a solution for the future? *Crit Care* 2006; 10 (1): 125.
- Maddens M, Sowers J. Catecholamines in critical care. *Crit Care Clin* 1987; (4): 871–82.
- Jochem J et al. The role of melanocortin peptides in the cardiovascular regulation in hemorrhagic shock. *Folia Med Cracov* 2005; 46 (3–4): 13–21.
- Versteeg DH, Van Bergen P, Adan RA, De Wildt DJ. Melanocortins and cardiovascular regulation. *Eur J Pharmacol* 1998; 360 (1): 1–14.
- Guarini S, Cainazzo MM, Giuliani D et al. Adrenocorticotropin reverses hemorrhagic shock in anesthetized rats through the rapid activation of a vagal anti-inflammatory pathway. *Cardiovasc Res* 2004; 63 (2): 357–65.
- Giuliani D, Mioni C, Bazzani C et al. Selective melanocortin MC4 receptor agonists reverse haemorrhagic shock and prevent multiple organ damage. *Br J Pharmacol* 2007; 150 (5): 595–603.
- Капелько В.И., Беспалова Ж.Д., Ефремов Е.Е. и др. Модификация молекулы нейропептида FF усиливает его гипотензивный эффект. *Рос. физиол. журн.* 2009; 95 (5): 484–93.
- Rocha E, Silva M. Hypertonic saline resuscitation. *Medicina (B Aires)* 1998; 58 (4): 393–402.
- Крушинская Я.В., Мамаева Т.В., Соколова Н.А. Защитное действие FRMFa при остром геморрагическом шоке у бодрствующих крыс. *Вестн. МГУ*. 1995; 16: 19–21.
- Бастрикова Н.А., Крушинская Я.В., Каменский А.А. и др. Пептидэргическая коррекция геморрагического шока. *Усп. физиол. наук*. 1996; 27: 32–46.

Ю.А.Карпов<sup>1</sup>, И.Е.Чазова<sup>1</sup>, А.В.Вигдорчик<sup>2</sup>, А.Ю.Зазулина<sup>2</sup>  
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

<sup>1</sup>ФГУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс, <sup>2</sup>«Новартис Фарма» (Россия)

**Резюме.** Основной целью исследования являлось изучение антигипертензивной эффективности фиксированной комбинации амлодипина и валсартана в условиях реальной клинической практики в России.

**Методы.** Данное исследование было многоцентровым открытым наблюдательным неинтервенционным постмаркетинговым и являлось частью многонационального международного протокола.

**Результаты.** 2874 пациента с артериальной гипертензией были включены в Россию, 50 пациентов не завершили исследование по плану, данные 2824 пациентов были доступны к анализу. Средний возраст пациентов 55,7 года, 46,8% мужчины, 24,9% курильщики, у 38,7% имелась ишемическая болезнь сердца, у 19,8% – сердечная недостаточность, у 18,8% – сахарный диабет, 89,7% получали антигипертензивную терапию до момента назначения комбинации амлодипин/валсартан и включения в данное исследование (69,2% исходно получали ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, 49,0% – диуретики, 43,2% – β-адреноблокаторы, 33,2% – антагонисты кальция). Исходный уровень артериального давления (167,5±16,2/100,1±9,2 мм рт. ст.) достоверно снизился на 38,9/19,6 мм рт. ст. (p<0,0001) в течение 12 нед лечения. Целевого уровня артериального давления менее 140/90 мм рт. ст. достигли 80% пациентов. При этом только 577 (20,4%) пациентов получали β-адреноблокаторы и 331 (11,7%) – диуретики в качестве сопутствующей терапии. Снижение уровня артериаль-

ного давления было наименьшим у пациентов с артериальной гипертензией 1-й степени и наибольшим у пациентов с артериальной гипертензией 3-й степени.

**Заключение.** Наши результаты демонстрируют значительное снижение и отличный контроль артериального давления при применении фиксированной комбинации амлодипина и валсартана в условиях реальной клинической практики в России.

YAKarpov<sup>1</sup>, I.E.Chazova<sup>1</sup>, AV.Vigdorcbik<sup>2</sup>, AY.Zazulina<sup>2</sup> on behalf of research group\*

### Efficacy and safety of amlodipine and valsartan single pill combination in treatment of arterial hypertension in real life practice: results of the Russian observational study EXTRA-2

<sup>1</sup>Russian Cardiology Research Complex,

<sup>2</sup>«Novartis Pharma», Russia

**Summary.** The aim of our analysis was to evaluate the efficacy of amlodipine/valsartan (A/V) single pill combination in a large subgroup of Russian Caucasian patients (pts).

**Methods:** This was a multi-centre, multinational, open-label observational non-interventional post marketing surveillance study.

**Results:** 2874 pts with hypertension (HTN) were enrolled in Russia, 50 pts did not complete the study as per protocol and 2824 pts data was analyzed: mean age 55,7 yrs, 46,8% men, 24,9% smokers, 38,7% had coronary heart disease, 19,8% had heart failure, 18,8% diabetic, 89,7% received HTN treatment before they were prescribed A/V and enrolled in our study (69,2% ACE inhibitors, 49,0% diuretics, 43,2% beta-blockers, 33,2% calcium antagonists). The baseline SBP/DBP (167,5±16,2/100,1±9,2 mmHg) was reduced by 38,9/19,6 mmHg ( $p < 0,0001$ ) during 12 wks of A/V treatment. 80% of pts reached BP goal <140/90 mmHg. Only 577 (20,4%) pts received beta-blockers and 331 (11,7%) diuretics concomitantly. We analyzed data for pts on stable doses of A/V and observed dose-dependant BP drops. The BP reduction was smallest in pts with grade I HTN and greatest in grade III pts.

**Conclusion:** Our results show powerful BP drops and excellent BP control rate achieved with A/V single pill combination in a real life setting in Russian pts.

## Введение

Лечение артериальной гипертензии (АГ) в России является одной из приоритетных задач отечественного здравоохранения. Несмотря на широкую распространенность данного заболевания среди взрослого населения России (40,4% для женщин и 37,2% для мужчин) [1], усилия врачей и государства по выявлению и лечению АГ не приводят к существенному прорыву в улучшении контроля за уровнем артериального давления (АД) в популяции. По данным последнего фармакоэпидемиологического исследования в области АГ в России ПИФАГОР III, распределение долей препаратов, рекомендованных международными и национальными обществами по АГ [2–4], оказалось равным с небольшим преимуществом (25%) ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ), паритетом диуретиков (22%) и бета-адреноблокаторов – БАБ (23%) и несколько меньшей долей антагонистов кальция (18%) [5]. Доля блокаторов рецепторов ангиотензина II (БРА) составила 8%, продемонстрировав почти 5-кратное увеличение по сравнению с данными 2002 г. [5, 6]. Улучшение контроля за уровнем АД связано не только с особенностями, частотой применения и эффективностью того или иного класса антигипертензивных препаратов и их комбинаций, но и с тем, какой режим лечения используется – классический режим этапного подбора дозы и составления свободной комбинации препаратов или более агрессивный режим назначения комбинированного препарата в виде одной таблетки уже в начале лечения. По результатам того же исследования ПИФАГОР III, чаще всего (у 69% опрошенных врачей) назначаются именно свободные комбинации антигипертензивных препаратов и только 49% врачей применяют комбинации препаратов в виде одной таблетки.

Бесспорное лидерство принадлежит комбинациям препаратов, влияющих на активность ре-

нин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) – блокаторов РААС: ИАПФ или БРА с диуретиками [5]. Однако в последние годы появляется все больше доказательств эффективности других комбинаций блокаторов РААС – с антагонистами кальция. Наиболее новой комбинацией этого типа, появившейся в России в 2008 г., стала комбинация БРА валсартана и дигидропиридинового антагониста кальция амлодипина – препарат Эксфорж. Мы провели данное исследование с целью изучения антигипертензивной эффективности и переносимости препарата Эксфорж – фиксированной комбинации амлодипина и валсартана у обширной популяции российских пациентов в условиях реальной клинической практики, которое стало частью международной многоцентровой наблюдательной программы изучения эффективности и переносимости препарата Эксфорж.

## Материалы и методы

### Дизайн исследования

Данное открытое наблюдательное неинтервенционное постмаркетинговое исследование проведено с участием 491 врача в России в соответствии с определением «наблюдательные исследования» (non-interventional trials), опубликованным в Европейской директиве по клиническим исследованиям (Directive 2001/20/EC of the European parliament and of the council of 4 April). Согласно требованиям, предъявляемым к наблюдательным исследованиям, назначение лекарственной терапии осуществлялось строго в соответствии с одобренной инструкцией по медицинскому применению препарата Эксфорж (амлодипин/валсартан), только по зарегистрированным показаниям к применению и в соответствии с принятой клинической практикой. Решение о назначении лекарственной терапии должно было основываться только на медицинских показаниях

и решении врача, но не должно было зависеть от решения включить пациента в исследование. Наблюдательное исследование не предполагало проведение дополнительных диагностических процедур (помимо используемых в обычной клинической практике), интервалы визитов пациента к врачу не являлись фиксированными, но должны были соответствовать принятой клинической практике и национальным рекомендациям у данной категории пациентов.

**Основной целью исследования являлось изучение антигипертензивной эффективности фиксированной комбинации амлодипина и валсартана у пациентов с АГ и недостаточным контролем уровня АД в условиях реальной клинической практики в России. Вторичной целью исследования было изучение частоты возникновения и степени выраженности периферических отеков при применении фиксированной комбинации амлодипина и валсартана.**

Во время 1-го визита собирали демографическую информацию о каждом пациенте, данные анамнеза, регистрировали сопутствующие заболевания и предшествующую антигипертензивную терапию с применением эпидемиологических методов, а также причину назначения или смены предшествующей терапии на препарат Эксфорж с указанием дозы. Сопутствующая антигипертензивная терапия такими препаратами, как диуретики и БАБ была разрешена на усмотрение лечащего врача. Срок наблюдения за пациентами составлял 3 мес с ориентировочными нефиксированными интервалами между визитами в 1 мес в соответствии с принятой клинической практикой при данном заболевании. В результате каждый пациент мог посетить лечащего врача-участника исследования 4 раза в течение всего периода наблюдения. Во время каждого визита измеряли и регистрировали уровень АД, частоту сердечных сокращений (ЧСС), назначенную антигипертензивную терапию и всю сопутствующую терапию и ее изменения в течение исследования, а также оценивали наличие и степень выраженности отеков. Пациентам не предоставлялся исследуемый препарат в течение данного исследования, так как он был назначен лечащим врачом и исследование носило наблюдательный характер в условиях реальной клинической практики.

### Пациенты

Пациент мог быть включен в исследование, если соответствовал следующим критериям: возраст не менее 18 лет, уровень систолического АД (САД) >140 мм рт. ст. и/или диастолического АД (ДАД) >90 мм рт. ст., если, по мнению лечащего врача, пациенту было показано лечение фиксированной комбинацией амлодипина и валсартана и был назначен препарат Эксфорж («Новартис Фарма») в дозе 5/80, 5/160 и 10/160 мг, вместо предшествующей антигипертензивной терапии или в качестве впервые назначенного препарата. В исследование не включали беременных женщин или женщин, планировавших беременность или кормящих грудью, а также, если у пациента была установлена гиперчувствительность к амлодипину или валсартану или любому из компонентов в составе таблетки, или если он имел тяжелое медицинское состояние(я)/заболевание(я), которое(ые), по мнению

**Таблица 1. Демографические и исходные характеристики пациентов (n=2824)**

Возраст, лет	55,7±10,1 (24–84)
Масса тела, кг	85,6±13,6 (46–154)
<b>Факторы риска и сопутствующие заболевания</b>	
гиперхолестеринемия	2027 (71,8%)
ишемическая болезнь сердца	1093 (38,7%)
сердечная недостаточность	558 (19,8%)
курение	702 (24,9%)
сахарный диабет	532 (18,8%)
заболевания легких	348 (12,3%)
гиперурикемия	273 (9,7%)
другие	440 (15,6%)
<b>Предшествующая антигипертензивная терапия</b>	
да	2533 (89,7%)
нет	245 (8,7%)
нет данных	46 (1,6%)
<b>Классы предшествующих антигипертензивных препаратов</b>	
ИАПФ	1953 (69,2%)
диуретики	1385 (49,0%)
БАБ	1219 (43,2%)
антагонисты кальция	938 (33,2%)
БРА	283 (10,0%)
другие	100 (3,5%)

врача-участника исследования, не позволяло пациенту быть включенным в исследование (например, тяжелое нарушение функции почек или печени).

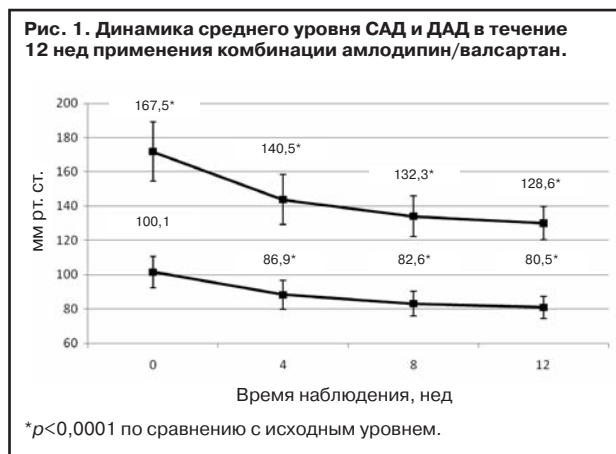
### Оценка исходов

В рамках данного исследования оценивались следующие параметры эффективности: ЧСС, САД и ДАД в начале и конце периода наблюдения, количество пациентов, ответивших на терапию и достигших целевого уровня АД в соответствии с международными и Российскими рекомендациями. Была оценена антигипертензивная эффективность в зависимости от выбранной дозы, исходного уровня АД (АГ I–III степени), а также у пациентов с САД ≥190 мм рт. ст. и ≥200 мм рт. ст. и с изолированной систолической АГ (ИСАГ).

Анализ безопасности проводили с помощью регистрации нежелательных явлений (НЯ) и серьезных НЯ (СНЯ), которые были отмечены в связи и вне связи с применением комбинации амлодипина/валсартана. Также проведен специальный анализ частоты возникновения и выраженности отеков с целью оценки зависимых от дозы эффектов комбинации амлодипина/валсартана на данный хорошо известный побочный эффект антагонистов кальция. Врачей просили оценить наличие и выраженность отеков у пациентов исходно и во время каждого визита. Выраженность отеков клинически оценивали как легкую, если при надавливании пальцем на кожу в области ноги или в другом обследуемом месте образовывалась едва заметная ямка (углубление), как умеренная, если при надавливании образовывалась хорошо заметная ямка (углубление), которая быстро исчезала после прекращения давления, и как тяжелая, если при надавливании образовывалась выраженная ямка, которая после прекращения давления сохранялась в течение нескольких секунд.

### Статистический анализ

Статистический анализ выполнялся с использованием программы SAS 9.1.3. Был выполнен унивариантный анализ всех переменных. Изменения уровня АД и ЧСС описаны с применением количественной статистики. Применен тест



ANOVA. Номинальные переменные, такие как субъективные показатели оценки эффективности, переносимости и приверженности лечению врача и пациента оценивали с помощью критерия  $\chi^2$ . Коррекцию Бонферрони использовали для оценки переменных при повторных измерениях. Если не указано иначе, все непрерывные данные, такие как возраст, масса тела, рост, ЧСС, АД и т.д. представляли в виде среднего значения, стандартного отклонения, минимального и максимального значения. Все дискретные данные представляли в виде абсолютного значения и процента. Исходные характеристики, демографические данные проанализированы с помощью описательной статистики.

## Результаты

Всего в исследование было набрано 2874 пациента (46,8% мужчины, 53,2% женщины). Первый визит 1-го пациента состоялся 21 апреля 2008 г., последний пациент завершил исследование 13 декабря 2009 г. В течение наблюдения не завершили исследование по плану 50 пациентов: 16 – в связи с невозможностью установить контакт с ними, 13 – в связи с отзывом согласия на участие в исследовании, 15 – в связи с НЯ, 5 – в связи с недостаточной эффективностью препарата, одному пациенту далее не требовалось лечение препаратом и 6 – в связи с другими причинами (не уточнены). У одного пациента могло быть несколько причин выбытия из исследования. Данные 2824 пациентов были приняты к итоговому анализу эффективности. Большинство (89,7%) пациентов на момент включения в исследование ранее уже получали антигипертензивную терапию (см. таблицу).

### Антигипертензивная эффективность фиксированной комбинации амлодипин/валсартан

Исходный уровень АД на момент включения пациентов в исследование составил  $167,5 \pm 16,2 / 100,1 \pm 9,2$  мм рт. ст. В течение 12 нед лечения комбинацией амлодипин/валсартан было достигнуто достоверное снижение АД на  $38,9 / 19,6$  мм рт. ст. ( $p < 0,0001$ ). К концу исследования уровень АД составил  $128,6 \pm 9,1 / 80,5 \pm 6,2$  мм рт. ст. Отмечалось достоверное снижение ЧСС с  $73,6 \pm 10,1$  уд/мин исходно до  $69,9 \pm 6,3$  уд/мин в конце исследования ( $p < 0,0001$ ). Достоверное снижение уровня АД наблюдалось уже в течение первых 4 нед лечения (рис. 1). По завершении 12 нед 80% пациентов достигли целевого уровня АД  $< 140 / 90$  мм рт. ст.

В течение исследования только 577 (20,4%) пациентам потребовалось назначение БАБ и 331 (11,7%) пациенту – диуретиков в качестве сопутствующей терапии. Наиболее часто назначаемыми сопутствующими препаратами были статины (у 998 пациентов; 35,3%), ацетилсалициловая кислота (у 356 пациентов; 12,6%) и пероральные гипогликемические препараты (у 209 пациентов; 7,4%).

В ходе наблюдения большинство больных (2263 пациентов, или 80,1%) получали стабильные дозы препарата. Отмечено зависимое от дозы снижение как САД, так и ДАД с наибольшим снижением АД у пациентов, получавших 10/160 мг амлодипина/валсартана соответственно ( $-44,5 / -21,6$  мм рт. ст.,  $p < 0,0001$ ,  $n = 694$ ). Снижение АД при применении дозы 5/160 мг амлодипина/валсартана составило  $-37,7 / -19,2$  мм рт. ст. ( $p < 0,0001$ ,  $n = 850$ ), 5/80 мг –  $-34,1 / -18,9$  мм рт. ст. ( $p < 0,0001$ ,  $n = 719$ ). Вне зависимости от дозового режима средний уровень достигнутого АД к моменту завершения наблюдения составлял менее 140/90 мм рт. ст., что позволяет говорить о высокой эффективности всех изученных дозовых режимов. Снижение АД также зависело от исходного уровня АД. Наименьшее снижение отмечено у пациентов с исходной 1-й степенью повышения (25,3/15,9 мм рт. ст.), а наибольшее – у пациентов с уровнем САД  $\geq 200$  мм рт. ст. (74,2/28,5 мм рт. ст.). У пациентов с исходным уровнем повышения АД, соответствующим 2-й степени АГ, среднее снижение АД составило 36,8/19,2 мм рт.ст., с 3-й степенью – 55,9/23,9 мм рт. ст., у пациентов с САД  $\geq 190$  мм рт. ст. – 65,7/26,2 мм рт. ст. У пациентов с ИСАГ уровень САД снизился на 31,6 мм рт. ст., а уровень ДАД снизился всего на 5,8 мм рт. ст.

### Переносимость

Всего сообщено о 80 случаях НЯ у 68 (2,37%) пациентов, из них в 3 случаях имели место СНЯ. Одно СНЯ не было связано с применением препарата (транзиторная ишемическая атака) и два сообщения о СНЯ, по мнению врача, были связаны с применением препарата (обострение калькулезного холецистита у одного пациента и тахикардия, покраснение лица, боли в эпигастрии и сухость в полости рта – у другого). Поскольку периферические отеки считаются наиболее частым и специфическим побочным эффектом антагонистов кальция, был проведен анализ этого НЯ в рамках данного исследования. Из 2824 пациентов у 485 (17,2%) были выявлены отеки на момент включения в исследование, у 403 (14,3%) отеки отмечались через 4 нед, у 318 (11,3%) через 8 нед применения препарата и у 270 (9,6%) пациентов в конце данного исследования. При этом доля отеков тяжелой и умеренной степени выраженности к концу исследования уменьшилась, а доля отеков легкой степени – увеличилась: исходно (до начала применения препарата) у 71,1% пациентов с отеками была легкая степень их выраженности, у 27,4% – умеренная и у 1,5% – тяжелая. По завершении 12 нед применения препарата 90,4% пациентов имели отеки легкой степени, 8,9% – умеренной, и 0,7% – тяжелой.

### Обсуждение

Основным результатом нашего исследования стало достижение адекватного, но при этом мощ-



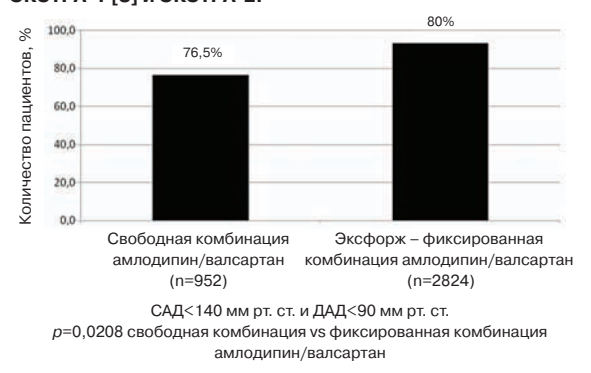
ного снижения АД при всех степенях его повышения. Достигнутый уровень АД к концу исследования во всех изученных подгруппах составлял менее 140/90 мм рт.ст. При этом ни в одной проанализированной подгруппе пациентов средний достигнутый уровень АД не был менее 120/75 мм рт.ст. Эти данные показывают, что применение фиксированной комбинации амлодипина и валсартана позволяет добиваться оптимального эффективного снижения АД. Частота возникновения и выраженность периферических отеков значительно уменьшилась, что подтверждает возможность применения данной комбинации также у пациентов, имеющих склонность к отекам, вызванным приемом антагонистов кальция.

Преимущество комбинации блокатора РААС и антагониста кальция продемонстрировано в завершившем в 2008 г. исследовании ACCOMPLISH, в котором риск сердечно-сосудистой смерти и осложнений у пациентов с АГ оказался на 20% ниже по сравнению с больными, получавшими комбинацию того же блокатора РААС с тиазидным диуретиком [7]. В это исследование включали пациентов, 74% из которых уже получали комбинированную антигипертензивную терапию, но контроль АД на момент включения в исследование был отмечен только у 37,3% пациентов. Оба изученных в исследовании режима терапии были в виде фиксированной комбинации, и их применение улучшило контроль АД практически в 2 раза – до 72,4% пациентов в группе с диуретиком и 75,4% в группе с амлодипином [7]. В проведенном нами ранее исследовании ЭКСТРА-1 по изучению эффективности и переносимости свободной комбинации амлодипина и валсартана у российских пациентов получены сопоставимые данные по контролю за уровнем АД [8].

Если проанализировать эффективность препаратов амлодипина и валсартана, то видно, что амлодипин по праву считается одним из наиболее действенных и изученных антагонистов кальция. В исследовании VALUE (15 245 пациентов с АГ), в котором сравнивали эффективность амлодипина и валсартана по влиянию на сердечно-сосудистый прогноз, продемонстрирована одинаковая эффективность этих двух препаратов по влиянию на первичную конечную точку (основные сердечные и церебральные события), но отмечена большая антигипертензивная эффективность амлодипина по сравнению с валсартаном [9]. Причем максимальная разница в гипотензивном эффекте между двумя препаратами наблюдалась именно в 1-й месяц терапии. Проведенный дополнительно анализ результатов данного исследования показал, что сердечно-сосудистый прогноз был достоверно лучше у пациентов, которые, вне зависимости от того, получали они амлодипин или валсартан, достигли контроля уровня АД (САД < 140 мм рт. ст.) к 6-му месяцу лечения, или если они ответили на лечение в течение 1-го месяца терапии (САД снизилось на 10 мм рт. ст. и более, если ранее пациенты не получали лечение или АД не повышалось, а также если были переведены с другой терапии) [10]. Ключевым результатом исследования VALUE стало понимание необходимости более раннего достижения ответа на антигипертензивную терапию и целевого уровня АД.

При сопоставлении антигипертензивной эффективности разных БРА, по данным метаанализа

**Рис. 2. Контроль АД в течение 12 нед применения комбинации амлодипин/валсартан в исследованиях ЭКСТРА-1 [8] и ЭКСТРА-2.**



зов, снижение АД оказалось практически одинаковым [11, 12]. В последнем опубликованном в 2009 г. метаанализе антигипертензивной эффективности валсартана по сравнению с другими БРА показано, что данный препарат в дозах 160 и 320 мг достоверно лучше снижает уровень АД, чем лозартан 100 мг [12]. Таким образом, изученная в нашем исследовании комбинация амлодипина и валсартана потенциально обладает значительной антигипертензивной эффективностью, что и было подтверждено результатами нашего исследования. Так как в исследование включали пациентов, большинство которых исходно получали другую антигипертензивную терапию и часто комбинацию препаратов (см. таблицу) без должного контроля АД, можно говорить об эффективности Экспоржа в ситуации, когда другая терапия была неэффективной.

Поскольку нами ранее было выполнено исследование по применению свободной комбинации амлодипина и валсартана практически у тысячи российских пациентов по аналогичному дизайну, представляется возможным сопоставить результаты настоящего исследования с результатами исследования ЭКСТРА-1 (рис. 2). Контроль АД, полученный в исследовании ЭКСТРА-1 [8] был достоверно ниже контроля АД, продемонстрированного в настоящем исследовании ЭКСТРА-2. Преимущество применения изучаемой комбинации в виде одной таблетки очевидно: 8 из 10 пациентов смогли добиться уровня АД < 140/90 мм рт. ст. в настоящем исследовании, что является очень высоким показателем в условиях реальной клинической практики. Контроль АД при применении свободной комбинации препаратов амлодипина и валсартана (ЭКСТРА-1) был тоже существенным – 76,5% пациентов контролировали уровень АД через 3 мес терапии. В обоих исследованиях были сопоставимые группы включенных пациентов с АГ и применялась одинаковая комбинация препаратов в течение одинакового периода наблюдения, отличие заключалось лишь в форме применения – фиксированная или свободная комбинация амлодипина и валсартана, поэтому полученные различия представляются наиболее интересными с практической точки зрения.

Еще более важным является тот факт, что данные результаты получены в рамках реальной клинической практики с участием значительного количества российских пациентов.

В опубликованном метаанализе по сравнению приверженности, безопасности и эффективности

фиксированных комбинаций антигипертензивных препаратов со свободными [13], включившим данные 32 331 пациента, подтверждены преимущества применения комбинации в виде одной таблетки. Так, доказана достоверно лучшая приверженность фиксированным комбинациям препаратов при лечении АГ (отношение шансов 1,21;  $p=0,02$ ) по сравнению с соответствующими свободными комбинациями. И несмотря на то что в данном анализе преимущество фиксированных комбинаций по снижению АД не было достоверным (численно большее снижение АД на 4,1/3,1 мм рт. ст.,  $p=0,15$  и  $p=0,13$  для САД и ДАД соответственно), 30% преимущество по достижению контроля за уровнем АД при применении фиксированных комбинаций практически достигло уровня достоверности (отношение шансов 1,30,  $p=0,07$ ). Таким образом, полученные нами результаты лучшего контроля АД при применении препарата Эксфорж по сравнению со свободной комбинацией амлодипина и валсартана находят свое подтверждение в условиях метаанализа международных данных разных клинических исследований с применением фиксированных комбинаций в сравнении со свободными.

В документе, опубликованном в 2009 г. по пересмотру Европейских рекомендаций по диагностике и лечению АГ однозначно указано на необходимость более широкого применения фиксированных комбинаций антигипертензивных препаратов [14]. Отмечено, что комбинация препаратов в одной таблетке может быть назначена не только как второй шаг при отсутствии контроля АД на монотерапии, но и сразу в начале терапии у пациентов высокого сердечно-сосудистого риска, когда требуется быстро достигнуть контроля АД.

### Ограничения

Исследование имеет очевидные ограничения, связанные с его наблюдательным нерандомизированным несравнительным, неинтервенционным характером, что может ограничить интерпретацию полученных результатов, и не позволяет сделать заключение о сравнительной эффективности изученного режима терапии. Тем не менее наблюдательный характер исследования позволяет получить большой объем данных в широкой популяции российских пациентов с АГ, что делает его результаты особенно ценными для практикующих врачей в нашей стране.

### Заключение

Фиксированная комбинация антагониста кальция амлодипина и БРА валсартана (препарат Эксфорж) обеспечила эффективное зависимое от дозы снижение АД, которое соответствовало исходному уровню его повышения, и позволила абсолютному большинству пациентов добиться целевого уровня АД. Преимущество комбинации препаратов в виде одной таблетки, прежде всего, отразилось в лучшем контроле АД по сравнению со свободной комбинацией амлодипина и валсартана. Таким образом, мощное и адекватное снижение АД, продемонстрированное в данном исследовании, надежный контроль уровня АД и хорошая переносимость позволяют рекомендовать препарат Эксфорж в качестве средства первого выбора для пациентов с АГ, в том числе с АГ 2–3-й степени и высокого сердечно-сосудистого

риска, требующих более интенсивного медикаментозного вмешательства уже на ранних этапах лечения.

### Литература:

1. Шальнова С.А. и др. Артериальная гипертензия: распространенность, осведомленность, прием антигипертензивных препаратов и эффективность лечения среди населения Российской Федерации. *Рос. кардиол. журн.* 2006; 4: 45–51.
2. Mancia G et al. 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens* 2007; 25 (6): 1105–87.
3. Chobanian A. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003; 42: 1206–52.
4. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Рекомендации РМОАГ и ВНОК 2008, 3-й пересмотр. *Кардиоваск. тер. и проф.* 2008; 7 (6).
5. Леонова М.В., Белоусов Д.Ю., Штейнберг Л.Л., аналитическая группа исследования ПИФАГОР. Анализ врачебной практики проведения антигипертензивной терапии в России (по данным исследования ПИФАГОР III). *Фарматека.* 2009; 12: 98–103.
6. Леонова М.В., Белоусов Д.Ю. Результаты фармакоэпидемиологического исследования артериальной гипертензии в России (ПИФАГОР). *Кардиология.* 2003; 11: 23–6.
7. Jamerson K et al. Benazepril plus Amlodipine or hydrochlorothiazide for Hypertension in High-Risk Patients. *N Engl J Med* 2008; 359: 2417–28.
8. Чазова И.Е., Картов Ю.А., Вигдорчик А.В. от лица исследовательской группы. Эффективность и безопасность комбинации амлодипина и валсартана в лечении артериальной гипертензии в условиях реальной клинической практики: первые результаты российского наблюдательного исследования ЭКСТРА. *Системные гипертензии.* 2010; 2: 18–26.
9. Julius S et al. Outcomes in hypertensive patients at high cardiovascular risk treated with regimens based on valsartan or amlodipine: the VALUE randomised trial. *Lancet* 2004; 363: 2022–31.
10. Weber MA et al. Blood pressure dependent and independent effects of antihypertensive treatment on clinical events in the VALUE Trial. *Lancet* 2004; 363 (9426): 2049–51.
11. Heran BS et al. Blood pressure lowering efficacy of angiotensin receptor blockers for primary hypertension. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; 4: CD003822.
12. Nixon RM et al. Valsartan vs. other angiotensin II receptor blockers in the treatment of hypertension: a meta-analytical approach. *Int J Clin Pract* 2009; 63 (5): 766–75.
13. Gupta AK. Compliance, Safety, and Effectiveness of Fixed-Dose Combinations of Antihypertensive Agents. *A Meta-Analysis. Hypertension* 2010; 55: 399–407.
14. Mancia G, Laurent S, Agabiti-Rosei E et al. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document. *J Hypertension* 2009; 27: 2121–58.

Исследовательская группа: Абдалиева Ч.А., Абдураупова П.М., Абубакирова А.И., Авдеева О.В., Агапова В.И., Аюмов В.И., Адамьян М.М., Аипова Р.А., Акопян А.П., Алейникова Л.М., Александрова В.Н., Александрова Е.В., Алексеева Т.В., Алексеенко М.В., Алексейчикова Н.В., Алопина Н.О., Алферова И.В., Андреев П.В., Андреева Е.В., Андриевская Е.М., Андриянов М.Т., Андрушишина Т.Б. Антипова А.Д., Антонов А.С., Антонова Е.В., Анфалова Л.К., Арабаджи Н.И., Арамян И.Г., Арсеньева О.А., Артамошина Н.А., Астаева К.А., Афанасьева Н.Б., Ахметова Г.М., Ахметшина А.Ф., Ахуткина О.Ю., Ашууркова Е.А., Багдулина Е.Н., Байчоров И.Х., Баранова Ю.С., Барац Е.С., Бардаш Г.А., Басова Т.И., Батаговский В.Л., Баталова И.А., Бахарева Н.П., Бедешева Э.В., Без-

людова ЕА, Безьямный АС, Белавина СВ, Белов ВН, Белогорцева НВ, Бердник КВ, Бережняк ОА, Березин ВВ, Бидзишвили РИ, Бизменова АА, Бизяева НН, Бижуева СУ, Богданова НА, Богданова СГ, Богданович ОВ, Богомоллова СВ, Богородский СМ, Бозиева ФХ, Бокучава НВ, Бондаренко ОП, Бонихова ОЛ, Бородина НП, Бородулина ЕВ, Босьякова НА, Бугаева ЕВ, Бужина ЗД, Булахова ЕЮ, Бутицев ВА, Бутяева ОВ, Бушкова Л, Валиева НИ, Валикулова ФЮ, Валовьева СЮ Варнакова ЛН, Васильев ЕВ, Васильева АМ, Васильева ЛБ, Васильченко ИИ, Вахрулина НК, Вдовченко ЛП, Вейнберг НА, Велижанина ИА, Верховцева ЮО, Верхотурова ОА, Вершинина АМ, Вилкова ОЕ, Виноградова НС, Винокур ТЮ, Владимирский ВЕ, Власова ТА, Власянц ЕА, Возисов АС, Войнова ЮВ, Волгунова НА, Волков ДН, Галанинский ПВ, Галлахметова ОВ, Галушков СВ, Ганев АЛ, Гаранин АВ, Гелос МБ, Герент ГЯ, Гилинская ОМ, Гильфанова ВШ, Гинзбург ТА, Глухова ММ, Голотвин МВ, Горбачева ЕВ, Горбенко ИГ, Горбунова ЕН, Гордина ВИ, Горчакова ЕВ, Горшкова ТВ, Графчева СА, Гребенюк СВ, Григорян ИА, Гридасова РА, Гриднева ЕА, Губенко ОВ, Гузов ДИ, Гуков АО, Гуминиченко ГЕ, Гусейнова МА, Гусятникова ТА, Давлетова ЕА, Давыдова МА, Давиденко МА, Двинова ЛА, Двинянинова ТС, Дворников ВЭ, Девятьярова ЕА, Джха ОО, Диденко ЛА, Диденко ОИ, Дикарева ТВ, Долбинина ТИ, Доскина ЕВ, Дымбрылова НЦ, Елисева НП, Емельянова ЕБ, Еремеева ОА, Еременко ИА, Ермоченко ТН, Ерошина НМ, Есенокова АК, Ефимова АК, Ефимова НВ, Жабина ЛИ, Жевагина ИА, Жернаков СВ, Жигунова ЛВ, Жукова ЕВ, Жукова НВ, Зайцева АД, Залесская ЕГ, Заплавная НА, Затольских ЛГ, Захаренкова СН, Захарова АИ, Захарова ЯВ, Зерцалова ЕН, Зорина ЕН, Зубкова ЮН, Ибрагимов РИ, Иванова ВЕ, Иванов НГ, Иващенко ГВ, Иващенко ТН, Игнатова ИВ, Игнатьева ОА, Ильиных ЕА, Иосава ИК, Иремашвили НД, Исламова ДС, Казарменков ПА, Калганова ЕИ, Калитникова ЕВ, Каменева ТВ, Капитанова ОМ, Карандасова ТМ, Карташова ЛВ, Картина НП, Кейнова ЕЕ, Киселева ИВ, Киселева ЮА, Кичигина ОА, Клементьева ГП, Клименко НВ, Клыкова ЛН, Кобелева ЕВ, Коблякова ИИ, Ковалев АА, Коваленко НП, Колесникова АЛ, Колина ИГ, Колодин ДЛ, Колодина МВ, Комаров АА, Комелов ВН, Кондрашева МН, Коновалова ЕИ, Конюшкова РЛ, Корешкина МИ, Коржавина НН, Корженков НП, Корнилова НВ, Коровина НА, Коротина НВ, Косарев ММ, Кочетова НВ, Кочнова ВА, Красюкова ЕА, Кудрина ЕА, Кудряшов ЕА, Кудряшова ЕА, Кузина ТА, Кузнецова ГА, Кузнецова ГМ, Кузнецова ЕА, Кузьмина ВА, Кузякина МВ, Курриянов АН, Курочкина НГ, Курочкина НМ, Куткина ОА, Кучерявая ТЮ, Лазарев АВ, Лапина ЕВ, Ларионова АП, Лапманова ЕГ, Лебедева КА, Лебедева НВ, Лейнова ЕВ, Леонидова АЗ, Леонова ОА, Липчанская ТП, Логунова ЮВ, Лугин АП, Лунева ЕБ, Лысенко МН, Лысенко НБ, Ляшенко СА, Мазыкина ОГ, Макарова ГВ, Макарова СВ, Маклакова МП, Макова НА, Максимова ОБ, Максимова СВ, Малафеева ОЮ, Малахова ЕВ, Маловик Мальгина МП, Мамучашивили ВГ, Мануйлова АА, Маринина ОА, Мартельянова ЕГ, Мартынова ЕВ, Маслова СВ, Маслова ЮВ, Масычева ТГ, Мельникова ЛА, Метелева НА, Мильцева ЕС, Митрохина

ТВ, Митрошина ТН, Михайлова РЮ, Михайловская ЕН, Михлик РВ, Мищенко НГ, Мищук ВВ, Мозерова ЕМ, Мокиевская АН, Молчанова ИВ, Молчанова ИВ, Монеткина ЛВ, Морозова ЛМ, Морозова ТЕ, Мошкова ГГ, Мудрова НА, Набиуллина ТА, Набоких НН, Найденова ЕН, Наумова ЛВ, Низматуллина РХ, Николаева ИЕ, Николаева ЭА, Николин ДЮ, Никонорова НН, Нифталиева ОМ, Новик ЛМ, Новодворская АЮ, Новоженева ЕВ, Ночевкин ЕВ, Нуралиев ЭЮ, Образцова МК, Огородникова Олейникова НВ, Орлов ФА, Орлова ОИ, Осадчук ЕА, Осипов ДА, Осипова ВВ, Оскерко ВД, Папиашвили НИ, Павлов АМ, Пархандеева ТС, Патрушева ИФ, Пендюх СВ, Перкова ЕМ, Петрашек ЕИ, Петров АА, Петров ЭВ, Петрова ИВ, Петрушенкова ТА, Пивоварова НГ, Пычхадзе ЕИ, Плисок АГ, Подобедова ТИ, Поляева ЛВ, Поляков МВ, Полякова ТФ, Попова ВИ, Попова ЮР, Поспелова НВ, Постникова ЕЮ, Потапова ТП, Пошинова ИВ, Провоторова ЛИ, Прокудина ТВ, Пронина ТН, Просяникова НЮ, Пулатова СЮ, Пиеший АР, Пятава ОБ, Рамлова ОА, Рахматуллина АР, Рачинская ЗВ, Резник ИМ, Ровинская АВ, Розбицкая ИИ, Романенко ВВ, Ромашевский БВ, Ротовская ОЮ, Руда ИВ, Румянцев НВ, Рушкова ОМ, Рустамова ЗС, Рыжов СА, Саакова КВ, Самсонова АЮ, Савельева ЕВ, Сазанова ЛС, Самохвалова НН, Самсонова ИВ, Санкова АВ, Сапронова ОП, Севрюк НП, Семаева ЕВ, Семенова АК, Семенова ФС, Семенова ЮВ, Семухина ЕН, Сенчихин ВН, Серова ЕВ, Сивкова ЕБ, Силантьева ЛБ, Силкина НН, Синельникова АГ, Синюкова АС, Сиротенко ДВ, Скворцова ТЭ, Смердова НЛ, Смирнова ЕЮ, Смирнова МД, Смирнова МК, Соколова ЕА, Солдатова СВ, Сосипатрова ГА, Спивак ЕЮ, Староверова ТА, Степанов БП, Степанова АЮ, Стрежова ЛД, Суслонина ЕВ, Строчкина ТК Стурова ЕВ, Стророва ТК, Суворов АВ, Сулим ЮН, Сурнина МС, Суслина МВ, Суханова ОВ, Сушкова МВ, Сюмакова СА, Танкаян ИХ, Терентьева АЕ, Тихомирова ЮИ, Ткачева НБ, Ткачик НЛ, Трапезникова АИ, Трапезникова ЕВ, Тренева ГО, Третьякова ЕА, Третьяк ЗВ, Троценко АД, Трусилкина ВВ, Труфанова НВ, Тузкова ОМ, Тхоржевская ЛЕ, Тышкевич СН, Уваров СЮ, Узденова АБ, Урусова ИИ, Устенко ОК, Устинова ЕВ, Устюгов СА, Уткина СВ, Ушакова ВВ, Ушакова ВГ, Федотова ЕФ, Федотова НГ, Фендрикова АВ, Филиппов ВЮ, Филиппова МИ, Филиппченко ТС, Фоминых МИ, Фоница ГА, Фофанова ТВ, Фрид СА, Хайдарова ТГ, Халикова ЗМ, Ханбекова РА, Харламова МС, Хартова НВ, Химушкова ЕЮ, Хлудеева ЕА, Хорошая ЛН, Хузина АК, Хурс ЕМ, Цветкова ЛА, Целых ЕА, Цыганова НБ, Чапаева НН, Чащина ОИ, Черкес НК, Черноятова ЛП, Черныш ВН, Чирковская МП, Читалкина АК, Чугаев АИ, Чугунова ИВ, Чудиновских ЮА, Чукаев СА, Чурашова ОЮ, Шабалина ЕГ, Шалина МА, Шалуткин НВ, Шаратова НЯ, Шатунова ИМ, Шашкова ТВ, Шеледего ЕЮ, Шелехова МБ, Шелохаева ТН, Шелудько ЮН, Шерстянникова ОМ, Шиганова ГМ, Шилоносоев СН, Широков ВА, Шмелева ЕВ, Шнягина ИС, Шульгина ТА, Шуркевич НП, Щербак ВВ, Щербакова ИВ, Щербакова НА, Щербакова СВ, Щукин МВ, Щукина ГИ, Щукина НВ, Эйдельман СЯ, Юркина ЖН, Яковенко ЕИ, Яковлева ИГ, Ямлова АГ.

— \* —

В.П.Масенко, К.А.Зыков

## Клиническая иммунология в Российском кардиологическом научно-производственном комплексе

НИИ клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова, РКНПК Минздравсоцразвития, Москва

### Аннотация

В статье представлена история становления иммунологических исследований в кардиоцентре, начиная с образования группы иммунологии в составе лаборатории биохимии НИИ клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова. Указаны основные направления научной работы и достижения за время изучения иммунологических аспектов сердечно-сосудистой патологии. Показана постепенная эволюция взглядов врачей-клиницистов на значимость методов клинической иммунологии: от научных работ к активному применению в повседневной практике кардиологических отделений института. **Ключевые слова:** иммунология, кардиология, воспаление, кардиомиопатия, легочная гипертензия, аритмия.

VP. Masenko, KA. Zykov

**Clinical immunology at the Russian Cardiology Research-and-Production Complex**  
AL. Myasnikov Research Institute of Clinical Cardiology, Russian Cardiology Research-and- Production Complex, Ministry of Health and Social Development of Russia, Moscow

### Annotation

The paper describes the history of immunological studies at the Cardiology Center, from the setting up of an immunology group included into the Laboratory of Biochemistry, AL. Myasnikov Research Institute of Clinical Cardiology. It gives basic research areas and advances while studying the immunological aspects of cardiovascular disease. The authors show the gradual evolution of clinicians' point of view of the importance of clinical immunological techniques: from researches to their active use in the daily practice of the Institute's cardiology departments.

**Keywords:** immunology, cardiology, inflammation, cardiomyopathy, pulmonary hypertension, arrhythmia.

### Сведения об авторах:

Масенко Валерий Павлович – рук. отд. иммунологических и нейрогуморальных исследований НИИ клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова, РКНПК Минздравсоцразвития, тел.: 414-61-50 (e-mail: massenko@mail.ru)

Зыков Кирилл Алексеевич – рук. лаб. иммунопатологии сердечно-сосудистых заболеваний НИИ клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова, РКНПК Минздравсоцразвития, тел.: 414-61-50

В становлении клинической иммунологии в РКНПК можно проследить несколько этапов: от первоначального настороженного отношения до полного понимания клиницистами-кардиологами необходимости исследования иммунологических механизмов в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и их значимости для лечения. Иммунология как наука сравнительно «молода» и должна постоянно доказывать свою значимость.

Сравнительно недавно – во второй половине прошлого века – стало понятно, что основные иммунологические процессы происходят на молекулярном и клеточном уровнях, изучение которых было невозможно во времена Л.Пастера, П.Эрлиха, И.Мечникова и др. И если ранее иммунология воспринималась лишь как наука об устойчивости к инфекциям, то в настоящее время ее рассматривают как «науку о биологической индивидуальности организма и механизмах сохранения этой индивидуальности». Именно при таком подходе иммунологические механизмы стали активно изучать и использовать для объяснения различных процессов, лежащих в основе

формирования клинической картины многих заболеваний.

Уже пройден путь от этапа констатации важности иммунных механизмов в развитии многих ССЗ до использования различных иммунологических параметров в качестве маркеров активности патологического процесса (в первую очередь, воспалительного) и попыток разработки с учетом изученных механизмов иммуноотропных методов лечения. Возможности использования таких подходов активно исследуются при воспалительных кардиомиопатиях [1], васкулитах [2], нарушениях ритма сердца, обусловленных иммунологическими механизмами [3], активно изучается проблема воспалительного генеза атеросклероза (АС) [4] и др. В настоящее время происходит интенсивное накопление материала, анализ которого часто приводит к пересмотру позиций и взглядов, еще недавно считавшихся незыблемыми.

Следует отдать должное академику И.К.Шхвацабая (в 1967–1988 гг. возглавлявшему Институт кардиологии им. А.Л.Мясникова АМН СССР), который первым оценил актуальность и научно-практическую необходимость оценки иммунной си-

стемы при широком спектре сердечно-сосудистой патологии (ССП) и во многом способствовал созданию в институте в 1979 г. группы клинической иммунологии (руководитель С.Г.Осипов) в составе лаборатории клинической биохимии.

Все возрастающий интерес кардиологов к иммунологическим и нейрогуморальным аспектам развития, диагностики и лечения ССП, связанные с этим расширение спектра и увеличение объема проводимых исследований, внедрение новых современных методов исследований стали закономерной причиной организации в НИИ кардиологии им. А.Л.Мясникова ВКНЦ АМН СССР в 1985 г. лаборатории клинической иммунологии, которую возглавил Е.Л.Насонов, и последующего ее преобразования в 2004 г. в отдел нейрогуморальных и иммунологических исследований – комплексное подразделение, включающее лабораторию нейрогуморальной регуляции ССЗ (руководитель – В.П.Масенко) и лабораторию иммунопатологии ССЗ (руководитель – К.А.Зыков), а также группы сотрудников, обеспечивающей повседневную практическую потребность клинических отделений в гормональных, иммунологических и серологических исследованиях, в том числе в диагностике инфекционных заболеваний, таких как ВИЧ и TORCH-инфекции (*Toxoplasma Rubella*, *Cytomegalovirus* *Herpes*).

С первых шагов были определены задачи: максимально возможное участие иммунологических исследований в практику подразделений в научной деятельности клинических отделов института, а также выбор основной научной проблемы в собственной исследовательской деятельности. Таковой стала (задолго до того, как появился устойчивый интерес кардиологов к проблемам хронического воспаления как первопричины развития АС) роль воспаления в патогенезе многих ССЗ.

Уже первые клинико-иммунологические исследования пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) определили стратегически важное направление – изучение роли иммунных комплексов в возникновении и развитии АС и ИБС. Выяснение качественно-количественных и физико-химических параметров иммунных комплексов в крови больных с ИБС с коронарным АС выявило наличие взаимосвязи между изменением функциональной активности тромбоцитов и повышением уровня больших циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) и достаточно высокую степень их влияния (за редким исключением) на агрегацию тромбоцитов [5]. В частности, был установлен неизвестный ранее феномен подавления агрегации тромбоцитов при их высоком уровне растворимыми иммунными комплексами с малой молекулярной массой [6, 7]. Показано, что малые ЦИК по своим биологическим свойствам относятся к блокирующим факторам крови (избыток ЦИК может быть причиной блокирования рецепторного аппарата эндотелиальных клеток) и при взаимодействии с клеточными элементами, имеющими важное значение в атерогенезе, оказывают ингибирующее воздействие: подавляют агрегацию тромбоцитов, снижают функциональную активность лимфоцитов, вызывают нелинейное поражение моноцитарных эндотелиальных клеток – изменение их

морфометрических показателей и открепление [8, 9], что может указывать на иммуноопосредованное развитие АС. Были исследованы неспецифические факторы иммунитета и характер элиминации иммунных комплексов у больных инфарктом миокарда (ИМ) [10] и показано, что высокие концентрации ЦИК и С-реактивного белка (СРБ) при отсутствии активации фагоцитоза и системы комплемента могут быть важными показателями для дифференцированного подхода к реабилитационным мероприятиям при ИМ. Установлено значение анализа уровня  $\beta_2$ -микроглобулина в крови и его экспрессии на лимфоцитах, которые можно рассматривать в качестве интегрального показателя состояния иммунной системы в норме и при оценке иммунореактивности пациентов с ИБС [11].

В практическую работу были внедрены методы иммунологического анализа для оценки эффективности гемосорбции при симптоматической артериальной гипертензии (АГ) почечного генеза [12], определения цитооксической активности клеток крови и иммунореактивности пациентов с дилатационной кардиомиопатией (ДКМП) с целью подбора иммунокорректирующей терапии [13, 14] и оценки эффективности плазмафереза (преодоления рефрактерности к гипотензивным препаратам) при АГ [15].

С 1984 г. начались исследования иммуногенетического профиля при гипертонической болезни, которые были успешно продолжены с 1988 г. вновь созданной группой клинической иммуногенетики (руководитель – С.Г.Осипов) отдела артериальных гипертензий (руководитель – Г.Г.Арабидзе), в ходе которых выявили достоверное повышение функциональной активности системы комплемента, уровня его компонентов и носительства аллотида С3f третьего компонента комплемента, повышающего показатель относительного риска развития ИБС у больных АГ [16–18].

В 1985 г. исследования роли иммунопатологических механизмов в развитии ССЗ были продолжены и значительно расширены за счет совместных исследований с НИИ ревматологии РАМН СССР и другими научно-исследовательскими центрами страны. В 1986 г. в процессе длительного проспективного наблюдения впервые было проведено широкомасштабное исследование уровней большого спектра иммунологических маркеров ССП, в том числе белков острой фазы воспаления, показателей активации клеточного иммунитета (цитокинов и их растворимых рецепторов, неоптерина), дисфункции эндотелия (растворимых клеточных молекул адгезии, антигена фактора фон Виллебранда, оксида азота), аутоантител (антител к фосфолипидам – АТФЛ, к окисленным липопротеидам низкой плотности, антиэндотелиальных клеточных АТ), ЦИК, субпопуляций лимфоцитов у больных с разными формами ИБС (острым ИМ, нестабильной и стабильной стенокардией) и атеросклеротическим поражением периферических сосудов, кардиомиопатией (КМП). Анализ динамики этих показателей позволил клиницистам поновому подойти к оценке факторов риска, эффективности лечения (статины, ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента – ИАПФ), оперативного лечения ИБС (прогнозирование развития рестеноза) и выявления наиболее информативных иммунологических тестов, прогно-

зированию осложнений и исходов ССЗ, а также уточнить связь между иммунными маркерами и классическими факторами риска развития ИБС.

Особое внимание уделялось исследованию антифосфолипидного синдрома (АФС) – уникальной модели аутоиммунной тромботической васкулопатии, изучение которой имеет существенное значение для расшифровки взаимосвязи между такими патологическими процессами, составляющими основу сосудистой патологии при заболеваниях человека, как воспаление, АС и гиперкоагуляция [19].

В ходе этих совместных с отделом ангиологии (руководитель – Ю.А.Карпов) исследований изучены молекулярные механизмы взаимодействия ФЛ со специфическими АТ к ним, подтверждена центральная роль связывающих ФЛ белков плазмы крови, в первую очередь кофактора  $\beta_2$ -гликопротеина 1 ( $\beta_2$ -ГП I), являющегося естественным антикоагулянтом, в реализации патогенного действия АТ к кардиолипину (КЛ). Изучена аминокислотная последовательность  $\beta_2$ -ГП, установлена структура эпитопа, участвующего в распознавании антифосфолипидными АТ фосфолипидных детерминант [20]. Показана роль АТ к антифосфолипидам и связывающим ФЛ белкам у больных АС нижних конечностей и коронарных сосудов как маркеров (наряду с некоторыми молекулами адгезии) риска развития тромботических осложнений [21]. Исследования первичного и вторичного АФС впервые позволили отнести первичный АФС к группе аутоиммунных заболеваний. Обнаружена перекрестная активность АТФЛ и эндотелиальных клеток, являющаяся важным фактором патогенеза АФС; установлено повышение концентрации в сыворотке крови растворимых клеточных молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1, E- и P-селектинов), фактора фон Виллебранда, провоспалительного цитокина – фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), оксида азота, свидетельствующее о способности АТФЛ индуцировать активацию/дисфункцию эндотелия [22]. Показано, что АТФЛ играют важную роль в диагностике АФС, оценке риска развития тромбозов и атеросклеротических нарушений у больных с ССП, дифференциальной диагностике клапанных поражений сердца, коагулопатий, воспалительных и дегенеративных поражений сосудов [23, 24]. Кроме того, получены данные, касающиеся связи между гиперпродукцией провоспалительных цитокинов (и их растворимых рецепторов) и маркерами дисфункции эндотелия (pKMA, FBAg), позволяющие выявить фундаментальную роль зависимой от цитокинов активации эндотелия в развитии сосудистой патологии.

При изучении роли анафилатоксинов С3а и С5а, компонентов системы комплемента С3 и С4, АТ к КЛ, IgG, IgA, IgM, IgE и ЦИК в развитии тромбозомболических осложнений у пациентов с ДКМП и гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП), оказалось, что уровень С3а значительно выше при ДКМП, чем при ГКМП и у доноров. В то же время у пациентов с ДКМП и концентрация в крови С3а также выше (в 2 раза), чем у пациентов без тромбозомболических осложнений, что позволило утверждать о значимости анафилатоксинов в развитии этих осложнений [25].

Совместно с отделом сердечной недостаточности (руководитель – Н.М.Мухарьямов) удалось

впервые обозначить у больных ДКМП спектр нарушений клеточного и гуморального иммунитета и гормональной регуляции, установить тесную связь между нарушениями иммунорегуляции и возникновением аутоиммунных реакций при данном заболевании. Впервые был обнаружен иммуномодулирующий эффект ИАПФ при ДКМП, достигающийся не только за счет гемодинамической разгрузки миокарда и снижения диастолического стресса, но и путем снижения уровня ФНО- $\alpha$  (подавления его синтеза в КМЦ) [26].

С середины 1980-х годов наше внимание привлек неоптерин – низкомолекулярное вещество, синтезируемое активированными моноцитами и макрофагами из гуанозинтрифосфата под действием цитокинов Th 1-го типа интерферона- $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ), ФНО- $\alpha$  и интерлейкина-2 (ИЛ-2). Внедрение методов высокоэффективной хроматографии (ВЭХ) и радиоиммунологического анализа (РИА) для его определения в практику нашей лаборатории позволило установить роль неоптерина как маркера активации клеточного иммунитета и изменения иммунного статуса пациентов с воспалительными процессами при ССЗ. Тесная корреляция уровней неоптерина и растворимых рецепторов ФНО- $\alpha$  и ИЛ-2 с классом хронической сердечной недостаточности (ХСН) по NYHA позволила считать их маркерами тяжести ХСН [27].

В совместном исследовании с отделами атеросклероза и ангиологии (руководители – В.Г.Наумов и Ю.А. Карпов), законченном в 2005 г. и посвященном роли СРБ, определяемого высокочувствительным методом (ВЧСРБ) [28] наряду с другими маркерами воспаления (интерлейкины, КМА) как факторами, связанными с развитием и прогрессированием тяжести коронарного АС и развитием рестеноза при медикаментозном и хирургическом лечении у больных ИБС (более 500 человек) в условиях длительного проспективного наблюдения, было установлено, что повышение уровня ВЧСРБ имеет значение для прогноза развития рестеноза стента после коронарной ангиопластики. Больные с возвратом стенокардии в течение 12 мес после успешной коронаропластики характеризовались повышением содержания ВЧСРБ по сравнению с его содержанием у больных без рецидива стенокардии как до, так и после ангиопластики. Повышение уровня ВЧСРБ также предвосхищало развитие острых тромботических осложнений в ходе коронарной ангиопластики или вскоре после нее. Эти данные позволили утверждать, что ВЧСРБ является независимым предиктором возврата стенокардии после успешной коронарной ангиопластики. Измерение уровня ВЧСРБ как скринингового показателя очень важно для прогнозирования риска развития ССЗ и как метод контроля за гиполлипидемической терапией у пациентов с ИБС и гиперхолестеринемией. Установленное достоверное снижение уровня ИЛ-6 свидетельствовало о наличии выраженного противовоспалительного эффекта аторвастатина [29].

В последние годы научные интересы отдела были сфокусированы на исследовании роли иммунологических и нейрогуморальных механизмов в процессах ангиогенеза, в развитии воспалительной КМП (ВКМП), первичной легочной гипертензии (ПЛГ), мерцательной аритмии и АС.

В рамках изучения процесса ангиогенеза, в том числе участия в нем воспаления, совместно с отделом атеросклероза (руководитель – В.В.Кухарчук) впервые была проведена комплексная оценка изменения динамики факторов ангиогенеза у пациентов с ИБС. Удалось установить роль фактора роста фибробластов (FGF- $\beta$ ), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), его рецептора (sVEGF-R1), трансформирующего фактора роста- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ), эндостатина в возможном влиянии статинов на механизм стабилизации атеросклеротической бляшки [30–32].

Важной работой было изучение динамики уровня VEGF и TGF- $\beta_1$  у пациентов с ИБС после проведения транслюминальной баллонной ангиопластики (ТБКА). Полученные данные позволили сделать вывод о том, что повышенный уровень VEGF и пониженный уровень TGF- $\beta_1$  могут ассоциироваться с ИБС. Отмечено, что после проведения ТБКА уровень VEGF достоверно снижается. Выявлена прямая связь уровня этого фактора роста с тяжестью поражения коронарных сосудов. В то же время убедительно показано, что метод наружной контрпульсации, направленный на реваскуляризацию миокарда, активирует эндогенные механизмы ангиогенеза, повышая уровень VEGF и снижая уровень эндостатина и TGF- $\beta_1$  [33].

АС больше не рассматривают как состояние, связанное лишь с нарушением липидного обмена. Изучение роли воспалительных механизмов в патогенезе АС как ключевых в формировании атеросклеротической бляшки от инициального рекрутирования лейкоцитов в стенку артерии до разрыва бляшки остается одним из основных направлений научного поиска в работе отдела. Эти исследования важны для создания предпосылки к расшифровке механизмов воспаления, выявления скрыто (субклинически) протекающего хронического воспалительного процесса, прогнозирования его осложнений и исходов, для объективной оценки эффективности проводимого лечения при таких патологических состояниях, как атеросклеротическое поражение сосудов, ХСН и др.

В 2008 г. закончено исследование, инициированное академиком Е.И.Чазовым, целью которого было сравнение динамики воспалительного процесса в ходе длительного проспективного наблюдения у больных с разными формами ИБС (острым ИМ, нестабильной и стабильной стенокардией) и атеросклеротическим поражением периферических сосудов. Во время исследования оценивали динамику уровней и взаимосвязь разных иммунологических параметров: ИЛ (ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-18), ВЧСРБ, (ФНО- $\alpha$ ), молекул адгезии клеток (sVCAM), неоптерина, хемокина MCP-1 для уточнения значения этих показателей в прогнозировании исходов атеросклеротического процесса, эффективности лечения (статинов, ИАПФ), оперативного лечения (прогнозирования риска рестеноза) и выявления наиболее информативных иммунологических показателей, а также изучения связи между иммунными маркерами и классическими клиническими и лабораторными факторами риска ИБС.

Полученные результаты позволили утверждать, что при исследовании особенностей воспалительного процесса при ИБС важную роль приобретает оценка не только абсолютных значений

содержания факторов воспаления, но и взаимосвязей различных патогенетических звеньев воспаления.

Был сделан вывод о том, что при нестабильной стенокардии и хронической ИБС воспаление характеризуется иммунологическими процессами разной выраженности: при остром коронарном синдроме (ОКС) имеется более тесная взаимосвязь между маркерами активности воспаления, факторами хемотаксиса и маркерами активации моноцитов. Хемотаксические факторы (MCP-1) играют важную роль в патогенезе воспалительного ответа при ОКС и могут являться потенциальной мишенью для терапевтических воздействий.

Обнаружена тесная взаимосвязь между выраженностью воспалительного процесса и уровнем в крови неоптерина. Показано, что процесс взаимодействия СРБ и неоптерина двусторонний: при дальнейшем развитии воспаления при ОКС уровень СРБ является предиктором дальнейшего изменения уровня неоптерина, а концентрация неоптерина (т.е. уровень активации моноцитов) является предиктором выраженности воспаления.

Установлено, что у пациентов с ХСН ишемического и воспалительного генеза ее тяжесть связана с выраженностью гуморального аутоиммунного компонента (антимиеокардиальных аутоантител) и коррелирует с активностью системного воспалительного ответа – повышением уровня медиаторов воспаления (при ИБС – СРБ, ИЛ-6 с NT-proBNP, при ДКМП – ИЛ-8 с NT-proBNP), что указывает на участие воспалительной реакции в патогенезе сердечной недостаточности у данной категории больных [34].

В содружестве с рядом клинических отделов НИИ кардиологии им. А.Л.Мясникова в последние годы продолжались исследования по выявлению участия гуморальных факторов воспаления и эндотелиальной дисфункции в механизме иммунокорректирующего действия статинов. Выяснение действия статинов у пациентов с ХСН, развившейся при ДКМП, ранее не получавших их, и у больных с ХСН, развившейся при ИБС, получавших их в течение длительного времени, позволило нам сравнить механизмы иммунного дисбаланса при этих состояниях и выявить особенности иммунотропного действия статинов, что в свою очередь позволило уточнить показания к назначению статинов при ХСН. После проведенного скрининга в исследование включили больных с ХСН I–IV функционального класса (NYHA), осложнившей течение ИБС или ДКМП. При ХСН у пациентов с ИБС и ДКМП выявлена эндотелиальная дисфункция и показано, что ее выраженность тесно связана с системной воспалительной реакцией. При этом тяжесть ХСН была обусловлена выраженностью гуморального аутоиммунного компонента (наличием антимиеокардиальных аутоантител) и коррелирует (при оценке по уровню NT-proBNP) с повышением уровня медиаторов воспаления (при ИБС – СРБ, ИЛ-6 с NT-proBNP, при ДКМП – ИЛ-8 с NT-proBNP), что указывает на участие воспалительной реакции в патогенезе ХСН у данных категорий больных, а активность системного воспалительного ответа коррелирует с нарушением систолической и диастолической функции сердца. Одновременно было установлено, что развитие нарушений ритма сердца (преимущественно по типу мерцательной

аритмии) при ХСН ассоциируется с повышением уровня медиаторов воспаления (ИЛ-18, sIL-2R, ИФН- $\gamma$ , ВЧСРБ) [35, 36].

Отмечено, что иммунокорригирующая активность статинов при ХСН в значительной степени зависит от патогенетических особенностей процесса, который явился причиной развития ХСН. При ХСН, обусловленной ДКМП, снижались уровни провоспалительных медиаторов воспаления (ИЛ-8, ИЛ-18, sIL-2R) и повышалось содержание противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10). При ХСН, развившейся у пациентов с ИБС, выявлены разнонаправленные изменения уровня провоспалительных факторов: снижение уровней СРБ, ИФН- $\gamma$ , ИЛ-8, sIL-2R, метаболитов оксида азота, повышение уровня ИЛ-6, IgG и противовоспалительного цитокина ИЛ-10. Это свидетельствует о том, что лечение статинами не позволяет корригировать все звенья воспалительного процесса. Разработаны клинические рекомендации, уточняющие показания к применению статинов у пациентов с ХСН при ДКМП для улучшения клинического течения заболевания, снижения функционального класса ХСН и степени сердечной декомпенсации, а также улучшения систолической функции сердца [37].

Практические рекомендации по лечению КМП, как правило, сводятся только к лечению ХСН и не касаются этиологических причин развития ХСН. В России нет единой классификации КМП, как нет и единых подходов к диагностике и лечению данной патологии. По этой причине с 2006 г. одним из направлений научной работы отдела вновь стали исследование особенностей (изучение иммунологических и нейрогуморальных механизмов) патогенеза, разработка на этой основе алгоритмов лабораторной диагностики и мониторинга, а также лечения пациентов с воспалительными поражениями миокарда, в частности с так называемой ВКМП.

В ходе выполнения I этапа работы при ВКМП выявлен системный воспалительный ответ по клеточному и гуморальному звену с активацией аутоиммунных механизмов. Отмечено, что воспалительная активность протекает преимущественно по Th1-типу, и установлено, что определение маркеров активации лимфоцитов (CD25, CD95, HLA-DR) более информативно, чем определение уровня гуморальных факторов воспаления. При этом результаты иммуноотропной и этиотропной терапии зависят от фазы воспалительного процесса (инфекционной или аутоиммунной) и от выраженности вторичного иммунодефицита. Уточнены наиболее информативные показатели для оценки патогенетических особенностей ВКМП и назначения этиотропной и патогенетической терапии. На этой основе предложен и внедрен в практику работы РКНПК алгоритм лабораторного сопровождения пациентов с ВКМП (диагностика и мониторинг состояния).

Во время II этапа работы будут обследованы пациенты с ВКМП, у которых предполагается наиболее полно изучить особенности этиологии и патогенеза аутоиммунного и/или вирусного поражения миокарда. Будут проанализированы данные «золотого стандарта» диагностики КМП – эндомикардиальной биопсии. Изучение этиологических факторов развития заболевания, выявленных с помощью эндомикардиальной биопсии и

оценки иммунного статуса, может позволить оптимизировать подходы к лечению ДКМП. На основании результатов исследования будет дана оценка влияния проведенной иммунокорригирующей терапии на клиническое течение заболевания, лабораторные показатели и краткосрочный прогноз больных ВКМП.

Большой интерес представляет исследование патогенеза нарушений ритма сердца у больных без признаков органического заболевания сердечно-сосудистой системы. По сути эта тематика близка к исследованию по ВКМП, только в данном случае у пациентов не зафиксированы структурные поражения миокарда, т.е. основные изменения являются функциональными. Главная задача исследования – выявление местных и системных иммунных воспалительных изменений, которые могут быть причиной развития нарушений сердечного ритма. За рубежом уже описаны успешные попытки патогенетической противовоспалительной терапии фибрилляции предсердий [38–40]. Второй задачей является подбор лекарственной терапии на основании полученных результатов обследования с иммунологическим мониторингом.

Впервые в России нами совместно с отделом артериальной гипертонии (руководитель – И.Е.Чазова) начато изучение роли фракталкина (ФКН) CX3CL1 – единственного хемокина, существующего в растворимой и фиксированной формах, в развитии идиопатической легочной гипертонии (ИЛГ). При исследовании патогенетических аспектов ЛГ нами была проведена работа, в ходе которой определяли сывороточный уровень ФКН у 5 групп пациентов с ЛГ разной этиологии: с ИЛГ, ЛГ на фоне хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), с ЛГ на фоне системной склеродермии, ЛГ на фоне тромбозов легочной артерии и ЛГ, обусловленной наличием врожденных пороков сердца. Важно отметить тот факт, что из 62 человек, включенных в исследование, уровень ФКН оказался выше 0,1 пг/мл только у 8, при этом 5 из них входили в группу с ИЛГ. Повышение уровня ФКН у пациентов прямо коррелировало с уровнем такого маркера воспаления, как ФНО- $\alpha$  [41].

Результаты нашего исследования позволили сделать заключение о значимости ФКН не только как маркера активности воспалительного процесса, но и как важного фактора патогенеза ЛГ. Планируется дальнейшее изучение роли ФКН, его сетевых взаимодействий с другими хемокинами для понимания патогенеза ЛГ и, возможно, для разработки на основе полученных результатов патогенетических методов ее лечения. Мы исходим из имеющихся данных о том, что ряд соединений (например, ресвератрол) снижает уровень экспрессии ФКН на эндотелиальных клетках, индуцированной ФНО- $\alpha$  [42], т.е. в арсенале клиницистов уже есть препараты, которые влияют на функции данного хемокина. Это позволяет рассматривать ФКН и его рецептор CX3CR1 в качестве важных маркеров активации воспалительного процесса, связанного с хемотаксисом разных лейкоцитов (в первую очередь, моноцитов и лимфоцитов) в зону воспаления. Результаты дальнейших исследований, которые необходимы для уточнения взаимодействия CX3CL1 с другими клеточными и гуморальными факторами воспа-



лительного процесса, возможно, позволят на практике использовать ФКН не только как один из маркеров воспалительного процесса, но и как мишень для терапевтического воздействия.

Совместно с отделом сердечной недостаточности (руководитель – С.Н.Терещенко) начаты исследования клинического применения апелина, имеющего выраженный положительный инотропный эффект, для оценки состояния миокарда при ХСН. Планируются изучить и начать использовать рецепторы, активируемые пролифератором пероксисом – PPARs, в качестве терапевтических мишеней и диагностических маркеров при ССЗ для уточнения роли метаболической составляющей сердечной недостаточности.

В последнее время большое внимание в отделе уделяется исследованию кардиореспираторной патологии. Сотрудниками отдела разработаны и запатентованы принципиально новые методы лечения воспалительных заболеваний легких (в частности, бронхиальной астмы и ХОБЛ) с использованием ультранизких доз алкилирующего препарата мелфалана и циклоспорина А, что позволяет улучшить контроль заболевания, снизить интенсивность воспаления в бронхиальном дереве, уменьшить поддерживающую терапию. Показано, что при применении в низких дозах данные препараты имеют не иммунодепрессивный, а иммунокорригирующий эффект [43]. В настоящее время исследуется возможность применения данных подходов и у пациентов с воспалительными поражениями миокарда.

Следует отметить, что одним из важных направлений в работе отдела является участие в доклинических испытаниях различных лекарственных средств, созданных в кардиоцентре, в частности инграмона, оксакома, аналогов апелина и др. Ранее совместно с сотрудниками Института экспериментальной кардиологии (М.И.Титовым, Ж.Д.Беспаловой) было проведено изучение синтезированных ими предсердного натрийуретического фактора и иммуномодулирующих свойств ИЛ-2.

В настоящее время в отделе есть возможность как для решения повседневных клинических задач, так и для проведения научных исследований в области клинической иммунологии на самом современном молекулярно-генетическом уровне. В клиническую практику активно внедряются методы иммунотерапии, применение которых в соответствии с современными требованиями сопровождается иммунным мониторингом. Можно утверждать, что иммунологические методы исследования и методы иммунотропного лечения ССЗ могут занять важное место в научной и практической деятельности РКНПК, что позволяет в конечном итоге повысить качество лечения пациентов с ССЗ.

#### Литература

1. Schultheiss H, KJBI U. State of diagnostics and therapy of inflammatory cardiomyopathy. *Internist (Berl)*. 2008; 49 (1): 7–16.
2. Tervaert J. Vasculitis and the intensive care. *Acta Clin Belg Suppl* 2007; 2: 417–21.
3. Issac TT, Dokainish H, Lakkis NM. Role of inflammation in initiation and perpetuation of atrial fibrillation: a systematic review of the published data. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50 (21): 2021–8.
4. Steinberg D. Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime. *Nat Med* 2002; 8: 1211–7.

5. Турлубеков КК, Оситов С.Г., Касаткина Л.В. и др. Агрегация тромбоцитов и иммунные комплексы сыворотки крови при ишемической болезни сердца. *Кардиология*. 1982; 22: 110–2.
6. Шхвацабая И.К., Оситов С.Г., Турлубеков К.К. и др. Подавление агрегации тромбоцитов иммунными комплексами. *Клинические исследования. Бюл. экспер. биол. и мед.* 1982; 11: 27–9.
7. Оситов С.Г., Турлубеков К.К., Титов В.Н. и др. Подавление агрегации тромбоцитов иммунными комплексами. Влияние преформированных иммунных комплексов на агрегацию тромбоцитов. *Бюл. экспер. биол. и мед.* 1983; 2: 21–3.
8. Оситов С.Г., Титов В.Н., Руднев В.И. и др. Качественная характеристика циркулирующих иммунных комплексов при ишемической болезни сердца. *Тер. арх.* 1983; 4: 42–5.
9. Оситов С.Г., Бахов Н.И., Руднев В.И. и др. Иммунная система при коронарном атеросклерозе. *Бюл. ВКНЦ АМН СССР*. 1987; 1: 11–8.
10. Чан Гиен, Оситов С.Г., Сипатова М.А. и др. Неспецифические факторы иммунитета и элиминация циркулирующих иммунных комплексов у больных инфарктом миокарда в первой фазе реабилитации. *Кардиология*. 1985; 8: 35–7.
11. Оситов С.Г., Кейнова Е.Е., Александрова Л.З. и др. Значение  $V_2$ -микроглобулина в оценке иммунореактивности больных ишемической болезнью сердца. *Иммунология*. 1986; 4: 61–4.
12. Рахмедов Д., Оситов С.Г., Куценко А.И. и др. Иммунологический анализ эффективности гемосорбции при симптоматической гипертензии почечного генеза. *Тер. арх.* 1985; 10: 72–9.
13. Бахов Н.И., Александрова Л.З., Оситов С.Г. и др. Антителозависимая и естественная клеточная цитотоксичность у больных дилатационной кардиомиопатией. *Тер. арх.* 1986; 10: 62–7.
14. Насонов Е.Л., Александрова Л.З., Самсонов М.Ю. и др. Нарушение иммунорегуляции и активации системы иммунитета при дилатационной кардиомиопатии. *Тер. арх.* 1988; 7: 25–30.
15. Легконогов А.В., Кухарчук В.В., Оситов С.Г. и др. Клинико-иммунологическая оценка эффективности плазмафереза в комплексной терапии больных с высокой артериальной гипертензией. *Бюл. ВКНЦ АМН СССР*. 1987; 1: 25–9.
16. Шхвацабая И.К., Оситов С.Г., Суворов Ю.И. и др. ИЛ-1 и система комплемента при гипертонической болезни. *COR et VASA*. 1984; 26: 416–22.
17. Руднев В.И., Поспелов Л.Е., Оситов С.Г. и др. Распределение антителов ИЛ-1 у больных гипертонической болезнью. *Кардиология*. 1985; 8: 38–40.
18. Курочкин Г.С., Грачева Л.А., Оситов С.Г. Иммуногенетика гипертонической болезни. *Тер. арх.* 1991; 4: 144–7.
19. Насонов Е.Л., Карпов Ю.А., Алекперова З.С. и др. Артериальная гипертензия и антифосфолипидный синдром. *Тер. арх.* 1996; 6: 46–9.
20. Александрова Е.Н., Новиков А.Н., Решетняк Т.М. и др. Антитела к  $\beta_2$ -гликопротеину 1 и антитела к кардиолипину при антифосфолипидном синдроме: анализ чувствительности и специфичности. *Клин. мед.* 2003; 9: 25–31.
21. Карпов Ю.А., Вильчинская М.Ю., Фомичева О.А. и др. Проявления ИБС и состояние коронарных артерий у больных антифосфолипидным синдромом. *Тер. арх.* 1995; 5: 27–31.
22. Калашиникова Л.А., Насонов Е.Л., Александрова Е.Н. и др. Ишемические нарушения мозгового кровообращения и поражения клапанов сердца при первичном антифосфолипидном синдроме. *Клин. мед.* 1996; 6: 46–9.
23. Насонов Е.Л., Саложин К.В., Фомичева О.А. и др. Антиэндотелиальные антитела и поражения клапанов сердца при антифосфолипидном синдроме: анализ патогенетических механизмов. *Клин. мед.* 1997; 2: 17–21.

24. Решетняк ТМ, Котельникова ГП, Фомичева ОА и др. Кардиологические аспекты антифосфолипидного синдрома. Часть 1. Клапанные поражения сердца при первичном и вторичном антифосфолипидном синдроме и системной красной волчанке. Кардиология. 2002; 8: 38–43.
25. Насонов ЕЛ, Самсонов МЮ, Александрова ЛЗ и др. Активация системы комплемента при дилатационной кардиомиопатии. Тер. арх. 1989; 4: 59–63.
26. Samsou MYi, Mukbarlyatov NM, Naumov VG et al. Immunity status in patients with presumably hereditary dilated cardiomyopathy. 3rd Congress of pediatric cardiology Bangkok Thailand 1989; p. 127k.
27. Самсонов МЮ, Насонов ЕЛ, Масенко ВП и др. Сывороточный неоптерин при дилатационной кардиомиопатии. Тер. арх. 1990; 4: 72–4.
28. Александрова ЕН, Новиков АА, Насонов ЕЛ. Высокочувствительные методы определения С-реактивного белка (обзор литературы). Клин. лаб. диагност. 2004; 11: 16–8.
29. Насонов ЕЛ, Панюгова ЕВ, Александрова ЕН. С-реактивный белок – маркер воспаления при атеросклерозе (новые данные). Кардиология. 2002; 7: 53–62.
30. Сергиенко ИВ, Семенова АЕ, Масенко ВП и др. Влияние терапии статинами на динамику сосудистого эндотелиального фактора роста и фактора роста фибробластов у больных ишемической болезнью сердца. Кардиология. 2009; 12: 4–10.
31. Сергиенко ИВ, Семенова АЕ, Масенко ВП и др. Влияние различных доз статинов на коронарный ангиогенез у больных ишемической болезнью сердца. Кардиоваск. тер. и проф. 2009; 5: 22–5.
32. Semenova AE, Sergienko IV, Masenko VP et al. The influence of rosuvastatin therapy and percutaneous coronary intervention on angiogenic growth factors in coronary artery disease patients. Acta Cardiology 2009; 64 (3): 404–9.
33. Сергиенко ИВ, Масенко ВП, Семенова АЕ и др. Влияние реваскуляризации миокарда на динамику факторов ангиогенеза у больных ИБС. Кардиология. 2009; 8: 4–7.
34. Кухарчук ВВ, Зыков КА, Масенко ВП и др. Динамика воспалительного процесса у больных с острым коронарным синдромом и больных со стабильной стенокардией. Сообщение 1. Биохимические и иммунологические аспекты. Кардиологич. вестн. 2007; 2: 48–55.
35. Зыков КА, Татенкулова СН, Масенко ВП и др. Выявление особенностей аутоиммунных реакций при хронической сердечной недостаточности различной этиологии. Тер. арх. 2009; 4: 36–40.
36. Татенкулова СН, Мареев ВЮ, Зыков КА и др. Роль гуморальных воспалительных факторов в патогенезе ишемической болезни сердца. Кардиология. 2009; 1: 4–8.
37. Беленков ЮН, Татенкулова СН, Мареев ВЮ и др. Иммунокорригирующие свойства статинов в лечении дилатационной кардиомиопатии. Сердечн. недостат. 2008; 6: 111–5.
38. Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-second official adult heart transplant report. J Heart Lung Transplant 2005; 24: 945–55.
39. Toutouzas K, Synetos A, Drakopoulou M. The role of inflammation in atrial fibrillation: a myth or a fact? Am J Med Sci 2009; 338 (6): 494–9.
40. Kourliouros A, Savelieva I, Kiotseoglou A et al. Current concepts in the pathogenesis of atrial fibrillation. Am Heart J 2009; 157 (2): 243–52.
41. Nakonechnikov S. Evaluation of the fractalkine level in patients with different genesis of pulmonary hypertension. J Clin Hypertens 2008; 10 (Suppl. A; 5): 120.
42. Moon SO, Kim W, Sung MJ et al. Resveratrol suppresses tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced fractalkine expression in endothelial cells. Mol Pharmacol 2006; 70 (1): 112–9.
43. Соколов ЕИ, Пухальский АЛ, Зыков КА и др. Иммуномодулирующие эффекты ингаляций ультранизких доз алкилирующего цитостатика мелфалана у больных бронхиальной астмой. Пульмонология. 2002; 5: 81–6.

В.Е. Сеницын

## Современная роль компьютерно-томографической ангиографии в диагностике коронарного атеросклероза и ишемической болезни сердца

Отдел томографии Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова, Москва

### Аннотация

Представлены данные о высокой эффективности мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) в ранней диагностике коронарного атеросклероза и ишемической болезни сердца (ИБС). По данным исследований, у пациентов с ИБС чувствительность и специфичность МСКТ в выявлении гемодинамически значимых стенозов в проксимальных и средних сегментах коронарных артерий составляют 86 и 97% соответственно. Применение этого метода является эффективным с медицинской точки зрения и экономически обоснованным. Его использование приводит к существенному сокращению сроков обследования пациентов. Более широкое внедрение МСКТ позволит лучше выявлять больных с ранними формами ИБС, избегать выполнения коронароангиографии у пациентов с нормальными или малоизмененными коронарными артериями и, таким образом, более целесообразно использовать ресурсы отечественного здравоохранения.

**Ключевые слова:** компьютерная томографическая ангиография, коронарный атеросклероз, ишемическая болезнь сердца.

V.E.Sinitsyn

## Modern role of computed tomographic angiography in diagnosis of coronary atherosclerosis and ischemic heart disease

Department of Tomography, A.L. Myasnikov Institute of Clinical Cardiology

### Annotation

The paper gives data on the high efficiency of multispiral computed tomography (MSCT) in the early diagnosis of coronary atherosclerosis and coronary heart disease (CHD). According to the data of studies, the sensitivity and specificity of MSCT in detecting hemodynamically significant stenoses in the proximal and middle coronary artery segments of patients with CHD are 86 and 97%, respectively. The application of this technique is medically effective and economically sound. Its use results in a substantial reduction in the time of examination of patients. The more extensive introduction of MSCT makes it possible to better identify patients with early CHD, to avoid coronary angiography in patients with normal or little altered coronary arteries and, thus, to more expediently use Russian health care resources.

**Keywords:** lecture, computed tomographic angiography, coronary atherosclerosis, coronary heart disease.

### Сведения об авторе:

Валентин Евгеньевич Синицын – проф., вед. науч. сотр. отд. томографии (vsini@mail.ru)

Прогресс медицинской науки и техники привел к выдающимся достижениям в диагностике и лечении коронарного атеросклероза и ишемической болезни сердца (ИБС). Тем не менее успехи в снижении смертности от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), достигнутые в ряде стран, обусловлены прежде всего эффективностью первичной профилактики этих заболеваний в популяции, а не лечением уже выявленных кардиологических пациентов. Для нашей страны, имеющей самые высокие показатели смертности от ССЗ среди стран Европы и Северной Америки, проблема лечения больных ССЗ является крайне актуальной. Результаты ряда исследований не смогли доказать снижение смертности у пациентов с ИБС после коронарного стентирования по сравнению со смертностью у пациентов, получавших только медикаментозное лечение. Причины этого явления, разумеется, многообразны. Одним из факторов, который может повлиять на результаты лечения коронарного атеросклероза и его осложнений, можно назвать точность диагностики атеросклеротических поражений сосудистой стенки. С 50-х годов XX века инвазивная коронарная ангиография (КАГ) являлась единственным методом лучевой диагностики поражений коронарных артерий (КА). Однако в конце XX века появилась возможность неинвазивного изучения состояния КА с помощью методов томографии, таких как мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ).

Из всех томографических методов наибольшее распространение для диагностики коронарного атеросклероза в клинических условиях получила компьютерная томографическая ангиография (КТА) с помощью МСКТ [1, 2]. Роль магнитно-резонансной ангиографии (МРА) в выявлении коронарного атеросклероза пока более скромная – этот метод больше используют в экспериментальных исследованиях и для изучения атеросклероза других, более крупных, чем КА, сосудов. Использование КТ у пациентов с имеющейся или предполагаемой ИБС или коронарным атеросклерозом преследует четыре главные цели [3]:

- скрининг коронарного атеросклероза в популяции (в настоящее время для этой цели используют только МСКТ в виде методики количественной оценки коронарного кальциноза);

- неинвазивная КТ-коронарография (по показаниям);
- оценка морфологии атеросклеротических бляшек (выявление нестабильных поражений коронарного русла);
- диагностика осложнений ИБС (рубцы, аневризмы, тромбы, разрывы миокарда, ремоделирование сердца и т.д.).

Если оставить в стороне единичные попытки применения КТ для диагностики болезней сердца и сосудов, история широкого использования этого метода началась с применения электронно-лучевой КТ и позднее МСКТ для выявления и количественной оценки кальцинатов в КА – как маркера их атеросклеротического поражения. Была доказана высокая эффективность диагностики коронарного атеросклероза (в том числе ранней) с помощью КТ, основанной на обнаружении кальцинатов в атеросклеротических бляшках и количественной или полуколичественной оценке выраженности коронарного кальциноза [4]. Следует отметить, что в отличие от других распространенных методов раннего выявления (скрининг) коронарного атеросклероза КТ отличается возможностью видеть прямые, а не косвенные его признаки. Из данных морфологических исследований известно, что большинство атеросклеротических бляшек содержит кальцинаты. Вопреки общепринятому мнению, кальциноз не является только лишь поздним проявлением атеросклероза. Кальцификация является частью естественного течения атерогенеза. С прогрессированием тяжести атеросклероза кальциевые депозиты встречаются чаще и в больших количествах.

МСКТ позволяет выявлять и количественно оценивать небольшие количества кальция, содержащегося в стенке КА. Программное обеспечение томографа позволяет определять как размеры, так и плотность кальцинированного участка КА. Оценка выраженности коронарного кальциноза, по данным КТ, проводится с помощью вычисления так называемого кальциевого индекса (КИ).

Работы по изучению клинической значимости коронарного кальциноза были начаты в нашей стране и за рубежом в 90-х годах XX века. В результате целого ряда научных исследований, проведенных в Российском кардиологическом научно-производственном комплексе (РКНПК), были оценены возможности электронно-лучевой

томографии и МСКТ для выявления кальциноза КА и разработаны критерии его количественной оценки и практического использования этих методов [3, 5–7].

Данные многочисленных проспективных исследований и метаанализов показали, что КИ является независимым показателем фактора риска развития осложнений коронарного атеросклероза, при этом значения относительного риска развития осложнений ССЗ составили от 2,1 до 9,3 (для разных степеней коронарного кальциноза), что гораздо выше, чем для стандартных клинических факторов риска ИБС и для показателей ультразвуковых методов (оценка толщины комплекса интима–медия) [8].

По данным экспертов [3, 9, 10], проведение МСКТ с целью выявления кальциноза КА оправдано в следующих ситуациях:

1. Обследование мужчин в возрасте 40–75 лет и женщин в возрасте 50–75 лет без ранее выявленных признаков ССЗ с целью скрининга коронарного атеросклероза при наличии факторов риска его развития.

2. Обследование в амбулаторных условиях пациентов с атипичными болями внутри грудной клетки при отсутствии установленного диагноза ИБС или с сомнительными результатами нагрузочных проб.

3. Обследование пациентов, имеющих, по данным международных шкал SCORE или NCEP, промежуточный риск развития коронарных осложнений. Этот метод позволяет определить: относятся ли на самом деле подобные пациенты (которые могут составлять до 40% популяции в возрасте старше 45 лет) к группе высокого или низкого коронарного риска.

4. Проведение дифференциального диагноза между хронической сердечной недостаточностью ишемического и неишемического (кардиопатии, миокардиты) генеза.

Однако определение содержания коронарного кальция наиболее применимо в скрининговых исследованиях. При клиническом обследовании пациентов с подозрением на ИБС часто возникает необходимость в выполнении диагностической КАГ. Опыт РКНПК показывает, что для этой цели может быть использована неинвазивная КТА.

Современные системы МСКТ позволяют в каждом случае получать не только наборы данных для визуальной реконструкции КА (рис. 1, 2), но и серии изображений, позволяющих изучать размеры и объемы камер сердца и толщину миокарда в различные фазы сердечного цикла, рассчитывать массу миокарда, фракцию выброса, ударный объем, параметры локальной сократимости миокарда. У большинства пациентов с острым инфарктом миокарда или постинфарктными рубцами МСКТ позволяет видеть область инфаркта как зону сниженной плотности на фоне контрастированного миокарда (рис. 3). Начаты работы по изучению перфузии миокарда с помощью МСКТ, однако пока эта методика еще не вошла в повседневную практику.

По данным международных и собственных исследований [4, 11–15], чувствительность и специфичность МСКТ в выявлении у пациентов с ИБС гемодинамически значимых стенозов в проксимальных и средних сегментах КА составляет 86 и 97% соответственно. Результаты проведенных ис-

Рис. 1. КТА. Трехмерная реконструкция КА. Норма.



Рис. 2. КТА. Стеноз передней межжелудочковой ветви: а – коронарная ангиограмма, б – КТА, проекция максимальной интенсивности в тонком слое по ходу сосуда.

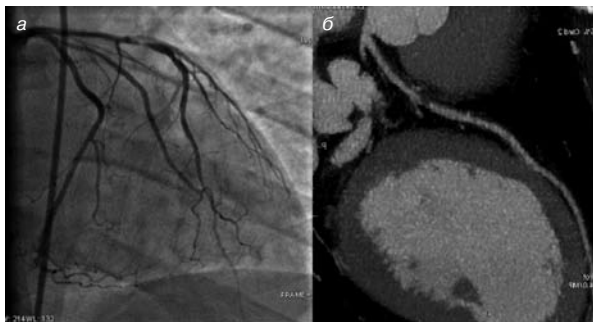
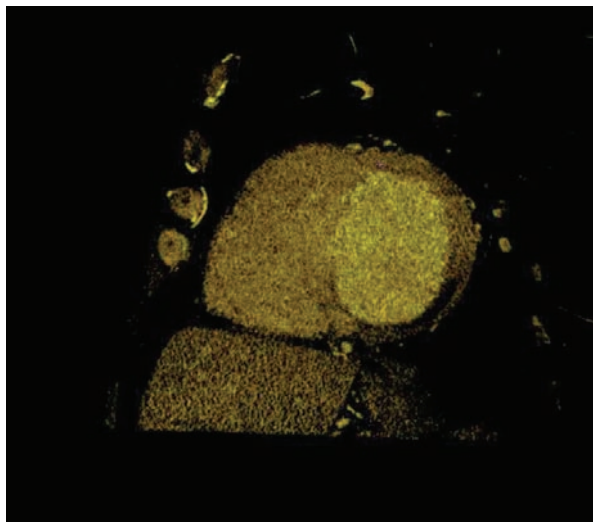


Рис. 3. КТА. Срез по короткой оси левого желудочка. Виден постинфарктный рубец нижней локализации, определяющийся как более темная (гиподенсная) область в миокарде.

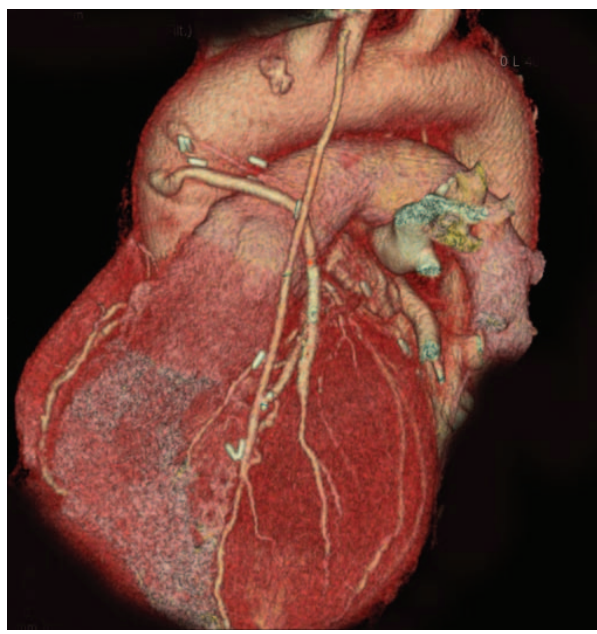


следований совершенно очевидно продемонстрировали существенное снижение процента сегментов КА, не поддающихся диагностической интерпретации, с увеличением числа спиралей и сокращением времени оборота трубки (при применении 4-спиральных систем трудности в интерпретации тех или иных сегментов коронарного русла встречались в 10–35%, при применении 64-спиральных систем – в 0–6%). МСКТ позволяет с высокой точностью оценивать проходимость коронарных стентов (рис. 4), венозных и

**Рис. 4.** Три металлических стента в передней межжелудочковой ветви. Все стенты проходимы. КТА, проекция максимальной интенсивности в тонком слое по ходу сосуда.



**Рис. 5.** КТА аортокоронарных шунтов и маммарного шунта. Трехмерная реконструкция.



артериальных коронарных шунтов (рис. 5). Чувствительность и специфичность МСКТ для оценки проходимости шунтов приближаются к 100%. Несомненным преимуществом МСКТ является одновременная визуализация всех органов, находящихся в грудной клетке. По этой причине метод дает возможность диагностировать различные послеоперационные осложнения, такие как медиастинит, воспалительные изменения грудины, мягких тканей, ателектазы легких.

На сегодняшний день можно следующим образом сформулировать основные показания к выполнению КТ-коронарографии [3, 4, 9]:

1. Неинвазивная коронарография у пациентов с предполагаемым или сомнительным диагнозом ИБС, когда отсутствуют явные показания к проведению КАГ. Выявление неизмененных КА при КТА

практически исключает вероятность наличия гемодинамически значимых стенозов их. При обнаружении, по данным МСКТ, значимых коронарных стенозов больного направляют на КАГ для уточнения состояния коронарного русла и выбора метода реваскуляризации.

2. Предоперационная оценка состояния КА у пациентов, которым планируются различные виды оперативных вмешательств на сердце (без реваскуляризации) или других органах (например, протезирование клапанов сердца).
3. Неинвазивная оценка состояния венозных и артериальных коронарных шунтов, коронарных стентов.
4. Диагностика аневризм и врожденных аномалий КА.
5. Уточнение данных КАГ (например, при подозрении на остиальный стеноз или при отсутствии контрастирования КА или шунта).
6. Случаи, когда требуется одновременная оценка состояния миокарда (рубцовые зоны) и КА (например, при дифференциальной диагностике кардиомиопатий).

Показания к КТ-коронарографии будут изменяться с ростом числа систем КТ, их техническим совершенствованием и увеличением числа специалистов, владеющих этой методикой.

Включение МСКТ в алгоритм обследования пациентов с предполагаемой ИБС позволяет снизить частоту интервенционных вмешательств и дает важную дополнительную информацию клиницистам. Выполнение предварительного медико-экономического анализа позволяет сделать заключение, что внедрение МСКТ КА может быть эффективным и с экономической точки зрения. Известно, что определение чувствительности и специфичность диагностического метода в определенной степени зависят от распространенности болезни в исследуемой популяции. Данные анализа показывают, что при распространенности ИБС в обследуемой популяции на уровне 10–50% (что соответствует реальной поликлинической практике) МСКТ-коронарография является экономически эффективной, позволяя сокращать сроки обследования пациентов, исключать из диагностического алгоритма радионуклидные исследования и повторные нагрузочные пробы (при их сомнительных результатах).

В кардиологии и кардиохирургии в настоящее время происходит внедрение МСКТ в повседневную практику. Возможности этого метода неинвазивно оценивать состояние коронарного русла, определять наличие и состояние атеросклеротических бляшек, изучать морфологию и функцию камер сердца, анализировать перфузию и жизнеспособность миокарда привлекли к ним внимание кардиологов и кардиохирургов и привели к существенному увеличению частоты его использования. Представляется, что именно в области диагностики ССЗ новые возможности, которыми обладают томографы новых поколений, смогут раскрыться в наибольшей степени. Однако для широкого внедрения МСКТ сердца в повседневную практику необходимо создание программ целевого обучения как рентгенологов, выполняющих эти исследования, так и врачей, направляющих пациентов на такие исследования и оценивающие их результаты.

## Литература

1. Календер В. Компьютерная томография. М: Техносфера, 2006.
2. Терновой С.К., Сеницын В.Е. Спиральная компьютерная и электронно-лучевая томография. М: Видар, 1998.
3. Терновой С.К., Сеницын В.Е., Тагарина Н.В. Неинвазивная диагностика атеросклероза и кальциноза коронарных артерий. М: Атмосфера, 2003.
4. Coronary Radiology. Ed.M.Oudkerk, Springer, 2004.
5. Белькинд М.Б., Сеницын В.Е., Лякишев А.А. и др. Коронарный кальций и лечение статинами. Тер. арх. 2006; 4: 53–6.
6. Колотая Н.В., Сеницын В.Е., Терновой С.К. Электронно-лучевая компьютерная томография коронарных артерий – новые возможности диагностики ишемической болезни сердца и коронарного атеросклероза. Тер. арх. 1999; 9: 61–6.
7. Greenland P, Bonow PO, Brundage BH et al. ACCF/AHA 2007 Clinical Expert Consensus Document on Coronary Artery Calcium Scoring By Computed Tomography in Global Cardiovascular Risk Assessment and in Evaluation of Patients With Chest Pain. JACC 2007; 49 (3): 378–402.
8. Сеницын В.Е., Воронов Д.А., Морозов С.П. Степень кальциноза коронарных артерий как прогностический фактор осложненных сердечно-сосудистых заболеваний без клинических проявлений: результаты метаанализа. Тер. арх. 2006; 9: 22–6.
9. Budoff MJ, Achenbach S, Blumenthal RS et al. Assessment of coronary artery disease by cardiac computed tomography, a scientific statement from the American Heart Association Committee on Cardiovascular Imaging and Intervention, Council on Cardiovascular Radiology and Intervention, and Committee on Cardiac Imaging. Council on Clinical Cardiology. Circulation 2006; 114 (16): 1761–91.
10. Obnesorge VM, Flobr TG, Becker CR et al. Multi-slice and Dual-source CT in Cardiac Imaging. Springer, 2006.
11. Веселова Т.Н., Сеницын В.Е., Федотенков И.Н. и др. Роль электронно-лучевой томографии в оценке проходимости аортокоронарных шунтов. Результаты трехлетнего наблюдения. Тер. арх. 2003; 4: 15–9.
12. Сеницын В.Е., Устюжанин Д.В. Мультиспиральная компьютерная томография: исследование коронарных артерий. Бол. сердца и сосудов. 2006; 1: 20–4.
13. Marano R, Storto ML, Maddestra N, Bonomo L. Non-invasive assessment of coronary artery bypass graft with retrospectively ECG-gated four-row multi-detector spiral computed tomography. Eur Radiol 2004; 14 (8): 1353–62.
14. Raff GL, Gallagher MJ, O'Neill WW, Goldstein JA. Diagnostic accuracy of noninvasive coronary angiography using 64-slice spiral computed tomography. J Am Coll Cardiol 2005; 46 (3): 552–7.
15. Rixe J, Achenbach S, Ropers D et al. Assessment of coronary artery stent restenosis by 64-slice multi-detector computed tomography. Eur Heart J 2006; 27 (21): 2567–72.

Р.С.Акчурун, С.В.Кузина, М.Р.Османов, Т.Э.Имаев

## Новое в хирургической коррекции критических стенозов аортального клапана у больных с высоким операционным риском

Институт клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова,  
Российский кардиологический научно-производственный комплекс Росмедтехнологий, Москва

### Аннотация

Хирургическое лечение пороков аортального клапана у больных высокого риска является одной из наиболее актуальных проблем современной хирургии приобретенных клапанных пороков сердца. Хотя хирургическое лечение аортального порока является «золотым стандартом» с невысокой операционной летальностью, на хирургическое лечение направляются всего лишь 1/3 больных из-за высокого риска развития осложнений, обусловленного возрастом, тяжестью порока, сниженной сократимостью левого желудочка и сопутствующими заболеваниями. Попыткой уменьшить частоту развития осложнений и летальность у этой группы пациентов является проведение менее травматичных операций. В настоящее время все большее развитие получает метод транскатетерной имплантации аортального клапана.

**Ключевые слова:** стеноз устья аорты, транскатетерная имплантация аортального клапана.

R.S. Akchurin, S.V. Kuzina, M.R. Osmanov, T.E. Imaev

### Novelty in the surgical correction of critical aortic valve stenoses in high-surgical-risk patients

A.L. Myasnikov Institute of Clinical Cardiology, Russian Cardiology Research-and-Production Complex, Russian Agency for Medical Technologies

### Annotation

Surgical treatment for aortic valve failure in high-risk patients is one of the most urgent problems of modern surgery for acquired cardiac valve diseases. Although surgical treatment for aortic valve defect is the gold standard with low surgical mortality, only one third of patients are referred for surgical treatment for their high risk of complications due to age, defect severity, lower left ventricular contractility, and comorbidity. Less traumatic operations constitute an attempt to reduce the incidence of complications and mortality rates in this group of patients. The transcatheter aortic valve implantation technique is being increasingly developed.

**Keywords:** aortic ostial stenosis, transcatheter aortic valve implantation

### Сведения об авторах:

Акчурун Ренат Сулейманович – акад. РАМН, проф., рук. отд. сердечно-сосудистой хирургии ИКК РК НПК им. А.Л.Мясникова, зам. ген. дир. по хирургии РК НПК им. А.Л.Мясникова; тел. +7-499-149-00-69.

Кузина Светлана Викторовна – канд. мед. наук, врач отд. сердечно-сосудистой хирургии ИКК РК НПК; тел. 8(495)414-66-25.

Османов Мидат Решиатович – канд. мед. наук, врач отд. сердечно-сосудистой хирургии ИКК РК НПК; тел. 8(926)204-03-33

Имаев Тимур Эмварович – канд. мед. наук, мл. науч. сотр. отд. сердечно-сосудистой хирургии ИКК РК НПК; тел. 8(495)414-66-21

Стеноз аортального клапана (АК) – часто встречающееся заболевание из группы приобретенных пороков сердца. Известны различные определения данной патологии. Отечественные исследователи предпочитают использовать определение «сенильный стеноз аортального клапана», или «кальцинированный стеноз аортального клапана дегенеративного генеза» [1, 2]. В зарубежной литературе чаще применяется термин «стеноз аортального клапана» или «болезнь кальцификации аортального клапана» [3, 4]. Эти термины не противоречивы, а скорее дополняют друг друга, подчеркивая природу заболевания. В индустриально развитых странах распространенность поражений АК среди сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) занимает 3-е место, уступая лишь распространенности ишемической болезни сердца (ИБС) и артериальной гипертензии (АГ) [2]. Склероз АК выявляется приблизительно у 25% больных с ССЗ старше 65 лет, а тяжелый аортальный стеноз (АС) – у 3% пациентов старше 75 лет [5], что свидетельствует о роли возрастных изменений клапанного аппарата. В настоящее время во всем мире происходят изменения в возрастной структуре населения, характеризующиеся ростом численности пожилой и старческой когорты его. В таблице представлены данные ВОЗ (1995 г.) о ситуации на 1990 г. и прогнозируемые на 2010 г. по нескольким регионам.

Согласно классификации ООН, население государства считается старым, если доля ее жителей в возрасте 65 лет и старше превышает 7%. Таким образом, лечение людей пожилого возраста, имеющих ССЗ, уже сегодня представляет собой сложную задачу, актуальность которой в будущем будет только возрастать. В связи с этим развитию кардиохирургии будет отводиться немаловажная роль, хотя не так давно (в 1970–1980-е годы) прослеживалась четкая тенденция к отказу от активной хирургической тактики лечения пожилых пациентов в большинстве клиник мира и к ней старались прибегать лишь в крайних случаях [6]. С 1990-х годов стала отмечаться другая ситуация: было зарегистрировано значительное увеличение количества операций на открытом сердце у такой категории пациентов. Это было связано и с улучшением техники оперативных пособий, и с выработанной тактикой защиты миокарда во время операции, и с накоплением опыта послеоперационного ведения пожилых и старых больных.

Из кардиохирургических вмешательств после операций реваскуляризации миокарда (коронарное шунтирование) на 2-м месте по частоте выполнения стоят реконструктивные операции на клапанах сердца, причем в большей степени на АК [6–11]. Наиболее распространенными в этой возрастной группе являются кальцинированные аортальные стенозы (АС). В США по поводу тяжелого АС ежегодно проводят более 50 тыс. протезирований АК [5, 9]. Протезирование АК с кардиопальмональным обходом стало «золотым стандартом» и дает отличные результаты во всех возрастных группах больных. Однако для пожилых пациентов (несмотря на значительное увеличение количества операций на АК и достигнутые в них успехи) выбор тактики лечения остается непростым. Сложность порой возникает у оперирующих хирургов, анестезиологов и кардиологов, ведущих этих больных. Пожилые пациенты обыч-

но относятся к группе повышенного риска в силу имеющихся у них сопутствующих патологий: снижения фракции выброса левого желудочка (ЛЖ) сердца, легочной гипертензии, тяжелых респираторных нарушений, почечной недостаточности, многоочагового атеросклероза, неврологических заболеваний. Часто риск стандартной операции у таких больных чрезвычайно высок. Это так называемые неоперабельные больные (определяемые по оценке риска: по EuroSCORE выше чем 20%, по STS выше 10%).

Хотя хирургическое лечение АС является «золотым стандартом» с невысокой операционной летальностью, на хирургическое лечение направляется всего лишь 1/3 больных из-за высокого риска, обусловленного возрастом, тяжестью порока, сниженной сократимостью ЛЖ и сопутствующими заболеваниями. Между тем баллонная вальвулопластика, хоть и легче выполняема, чем хирургическая операция, дает лишь паллиативный эффект. С развитием методики транскатетерного замещения клапанов сердца новый импульс получили исследования, направленные на нехирургическое решение проблемы рестеноза после баллонной аортальной вальвулопластики.

Одна из попыток снизить частоту осложнений и летальность в этой группе пациентов, а также сделать возможным выполнение хирургии у считающихся неоперабельными больными – это проведение менее травматичной операции. В настоящее время все большее развитие получает метод (Transcatheter Aortic Valve Implantation – TAVI) транскатетерной имплантации аортального протеза.

Развитие метода чрескожной имплантации АС началось в 1960-х годах. H.Davies в 1965 г. впервые описал на животных моделях чрескожный катетер-клапан для лечения аортальной недостаточности [12]. Возможность совмещения биопротеза и стента была показана в 1992 г. (3 свиных перикардиальных створки вмонтировали в нержавеющей стальной расширяющий баллон-стент) на животных моделях.

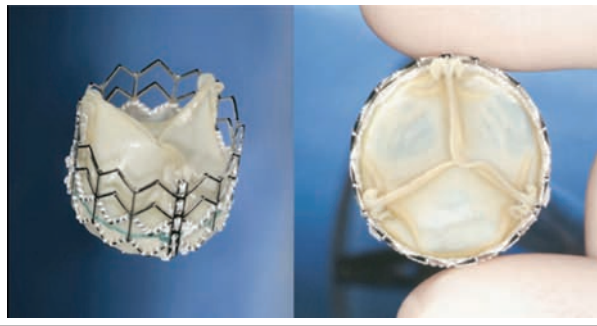
Первую транскатетерную имплантацию аортального клапана (ТИАК) выполнили A.Cribier и соавт. в 2002 г. [13]. Они успешно использовали чресперегородочный доступ у пациента, которому было отказано в хирургии на открытом сердце из-за высокого риска. За короткий период времени была доработана техника выполнения процедуры, техника установки протеза и усовершенствование доставляющей системы протез–стент.

Наиболее изученными моделями для транскатетерного протезирования аортального клапана являются Edwards Sapien Valve («Edwards Lifesciences» Inc., Irvine, CA, США) и CoreValve ReValving System™ («CoreValve Inc.», Irvine, CA, США). Обе системы прошли несколько стадий усовершенствования.

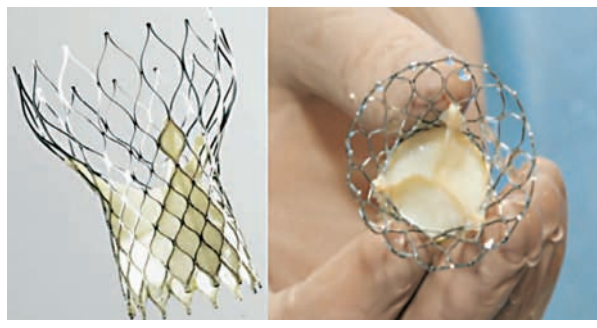
Современная модель Edwards Sapien (рис. 1) – это трехстворчатый клапан из бычьего перикарда, смонтированный на стальном кольце, который расширяется баллонным катетером. Клапан имплантируется в инфракоронарную позицию. Для его доставки используются системы 22–24 F; однако последняя модификация Sapien XT доставляется системой 18 F. Каркас данного клапана изготовлен из кобальт-хромового сплава.

Система CoreValve ReValving (рис. 2) также состоит из трех створок, изготовленных из бычьего перикарда, но каркас ее изготовлен из саморас-

**Рис. 1. Edwards SAPIEN valve.** Трехстворчатый клапан из бычьего перикарда, смонтированный на стальном кольце, который расширяется баллонным катетером.



**Рис. 2. Система CoreValve ReValving.**



ширяемого нитинолового сплава. Клапан имплантируется в выходном тракте ЛЖ с переходом на восходящую часть аорты. В зависимости от диаметра фиброзного кольца клапана система доставки варьирует от 18 до 21 F.

Опыт чрескожного протезирования АК стремительно расширяется. Компания «Medtronic» в мае 2009 г. объявила о чрескожной имплантации четырехтысячного АК CoreValve, хотя прошло всего 2 года после регистрации этого устройства в Европе. Тем временем другая система, выпускаемая компанией «Edwards Lifesciences», уже имплантирована более чем 10 тыс. пациентам преимущественно в рамках клинических исследований. За прошедшее десятилетие чрескожная замена АК прошла период недоверия и вскоре может стать ведущим способом лечения АС. Накопленный опыт чрескожного протезирования АК свидетельствует о том, что гемодинамический эффект подобного вмешательства не хуже, чем результаты хирургической операции.

J.Rodes-Cabau и соавт. [14, 15] сравнили результаты лечения 50 больных с тяжелым АС, которым проводили чрескожную имплантацию АК двух типов – Cribier-Edwards или Edwards SAPIEN, и 2 групп больных, в одной из которых хирургическим путем имплантировали клапан-стент Carpentier-Edwards, в другой – обычный искусственный клапан Medtronic Freestyle. Градиент давления через АК при выписке из больницы был значительно ниже в группе с чрескожным лечением, однако степень аортальной регургитации у них была выше, чем у больных после хирургического лечения (88% против 38 и 34% соответственно;  $p < 0,0001$ ). В отдаленном периоде средний градиент давления оставался достоверно ниже после эндоваскулярного лечения и был таким же, как и в хирургической группе с использованием клапана Medtronic Freestyle. Выраженное несоответствие между размерами клапана и аортального кольца также чаще

отмечено в группе хирургического лечения, чем в группе эндоваскулярного лечения (26 и 28% против 6%). Степень аортальной регургитации, которая чаще всего была незначительной, не усугублялась с течением времени. Выживаемость больных в течение 1 года в большей степени зависела от сопутствующих заболеваний, чем от перенесенного вмешательства. Естественно, что отдаленные результаты открытого хирургического лечения известны лучше, а больных, у которых чрескожную имплантацию выполнили 4–5 лет тому назад, – очень мало. Тем не менее дисфункция клапана у них отмечается крайне редко.

В компании «Edwards Lifesciences» подчеркивают, что клапаны Edwards Sapien изготавливают из того же бычьего перикарда, что и хирургические биологические клапаны, которые служат некоторым пациентам уже более 20 лет. Но в то же время трудно сказать, как повлияет на срок службы клапана то, что его заправляют в доставляющее устройство (т.е. травмируют биологическую ткань), а затем расширяют баллонным катетером. Поэтому пока долгосрочный прогноз результатов чрескожного протезирования АК неизвестен, его не имплантируют молодым пациентам и пациентам с низким хирургическим риском.

В настоящее время разработаны и используют 2 различных пути к трансплантации искусственного АК, а именно: ретроградный – через феморальную артерию и антероградный – через верхушку ЛЖ, через боковую мини-тораотомию, так называемый трансапикальный доступ.

Так как в настоящее время есть 2 методики замены клапана – хирургическая и транскатетерная, самым главным становится вопрос о показаниях к их применению. Понять, кому из больных не показана чрескожная замена АК, крайне важно для того, чтобы не дискредитировать эту методику. С технической точки зрения, чем меньше диаметр доставляющего устройства, тем большее число больных можно прооперировать минимально травматичным способом. Однако опыт показывает, что вмешательство показано только больным с тяжелым АС, для которых риск хирургической операции слишком высок из-за наличия сопутствующих заболеваний. Бальная Европейская система оценки хирургического риска (например, EuroSCORE >20), безусловно, помогает в выборе метода лечения. Анатомические особенности, например выраженный кальциноз и извитость подвздошных артерий, могут не позволить провести вмешательство через бедренный доступ. Кроме того, диаметр аортального кольца – еще один ограничитель для методики. Для существующих систем диаметр аортального кольца не должен быть больше 26 мм или меньше 18 мм, иначе не избежать аортальной регургитации.

Уровень подготовки команды, которая выполняет имплантацию АК, также имеет определяющее значение в достижении успеха. Обе компании, производящие чрескожные клапаны, проводят бесплатные семинары по размаху обучающие программы. В них кроме интервенционных кардиологов включены хирурги, анестезиологи и специалисты по функциональной диагностике. Все этапы процедуры, которая связана с опасными для жизни осложнениями, изучают досконально на совершенных стимуляторах. Кроме того, у каждой клиники есть возможность на начальном этапе



Процент в популяции пожилого населения в различных регионах

Регион	Годы	≥65 лет	≥75 лет	≥80 лет
Европа	1990	13,7	6,1	3,2
	2010	17,5	8,4	4,9
Америка	1990	12,6	5,3	2,8
	2010	14,0	6,5	4,0
Азия	1990	4,8	1,5	0,6
	2010	6,8	2,5	1,2

приглашать наблюдателя-консультанта. Кроме чрескожного (трансфеморального) доступа есть и трансапикальный (через верхушку ЛЖ) доступ для имплантации АК. Это самый короткий путь, точность имплантации более гарантирована, однако процедуру необходимо проводить в кардиохирургической операционной и она не очень подходит ослабленным больным с высоким хирургическим риском. В этом смысле очень привлекателен доступ через подключичную артерию, который менее травматичен, что подтверждают результаты первых клинических исследований. Точность имплантации АК – очень важный момент в достижении хорошего клинического результата. Если система CoreValve позволяет «прицеливаться» и подправлять положение клапана до окончательной имплантации, то система Edwards SAPIEN устанавливается и фиксируется там, где и раскрывается. По меткому выражению – «это похоже на прыжок с парашютом, у тебя только один шанс».

Кроме двух существующих систем, не лишены определенных недостатков, на пороге новые системы для чрескожной и трансапикальной имплантации. Будущее покажет, есть ли у них преимущества. Системы доставки также уменьшаются, что делает их более доступными. На сегодня минимальный диаметр доставляющего устройства – 18 F, однако, как ожидается, в будущем они могут быть существенно меньше.

Наиболее частое осложнение при ТИАК – аортальная недостаточность, которая возникает из-за парапротезной фистулы. В последнее время частота развития данного осложнения неуклонно снижается, так как растет уровень подготовки оперирующей бригады, опыт проведения данного вида протезирования, оперирующие более точно подбирают устройства и стараются имплантировать клапан, диаметр которого на 10–20% превосходит диаметр естественного кольца АК. В большинстве случаев протекание незначительное, однако в будущем не должно быть и этого.

Таким образом, метод ТИАК используют в основном у пациентов, которым проведение стандартного оперативного вмешательства невозможно в силу либо тяжелой сопутствующей патологии, либо при выраженной нестабильности гемодинамики. Эта новая техника нуждается в согласовании с хирургической операционной и анестезиологическими пособиями.

Ближайшие результаты достаточно обнадеживающие, но в настоящее время еще не получено четких отдаленных результатов этой процедуры. Для окончательного определения места ТИАК в современных методах лечения АС помогут результаты рандомизированных многоцентровых исследований. Одно из них – PARTNER (Placement of AoRTic traNscathetER Valve) – проводится в 23 клиниках, преимущественно в США. Данное исследование состоит из двух направлений: в первом про-

водится сравнение результатов стандартного хирургического лечения АС и лечения методом ТИАК (обоими доступами) у пациентов с высоким хирургическим риском. Во втором направлении – сравнение результатов чрескожной имплантации АК и медикаментозного лечения у неоперабельных больных. Точки оценки – 30 дней после имплантации протеза, через 6 мес, через 1 год.

Второе исследование проводится в Европе – PREVAIL EU (Transfemoral Placement of AoRTic Balloon Expandable Transcatheter Valves TrIaL), оно закончится в феврале 2015 г. Цель исследования – оценка безопасности и эффективности клапана SAPIEN XT™ и устройств его доставки. Набор пациентов проводится более чем в 10 клиниках Европы. По окончании будут приведены результаты 5-летнего наблюдения за пациентами (точка оценки – 30 дней после имплантации, 6 мес, далее годовичные наблюдения в течение 5 лет).

На современном этапе транскатетерная замена АК показана только больным, страдающим тяжелым АС, у которых высок риск при хирургическом вмешательстве. В будущем, возможно, технология будет усовершенствована до такой степени, что ее можно предлагать и менее тяжело больным с учетом их желаний и предпочтений. Но до этого нужно пройти долгий путь и оценить отдаленные результаты подобных вмешательств.

#### Литература

1. Гендлин Г.Е. Сенильный аортальный стеноз и артериальная гипертензия. Сердце. 2006; 5 (4): 222–3.
2. Шостак Н.А., Карпова Н.Ю., Рашид М.А. и др. Кальцинированный аортальный стеноз дегенеративного генеза – клинико-инструментальные показатели. Рос. кардиол. журн. 2006; 5 (61): 40–4.
3. Lindroos M, Kupati M, Heikkila J et al. Prevalens of aortic valve abnormalities in the elderly: an echocardiographic study of a random population sample. J Am Coll Cardiol 1993; 21 (5): 1220–5.
4. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK et al. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. Cardiovascular health study. J Am Coll Cardiol 1997; 29 (3): 630–4.
5. Chambers J. Aortic stenosis. Brit Med J 2005; 330 (7495): 801–2.
6. Олофинская И.Е., Никонов С.Ф., Бокерия Л.А. Некоторые аспекты кардиохирургии у больных пожилого возраста: особенности, прогноз, качество жизни. Грудн. и серд.-сос. хир. 2002; 2: 45–51.
7. Гиларевский С.Р., Орлов В.А., Соколов В.В. и др. Кардиохирургические операции у восьмидесятилетних больных: достижения и проблемы. Рос. кардиол. журн. 2003; 2 (40): 77–87.
8. Дземешкевич С.Л. Пороки аортального клапана у взрослых: современная патология и показания к операции. Атмосфера. Кардиология. 2003; 2: 2–4.
9. Freeman RV, Catherine M. Spectrum of calcific aortic valve disease: pathogenesis, disease progression, and treatment strategies. Circulation 2005; 111 (24): 3316–25.
10. Rajamannan NM, Otto CM. Targeted therapy to progression of calcific aortic stenosis. Circulation 2004; 110 (10): 1180–3.
11. Roberts WC, Ko JM. Frequency of unicuspid, bicuspid and tricuspid aortic valves by decade in adults having isolated aortic valve replacement for aortic stenosis, with or without associated aortic regurgitation. Circulation 2005; 111 (7): 920–6.
12. Fassl J, Augoustides JGT. Transcatheter aortic valve implantation – part i: development and status of the procedure. J Cardiothoracic Vasc Anesthesia. 2009; 45 (15): 824–7.
13. Gribier A, Eltchaninoff H, Bash A et al. Percutaneous transcatheter implantation of an aortic valve prosthesis for calcific aortic stenosis. first human case description. Circulation 2002; 106 (24): 3006–8.
14. Clavel MA, Webb JG, Pibarot P et al. Comparison of the hemodynamic performance of percutaneous and surgical bioprostheses for the treatment of severe aortic stenosis. J Am Coll Cardiol 2009; 53: 1883–91.
15. RodOs-Cabau J, Webb JG, Cbeung A et al. Transcatheter aortic valve implantation for the treatment of severe symptomatic aortic stenosis in patients at very high or prohibitive surgical risk. J Am Coll Cardiol 2010; 55 (11): 1080–90.

А.Ю.Литвин<sup>1</sup>, Р.В.Бузунов<sup>2</sup>, И.В.Легейда<sup>2</sup>, И.Е.Чазова<sup>1</sup>

## Современные подходы к лечению больных с синдромом обструктивного апноэ во время сна

<sup>1</sup>Институт клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова, Москва;

<sup>2</sup>ФГУ клинический санаторий «Барвиха» УД Президента РФ

### Аннотация

Статья посвящена особенностям современных методов лечения синдрома обструктивного апноэ во время сна (СОАС). Учитывая многообразие методов лечения, которые применяются в настоящее время для лечения больных с СОАС, описаны подходы и выбор того или иного алгоритма лечения в зависимости от клинических проявлений синдрома и степени его тяжести.

**Ключевые слова:** синдром обструктивного апноэ, методы лечения.

A.Yu. Litvin<sup>1</sup>, R.V. Buzunov<sup>2</sup>, I.V. Legeida<sup>2</sup>, I.E. Chazova<sup>1</sup>

**Current approaches to treating patients with obstructive sleep apnea syndrome:**

<sup>1</sup>AL. Myasnikov Institute of Clinical Cardiology, Moscow

<sup>2</sup>Barvikha Clinical Sanatorium, Department for Presidential Affairs of the Russian Federation

### Annotation

The paper deals with the specific features of current treatments for obstructive sleep apnea syndrome (OSAS). By taking into account a diversity of treatment methods presently used in patients with OSAS, the authors describe approaches and a choice of this or that treatment algorithm depending on the clinical manifestations of the syndrome and its degree.

**Keywords:** obstructive sleep apnea syndrome, treatment methods.

### Сведения об авторах:

Чазова Ирина Евгеньевна – докт. мед. наук, проф., рук. отд. системных гипертензий ИКК им. АЛ. Мясникова ФГУ РКНПК Минздравсоцразвития

Литвин Александр Юрьевич – ст. науч. сотр. отд. системных гипертензий ИКК им. АЛ. Мясникова ФГУ РКНПК Минздравсоцразвития, тел.: 414-88-34

Методы лечения храпа и синдрома обструктивного апноэ во время сна (СОАС) разнообразны и зависят не только от причин, но и от степени тяжести заболевания. Их можно условно разделить на следующие категории:

1. Общепрофилактические мероприятия:
  - снижение массы тела,
  - прекращение или ограничение курения,
  - исключение приема алкоголя и снотворных препаратов.
2. Позиционное лечение.
3. Применение электромеханических подбуживающих устройств.
4. Применение фармакологических средств, облегчающих храп.
5. Ситуационное обеспечение свободного носового дыхания.
6. Применение внутриротовых приспособлений.
7. Тренировка мышц языка и нижней челюсти.
8. Оперативное лечение (хирургическое, лазерное, радиочастотное).
9. Лечение методом создания постоянного положительного давления в дыхательных путях (CPAP-терапия).

Далее подробно анализируется каждый из данных методов.

### Общепрофилактические мероприятия

#### Снижение массы тела

При наличии храпа и СОАС уменьшение массы тела на 10% от исходной может улучшить парамет-

ры дыхания на 50%. Обычно это сопровождается переходом в более легкую форму тяжести заболевания. В ряде случаев при неосложненном храпе достаточно уменьшить массу тела на 5–7% для того, чтобы полностью устранить храп без каких-либо прочих вмешательств. Существует и обратная зависимость. Так, при увеличении массы тела на 15–20% от исходной легкая форма СОАС может переходить в более тяжелые формы течения данного синдрома.

#### Прекращение или ограничение курения

Курение вызывает хроническую химическую травму дыхательных путей на уровне глотки, что ведет к ее отеку и снижению тонуса ее мышц, а это в свою очередь способствует прогрессированию выраженности храпа и СОАС. Соответственно, пациентам с нарушениями дыхания во сне рекомендуется прекратить курение. Однако прекращение курения иногда может повлечь за собой значительное увеличение массы тела, что может даже усугубить тяжесть храпа и СОАС. Таким образом, в случае рекомендации о прекращении курения необходимо сопоставить возможные пользу и риск. У пациентов с ожирением сначала необходимо добиться существенного уменьшения массы тела, а лишь потом решать вопрос о прекращении курения.

#### Исключение приема алкоголя и снотворных препаратов

Алкоголь обладает двойным отрицательным действием при СОАС. Во-первых, он действует

как миорелаксант, вызывая расслабление глоточной мускулатуры и более частое спадение дыхательных путей. Во-вторых, этанол повышает порог реакции мозга на неблагоприятные раздражители. В этой ситуации остановки дыхания длятся дольше и развивается более выраженная гипоксемия. При тяжелой форме СОАС прием значительных доз алкоголя перед сном увеличивает риск летального исхода. Таким образом, желательнее прекратить или существенно ограничить потребление алкоголя.

### Позиционное лечение

Легкие формы храпа и СОАС часто являются зависимыми от позиции. При этом пациент в положении на боку может практически не храпеть, а в положении на спине у него могут возникать громкий храп и остановки дыхания во сне. Это обусловлено западением языка, особенно у пациентов с ретро- и микрогнатией. Существует простой и эффективный способ отучить человека спать на спине. На ночной пижаме или майке между лопаток пришивается карман, в который помещается мяч для большого тенниса. В этом случае каждая попытка лечь на спину будет оканчиваться пробуждением и поворотом на бок. В начале применения этого метода возможно ухудшение качества сна, особенно у лиц, привыкших спать на спине, однако в течение 3–4 нед вырабатывается стойкий условный рефлекс не спать на спине.

Необходимо обеспечить возвышенное положение изголовья. Можно наклонить всю кровать, установив бруски толщиной около 10 см под ножки со стороны головы. Приподнятое положение туловища уменьшает западение языка даже в положении на спине. Более того, жидкость в организме смещается книзу, что приводит к уменьшению отечности слизистой оболочки на уровне носа и глотки, увеличению их просвета, а соответственно, и ослаблению храпа.

Голова должна располагаться максимально параллельно туловищу. Для достижения этого желательно использовать небольшие плоские подушки или специальные контурные подушки.

Перечисленные методы помогают не только при храпе, но и при отрыжке желудочным содержимым, часто отмечающейся у полных храпящих людей.

### Применение электромеханических подбуживающих устройств

Электромеханические подбуживающие устройства представляют собой приборы в виде наручных браслетов, которые улавливают звуки храпа и посылают слабые электрические или механические импульсы, раздражающие нервные окончания на руке и, таким образом, подбуживающие мозг пациента. Выпускается достаточно много разновидностей таких приборов под различными торговыми марками: «Snore Gone», «Snore Stopper» и др.

Эти приборы дают неплохой эффект в том случае, когда пациент лишь иногда похрапывает ночью или храп отмечается только в положении на спине. В этой ситуации прибор может сработать несколько раз за ночь, сон становится на некоторое время поверхностным и пациент перестает храпеть. Или же в ответ на срабатывание такого

«будильника» пациент может сменить позу, например перевернуться со спины на бок. Фактически получается, что данные устройства не обладают каким-либо лечебным действием, а лишь подбуживают пациента в ответ на возникновение храпа и, образно выражаясь, заменяют локоть жены.

Если же пациент храпит всю ночь и при всех положениях тела, то данный прибор будет срабатывать всю ночь и постоянно будить человека. Как тут не вспомнить наилучший способ не храпеть – не спать совсем! Таким образом, эти устройства неприменимы при тяжелом храпе и СОАС. Еще одним недостатком этих приборов является то, что они могут срабатывать не только на храп самого пациента, но и на храп партнера по кровати.

Несколько особняком среди устройств данного типа стоит достаточно высокотехнологичная система «Night Watch», в которой используются суперчувствительные датчики израильской фирмы «Nexence», устанавливаемые под матрац пациента и дистанционно контролирующее дыхание и храп. Применение сложного алгоритма анализа дыхания и реакции системы позволило разработчикам добиться устранения неосложненного храпа без существенного нарушения структуры сна. Система может использоваться как у одного человека, так и у двух партнеров по кровати. При этом наручный браслет срабатывает только на свой храп, но не на храп партнера.

### Применение фармакологических средств, облегчающих храп

При храпе структуры дыхательных путей вибрируют и бьются друг о друга, что обуславливает их хроническое травмирование, воспаление и отек. Это в свою очередь еще больше утяжеляет храп. Пациента беспокоит сухость во рту, болезненность в горле, ощущение инородного тела в глотке (при отеке небного язычка), скопление трудноотделимой слизи на стенках глотки к утру.

Для облегчения указанных выше симптомов применяются фармакологические средства, обладающие местным смягчающим, противовоспалительным и антисептическим действием. Примером такого препарата является Слипекс, который продается в аптеках без рецепта. Препарат распыляется непосредственно на заднюю стенку глотки и небный язычок. Для достижения наилучшего результата следует воздерживаться от приема еды и питья за полчаса до и в течение получаса после обработки глотки препаратом. При храпе препарат применяют 1 раз в день перед сном. Курс лечения – 4 нед.

Следует подчеркнуть, что все фармакологические средства для местного применения на уровне глотки предназначены только для ситуационного облегчения неосложненного храпа и в ряде случаев – легкой формы СОАС. Они не дают эффекта при умеренных и тяжелых формах СОАС.

Наличие СОАС не означает, что Слипекс противопоказан, он просто может не дать достаточного эффекта. Если у пациента имеются сомнения в том, сопровождается ли храп остановками дыхания во сне или нет, то он может пройти пробное лечение Слипексом. Если храп исчезнет или значительно уменьшится, то, вероятно, у пациента имеется неосложненный храп, и курсовое применение препарата может быть продолжено. Если же интенсивность храпа не меняется, то это

должно насторожить в отношении наличия СОАС и быть поводом для обращения к врачу.

Следует подчеркнуть еще один важный момент применения препарата Слипекс. Хронический храп сам по себе является фактором риска развития СОАС из-за постоянной травмы дыхательных путей на уровне глотки. Таким образом, устранение храпа при применении Слипекса может рассматриваться как профилактика прогрессирующего нарушения дыхания во сне и развития СОАС.

Здесь упомянут лишь один препарат из большого количества имеющихся сегодня в аптеках, однако во многом их состав и принцип действия схожи.

### Ситуационное облегчение носового дыхания

Затруднение носового дыхания может существенно усиливать храп и СОАС. Ситуационно улучшить носовое дыхание можно с помощью применения специальных носовых полосок для расширения носовых ходов «БризРайт». Эти полоски, обладающие пружинящими свойствами, приклеиваются к крыльям носа, раздвигают их и существенно облегчают носовое дыхание. Предсказать эффективность полосок можно достаточно просто. Надо попросить пациента захватить крылья носа кончиками пальцев, развести их в стороны и сделать несколько вдохов-выдохов через нос. Если пациент ощущает значительное облегчение дыхания, то полоски могут помочь в улучшении носового дыхания ночью и облегчении храпа. Наклейки являются одноразовыми и устанавливаются на всю ночь. Применять их можно постоянно или ситуационно, когда нужно максимально облегчить храп или имеются провоцирующие храп факторы (употребление алкоголя, острые респираторные вирусные инфекции).

При преходящей ночной заложенности носа и сухости слизистых оболочек носа и глотки во время отопительного сезона, когда влажность воздуха может опускаться до 20–30% (при норме более 60%), хороший эффект может дать применение в течение ночи ультразвуковых увлажнителей.

Постоянное использование деконгестантов (Ксимелин, Отривин, Галазолин и др.) нецелесообразно более 4–5 дней из-за быстрого развития толерантности и зависимости. В случае хронической носовой обструкции необходима консультация оториноларинголога.

### Применение внутриротных приспособлений

В настоящее время в мировой практике применяется большое количество различных типов внутриротных аппликаторов, которые устанавливаются на зубной ряд, и они обеспечивают смещение вперед нижней челюсти. Это приводит к увеличению переднезаднего размера глотки и облегчению храпа. Данные устройства особенно эффективны у пациентов с ретро- и микрогнатией. Определенными ограничениями метода является необходимость наличия собственных зубов и неприятные ощущения, связанные с инородным телом во рту. Установка некоторых устройств требует длительной работы квалифицированного стоматолога, так как они фиксируются к зубам специальными скобами. Существуют и более простые модификации, сделанные из специального полимера и напоминающие за губник боксера.

Устройство нагревается в кипящей воде и становится мягким, далее устанавливается на верхнюю челюсть, а нижняя челюсть закрывается выдвинутой вперед. Устройство затвердевает и в последующем при установке во рту смещает нижнюю челюсть вперед.

### Тренировка мышц языка и нижней челюсти

Далее приведен комплекс упражнений для тренировки мышц языка, нижней челюсти и глотки, направленный на облегчение храпа:

А. Максимально выдвигать язык вперед и вниз. В выдвинутом состоянии удерживать в течение 1–2 с и произносить в этот момент протяжный звук «и». Выполнять по 30 раз утром и вечером.

Б. Нажать на подбородок рукой и с усилием перемещать нижнюю челюсть вперед-назад. Выполнять по 30 раз утром и вечером.

В. Сильно зажать зубами и удерживать в течение 3–4 мин деревянную или пластиковую палочку. Выполнять перед сном.

Упражнение А обеспечивает увеличение тонуса мышц мягкого неба и небного язычка, а также тренировку мышц языка, смещающих его вперед.

Упражнение Б обеспечивает тренировку мышц нижней челюсти, выдвигающих ее вперед. Если мышцы тренированы, то даже в расслабленном состоянии (во сне) они поддерживают определенный тонус и смещают указанные структуры вперед, обеспечивая увеличение просвета глотки и уменьшение храпа. Обычно отчетливый эффект от упражнений А и Б наблюдается после 3–4 нед регулярных занятий.

Упражнение В вызывает тоническое напряжение жевательных и глоточных мышц, сохраняющееся в течение 20–30 мин. Это существенно уменьшает храп в начальной фазе засыпания, что может благоприятно сказаться на состоянии близких, у которых появляется достаточно времени, чтобы заснуть.

### Оперативные методы лечения

Устранение анатомических дефектов на уровне носоглотки (как врожденных, так и приобретенных) является одним из важнейших аспектов лечения храпа и СОАС. Однако нельзя абсолютизировать оперативное лечение и применять его у всех пациентов с храпом и СОАС вне зависимости от причин и степени тяжести расстройств дыхания во время сна. К сожалению, все чаще приходится сталкиваться с последствиями неэффективных оперативных вмешательств, особенно у пациентов с СОАС. С учетом этого мы стараемся изложить оптимальную диагностическую и лечебную тактику, позволяющую эффективно применять хирургические вмешательства именно в том случае, когда они показаны.

### Хирургическое лечение

Хроническое затруднение носового дыхания является одной из причин возникновения храпа и СОАС. Средние и тяжелые формы СОАС следует рассматривать как абсолютное показание к устранению значимой хронической носовой обструкции. При легких формах и неосложненном храпе, особенно у лиц старших возрастных групп, необходимо тщательно сопоставить возможные преимущества и риски. При этом необходимо учитывать социальную значимость храпа для па-

циента и его желание устранить этот звуковой феномен.

Хирургические вмешательства на уровне глотки включают увулотомию (частичное или полное удаление небного язычка), тонзиллэктомию и увулопалатофарингопластику. Последнее вмешательство представляет собой максимально возможное удаление тканей на уровне глотки, включающее тонзиллэктомию, увулотомию, иссечение части мягкого неба и небных дужек. Указанные вмешательства достаточно травматичны и должны применяться по строгим показаниям, так как имеют определенные риски (послеоперационная асфиксия или кровотечение; в отдаленном периоде – гнусавость голоса и попадание пищи в дыхательные пути). Следует также отметить, что при тяжелых формах СОАС у больных с ожирением положительный эффект хирургического вмешательства достигается только у 20–30% прооперированных. Это обусловлено сохранением структуры нижележащих отделов глотки на уровне корня языка и надгортанника.

В любом случае решение о хирургическом лечении храпа и СОАС должен принимать квалифицированный ЛОР-хирург с учетом данных клинического осмотра, результатов полисомнографии и других дополнительных методов обследования.

### Селективные оперативные вмешательства на небе

Мы специально выделили данный раздел, так как вмешательства на небе занимают лидирующее место в арсенале ЛОР-хирургов при лечении храпа и СОАС. Прежде всего следует определиться с терминологией. Под селективными оперативными вмешательствами на небе надо понимать такие методики, как хирургическое вмешательство (например, с помощью микродебридера), лазерная пластика, радиочастотное вмешательство (сомнопластика), криопластика и инъекционные методы. В основе всех этих методик лежит принцип нанесения дозированной травмы неба различной интенсивности (хирургической, термической, холодовой, радиочастотной или химической). В зависимости от интенсивности воздействия может отмечаться локальное воспаление, некроз или частичное отторжение (отсечение) ткани, например при воздействии лазером или скальпелем. При заживлении отмечается уменьшение в объеме и уплотнение мягкого неба. Небный язычок при этом может быть частично или полностью удален. В итоге подвижность структур мягкого неба снижается и уменьшается или устраняется феномен храпа – биение мягкого неба о стенки дыхательных путей.

В настоящее время в отечественной популярной медицинской литературе и рекламных объявлениях оперативное вмешательство на небе, в частности лазерная пластика, представляется как практически единственный и наиболее эффективный метод устранения храпа. Вот несколько цитат:

- «Разработанная и запатентованная методика лазерного лечения храпа позволяет справиться с этим явлением всего за 1 сеанс».
- «Лазерное лечение храпа: в амбулаторных условиях, в течение нескольких минут, практически без случаев кровотечения в ткани, у большинства пациентов – абсолютное избавление от храпа, у остальных состояние значи-

тельно улучшится, только лишь ничтожный процент пациентов на лечение не реагирует».

- «СО<sub>2</sub>-лазер (углекислый) – отличное средство для лечения храпа. Для лечения необходим один сеанс, а эффективность составляет 95%».
- «Лечение храпа за 1 сеанс! Радиоволновой метод. Эффективно и безопасно».

Иногда и в медицинских журналах появляются статьи, указывающие на крайне высокую эффективность вмешательств на небе в отношении храпа и СОАС. Следует отметить, однако, что в большинстве этих статей критерием оценки эффективности являлись вопросники для пациентов, а не объективный метод контроля в виде полисомнографии.

К сожалению, решение проблемы храпа не столь очевидно, как это представляется в приведенных выше сообщениях. Нам регулярно приходится консультировать и лечить пациентов с тяжелой СОАС, у которых многократно, а иногда и последовательно выполняли лазерные, крио- и радиочастотные вмешательства на небе без существенного эффекта.

Подтверждением тому служат выводы, содержащиеся в ряде серьезных зарубежных исследований:

1. Отмечаются низкая эффективность или отсутствие эффективности лазерной увулопалатоластики (ЛУПП) при СОАС [1].

2. ЛУПП часто сопровождается выраженным болевым синдромом. Не имеется существенных различий в выраженности послеоперационной боли после ЛУПП и увулопалатофаринголастики [2].

3. ЛУПП может приводить к серьезным осложнениям (рубцовый стеноз глотки, потеря запирающей функции мягкого неба, гнусавость голоса). В некоторых случаях ЛУПП может провоцировать развитие СОАС у пациентов с неосложненным храпом или утяжелить имеющийся СОАС [3].

Почему же селективное оперативное вмешательство на небе активно применяется ЛОР-хирургами, но не дает ожидаемого эффекта у ряда пациентов? С нашей точки зрения проблема заключается в двух причинах.

**1. Неправильная оценка ведущего причинного фактора храпа.** Дело в том, что избыточное мягкое небо является частой, но далеко не единственной причиной храпа. Наиболее частой причиной храпа и нарушений дыхания во время сна является ожирение, приводящее к сужению самих дыхательных путей. Помимо того, храп могут вызывать и усиливать курение, микро- и ретрогнатия (маленькая и смещенная назад нижняя челюсть), затруднение носового дыхания, увеличение миндалин, снижение функции щитовидной железы, нервно-дистрофические процессы, миопатии и др. Причем у одного и того же пациента может быть 2–3 причины храпа и более. Например, у пациента с выраженным ожирением, ретрогнатией и избыточным мягким небом последняя причина может вносить 10–15% в общую тяжесть состояния. Соответственно, вмешательство на небе улучшит ситуацию максимум на 10–15%, что с клинической и социальной точки зрения можно рассматривать как отсутствие эффекта.

**2. Недооценка степени тяжести obstructивных нарушений дыхания во время сна.** При неосложненном храпе дыхательные пути остаются открытыми, а мягкое небо вибрирует

при прохождении струи воздуха, бьется о стенки дыхательных путей и создает звуковой феномен храпа. В данной ситуации пластика неба может дать хороший эффект. При СОАС спадаются сами дыхательные пути, причем не только на уровне глотки, но и на уровне корня языка и даже надгортанника. В этой ситуации лазерное или радиочастотное вмешательство на небе не дает какого-либо положительного эффекта. Более того, после воздействия лазером или радиочастотным излучением развивается ожог, после которого ткань рубцуется и уплотняется. Если глотка у пациента исходно широкая, то некоторое ее сужение не вызовет серьезных последствий. Если же глотка исходно узкая и ее стенки спадаются во время сна, то дополнительное сужение просвета после ожога может даже утяжелить СОАС.

В свете изложенного становится понятным, почему в стандартах Американской академии медицины сна по применению ЛУПП для лечения храпа и апноэ сна (1994 г., пересмотр 2000 г.) первый же пункт гласит: **«ЛУПП не рекомендуется для лечения расстройств дыхания во время сна, включая СОАС»**. Казалось бы, странная ситуация. Читали ли вы когда-нибудь медицинские рекомендации по применению какого-либо метода лечения, где первым же пунктом было бы написано, что данный метод не рекомендуется применять в такой-то ситуации? Обычно, если об этом и пишут, то где-то в самом конце рекомендаций. Причиной тому послужила значимость проблемы, которую зарубежные коллеги оценили еще 15 лет назад. Первоначально, когда лазерная пластика только внедрялась на Западе, там тоже была определенная эйфория по поводу ее результатов. Тем более, что метод объективно малотравматичен, практически бескровен и может выполняться в амбулаторных условиях. Увы, десятки серьезных исследований показали, что он эффективен только при неосложненном храпе и легких формах СОАС и практически бесполезен при среднетяжелых формах болезни. Более того, у пациента может создаваться ощущение мнимого благополучия, когда громкость храпа действительно несколько снижается, но это никак не отражается на тяжести апноэ во время сна и его осложнений. Это и послужило основанием для названной выше формулировки первого пункта рекомендаций.

Что же надо предпринимать в данной ситуации? В приведенных выше стандартах дается ответ и на этот вопрос. Пункт 4 гласит: **«Пациенты, у которых предполагается применение ЛУПП для лечения храпа, должны проходить соответствующее клиническое обследование и полисомнографическое или кардиореспираторное обследование с целью исключения расстройств дыхания во время сна, включая СОАС»**.

Вот здесь и кроется основная проблема для России. Большинство центров, которые занимаются оперативным лечением храпа, не располагает дорогостоящим диагностическим оборудованием, которое необходимо для проведения полисомнографии. По нашим данным, в Москве около 50 центров занимается оперативным лечением храпа. При этом полисомнографическим оборудованием располагают не более 10 из них. Дороговизна диагностического оборудования и

трудоемкость полисомнографии обуславливают ее высокую стоимость (от 5 до 10 тыс. рублей), которая сравнима со стоимостью самих оперативных вмешательств на небе. В сложившейся ситуации медицинские центры идут на определенный риск, не закупая диагностическое оборудование и не проводя полисомнографию с целью минимизации стоимости лечения и увеличения конкурентоспособности. Врачи лишены возможности объективизации тяжести нарушений дыхания во сне и должны ориентироваться только на сообщения самого пациента (а что он может сказать, если ночью спит?) или его родственников, а также на результаты клинического осмотра (он тоже на происходит в дневное время). В сложившейся ситуации не исключена возможность диагностической ошибки. Сами пациенты также могут отказываться от полисомнографического исследования, полагаясь на рекламные объявления о практически 100% эффективности вмешательства (зачем же тогда нужны какие-либо дополнительные дорогостоящие исследования?). К сожалению, в реальности это далеко не так. Данные крупных и вызывающих доверие зарубежных исследований показали, что эффективность лазерных пластик неба составляет около 80% при неосложненном храпе, около 50% при легких формах апноэ сна и менее 20% при среднетяжелых формах СОАС. Как здесь не вспомнить хорошую русскую поговорку: «Семь раз отмерь, один раз отрежь».

В сложившейся ситуации мы считаем, что пациент должен быть обязательно проинформирован о возможности выполнения полисомнографии с целью уточнения диагноза до оперативного лечения. А далее уже сам пациент должен принимать решение: нести ли ему дополнительные расходы на проведение полисомнографии или сразу соглашаться на оперативное вмешательство на небе, но без четких гарантий успеха.

К сожалению, по нашему опыту, подавляющее большинство пациентов, обращающихся в отделение медицины сна клинического санатория «Барвиха» после безуспешных оперативных вмешательств на небе по поводу храпа и СОАС, не были предварительно информированы о возможности проведения полисомнографии или кардиореспираторного мониторинга с целью уточнения диагноза и определения оптимальной тактики лечения в зависимости от сочетания причин и тяжести нарушений дыхания во время сна.

Мы провели небольшое исследование, в которое были включены 15 последовательных пациентов с тяжелой формой СОАС, у которых еще до поступления в наше отделение медицины сна в разные сроки (до 2 лет) была выполнена ЛУПП, иногда повторно. Получены следующие данные:

1. Ни у одного пациента до лазерного вмешательства не было проведено полисомнографическое исследование или кардиореспираторного мониторинга с целью уточнения степени тяжести нарушений дыхания во время сна.

2. Только у 3 пациентов клинически был установлен диагноз СОАС, хотя у всех пациентов имелась классическая клиническая картина тяжелой формы СОАС.

3. Ни одному из пациентов до проведения ЛУПП не было предложено альтернативных методов лечения СОАС.

4. Только 3 пациента были направлены на обследование в отделение медицины сна ЛОР-хирургами после ЛУПП. Остальные пациенты не получили каких-либо рекомендаций по дальнейшему обследованию и лечению, несмотря на неэффективность ЛУПП.

Особо следует подчеркнуть тот факт, что после безрезультатной ЛУПП пациенты не были проинформированы о возможности проведения CPAP-терапии – эффективного метода лечения тяжелой формы СОАС. Им попросту говорили: «Вам уже ничего не поможет».

В заключение хотелось бы указать, что мы не выступаем против оперативных вмешательств на мягком небе при лечении неосложненного храпа или легких форм СОАС сна у пациентов с избыточным мягким небом и без других значимых причинных факторов. Из более чем 4000 пациентов, обследовавшихся в нашем отделении по поводу храпа, около 15% в дальнейшем прошли лазерное, радиочастотное или криолечение в большинстве своем с хорошим эффектом. Это говорит о том, что данные методы находят и в нашем арсенале методов лечения. Мы только призываем, как это ни банально звучит в медицинских кругах, проводить тщательный сбор анамнеза, обеспечивать адекватное инструментальное обследование и использовать наиболее оптимальные методы лечения в зависимости от сочетания причин и тяжести храпа и СОАС. Это могут быть как оперативные вмешательства на уровне глотки и носа, так и CPAP-терапия, применение внутриротовых аппликаторов, прекращение курения, лечение гипотиреоза и ряд других. Уменьшение массы тела также должно рассматриваться как один из основных методов лечения храпа и апноэ сна. Иногда достаточно потерять 5–7 кг массы тела, чтобы перестать храпеть.

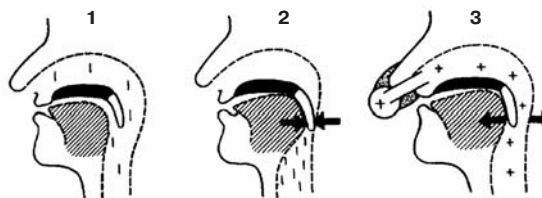
Храп – это всего лишь симптом, который может сопровождать как минимальные нарушения дыхания во сне, так и тяжелую форму СОАС. Причин храпа также насчитывается около десятка. В этой ситуации выполнять оперативное вмешательство на небе у всех пациентов с храпом – это все равно, что удалять аппендикс у всех пациентов с болью в животе. Кому-то, может быть, и поможет...

#### **Неинвазивная вспомогательная вентиляция легких постоянным положительным давлением (CPAP-терапия)**

##### **Определение и механизм действия**

Метод лечения СОАС посредством создания постоянного положительного давления в дыхательных путях был предложен С. Sullivan и соавт. в 1981 г. [4]. В англоязычной литературе метод получил название CPAP – аббревиатура от английских слов Continuous Positive Airway Pressure. Фактически это одна из разновидностей неинвазивной вспомогательной вентиляции легких, которая в реаниматологии называется режимом с положительным давлением в конце выдоха (ПДКВ). Следует отметить, что в данном случае постоянное положительное давление в дыхательных путях поддерживается в течение всего дыхательного цикла. Механизм действия CPAP-терапии достаточно прост. Если в дыхательных путях создать избыточное положительное давление во время сна, то это будет препятствовать их

**Рис. 1. Механизм действия CPAP-терапии:** 1 – в норме дыхательные пути открыты; 2 – спадание дыхательных путей при СОАС; 3 – положительное давление препятствует спаданию дыхательных путей.



**Рис. 2. Проведение CPAP-терапии с использованием аппарата с автоматической настройкой лечебного давления SOMNObalance фирмы «Weinmann» (Германия).**



спаданию и устранил основной механизм развития заболевания, заключающийся в циклическом перекрытии дыхательных путей на уровне глотки (рис. 1).

Для создания положительного давления используется небольшой компрессор, который подает постоянный поток воздуха под определенным давлением в дыхательные пути через гибкую трубку и носовую маску. Целесообразно также использовать нагреваемый увлажнитель, который обеспечивает нагрев и увлажнение поступающего в дыхательные пути воздуха (рис. 2).

#### **Показания к CPAP-терапии**

CPAP-терапия показана в следующих ситуациях [5, 6]:

1. Умеренная или тяжелая форма СОАС – индекс апноэ/гипопноэ (ИАГ)  $\geq 15$  в час.

2. Легкая форма СОАС (ИАГ от 5 до  $<15$  в час) при наличии документированных симптомов дневной сонливости, нарушений когнитивных функций, настроения, бессонницы или документированной артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца или нарушений мозгового кровообращения в анамнезе.

3. Рекомендации по изменению образа жизни или любые другие лечебные мероприятия оказались безуспешными или неприменимыми.

В настоящее время CPAP-терапия является общепризнанным и основным методом лечения среднетяжелых форм СОАС. Эффективность и безопасность CPAP-терапии подтверждены многочисленными контролируруемыми исследованиями, а также почти 30-летним опытом клинического применения данного метода у миллионов пациентов по всему миру [7].

### Противопоказания

Не имеется абсолютных противопоказаний к проведению CPAP-терапии. Данный метод следует назначать с осторожностью, взвешивая возможные риски и пользу, у пациентов со следующими состояниями:

- буллезная болезнь легких;
- рецидивирующие синуситы;
- рецидивирующие глазные инфекции;
- тяжелая дыхательная недостаточность;
- выраженная гипотония;
- выраженная дегидратация;
- наличие в анамнезе пневмоторакса, пневмомедиастинума, пневмоцефалии, утечек спинно-мозговой жидкости, респираторного дистресс-синдрома;
- предшествующие хирургические вмешательства на мозге, среднем или внутреннем ухе, гипофизе;
- частые носовые кровотечения.

### Побочные эффекты

Побочные эффекты CPAP-терапии, как правило, незначительны и обратимы. Наиболее часто отмечают локальное раздражение кожных покровов под маской (около 50%), сухость слизистой оболочки носа и глотки (около 30%), заложенность носа или ринорею (около 25%), раздражение глаз (около 25%). Однако данные нарушения не являются серьезными и не препятствуют продолжению лечения. Применение более комфортных масок и нагреваемых увлажнителей в большинстве случаев эффективно устраняет эти побочные эффекты. Серьезные осложнения, такие как конъюнктивит, гайморит, массивное носовое кровотечение, встречаются достаточно редко. Имеются единичные сообщения о развитии пневмоцефалии, бактериального менингита, пневмоторакса, пневмомедиастинума, однако неизвестно, связаны ли эти осложнения напрямую с CPAP-терапией. В литературе нет данных ни об одном летальном исходе, обусловленном CPAP-терапией.

### Проведение

Первый сеанс CPAP-терапии проводится в специализированных отделениях медицины сна под контролем полисомнографии или кардиореспираторного мониторинга. Перед сеансом у пациента подбирают индивидуально удобную маску и проводят обучение пациента дыханию с использованием аппарата. Далее в течение первой ночи лечения подбирают режим терапии, который обеспечивает устранение нарушений дыхания во время сна.

Основным преимуществом CPAP-терапии является обеспечение практически полного устранения нарушений дыхания во время сна в первую ночь лечения вне зависимости от исходной тяжести СОАС. У больного исчезают храп, остановка дыхания, нормализуется насыщение крови кислородом и структура сна. Часто уже после первой ночи лечения пациенты отмечают выраженный клинический эффект в отношении большинства беспокоящих их симптомов.

### Долгосрочная CPAP-терапия

CPAP-терапия является наиболее эффективным методом лечения среднетяжелых форм СОАС. Однако метод имеет и определенные отрицательные

моменты: необходимость регулярного лечения, социальный и психологический дискомфорт, побочные эффекты. В связи с этим иногда даже стопроцентное устранение нарушений дыхания у пациента с СОАС не гарантирует долгосрочной приемлемости лечения. С учетом этого желательнее проводить пробный курс лечения, на основании которого пациент может сопоставить все плюсы и минусы данного метода и принять осознанное решение о возможности проведения длительной CPAP-терапии в домашних условиях. Это особенно важно при легких и умеренных формах СОАС, когда клиническая эффективность CPAP-терапии менее очевидна, чем при тяжелых формах СОАС. Проведенные нами исследования показали, что для прогнозирования долгосрочной приемлемости CPAP-терапии достаточно провести курсовую CPAP-терапию в течение 5–10 ночей, причем лучше в домашних условиях.

При тяжелой форме СОАС необходимо проводить CPAP-терапию каждую ночь. При более легком течении заболевания возможно периодическое применение аппарата (4–5 раз в неделю). Применение аппарата не излечивает человека, но обеспечивает нормальный сон, улучшение качества жизни и профилактику осложнений. Отмена аппаратного лечения (даже если оно проводилось несколько лет) не влечет за собой каких-либо осложнений, за исключением постепенного возвращения исходной симптоматики.

При долгосрочном лечении важно осуществлять периодический контроль за приемлемостью и эффективностью CPAP-терапии. Так как лечение проводится во время сна, то пациент не может объективно оценивать качество лечения, особенно при постепенном снижении его эффективности. Здесь следует упомянуть, что даже при тяжелых формах СОАС, при которых отмечается до 400–500 остановок дыхания за ночь, пациенты могут ничего об этом не помнить и не предъявлять жалоб на остановки дыхания во время сна.

В случае применения аппаратов, сохраняющих информацию о параметрах лечения, желательно раз в 6 мес считать данные для анализа. При использовании аппаратов, не сохраняющих параметры лечения, необходимо по меньшей мере 1 раз в год проводить контрольное полисомнографическое исследование на фоне CPAP-терапии с целью оценки ее эффективности.

### Оборудование для CPAP-терапии

Важным аспектом CPAP-терапии является ее аппаратное обеспечение. От того, насколько эффективно и надежно будет функционировать лечебное оборудование, в значительной степени зависит успех лечения. В мире выпускается большое количество моделей CPAP-аппаратов. Все оборудование можно разделить на два класса:

- CPAP-аппараты с фиксированным уровнем лечебного давления;
- Auto-CPAP-аппараты с автоматической настройкой лечебного давления в реальном времени.

Обычные аппараты для CPAP-терапии в течение всей ночи создают фиксированное положительное давление в дыхательных путях. В то же время потребность в лечебном давлении в течение ночи может существенно различаться. В положении на боку и в поверхностных стадиях сна достаточно существенно меньшего давления, чтобы открыть



дыхательные пути, например 8 см вод. ст.; а в положении на спине (когда западает язык) и в REM-стадии сна (когда отмечается максимальная мышечная атония) необходимо, например, 14 см вод. ст. В этой ситуации приходится устанавливать давление по верхней планке (14 см вод. ст.), чтобы гарантированно устранить нарушения дыхания в любом положении тела и любой стадии сна. При этом сам по себе высокий уровень лечебного давления может быть раздражающим фактором, затрудняющим выдох и увеличивающим утечки из-под маски, что в итоге снижает приемлемость лечения.

Одним из основных направлений совершенствования оборудования для CPAP-терапии явилась разработка аппаратов, обеспечивающих автоматическую настройку лечебного давления в реальном времени, – так называемых Auto-CPAP-аппаратов. В этих аппаратах используют сложные алгоритмы автоматической настройки лечебного давления в зависимости от детектируемых нарушений дыхания (апноэ, гипопноэ, храп, флюолимитация). Фактически Auto-CPAP аппараты подают в дыхательные пути в каждый конкретный период сна именно то положительное давление, которое необходимо для поддержания их в открытом состоянии.

В сравнительных исследованиях было показано, что при применении Auto-CPAP-аппаратов среднее лечебное давление было на 30–40% меньше по сравнению с давлением, которое необходимо было бы устанавливать на неавтоматических CPAP-аппаратах. Снижение среднего лечебного давления обуславливало увеличение приемлемости лечения при использовании Auto-CPAP-аппаратов. При этом применение Auto-CPAP-аппаратов обеспечивало аналогичную эффективность устранения нарушений дыхания по сравнению с применением CPAP-аппаратов с фиксированным давлением.

В последние годы появилась еще одна функция, увеличивающая приемлемость лечения, – снижение давления на выдохе. Практически все современные Auto-CPAP-аппараты имеют эту функцию. Аппарат постоянно отслеживает в реальном времени дыхание пациента и прогнозирует переход от вдоха к выдоху. Перед каждым выдохом аппарат снижает давление, что облегчает выдох пациента. Степень снижения подбирается индивидуально для каждого пациента. Перед вдохом аппарат снова увеличивает давление до исходного. Клинические исследования показали, что функция снижения давления на выдохе существенно увеличивает приемлемость лечения, особенно у пациентов с тяжелыми формами синдрома обструктивного СОАС, у которых требуются высокие уровни лечебного давления для устранения нарушений дыхания во время сна.

Еще одной важной особенностью Auto-CPAP-аппаратов является возможность сохранения в памяти прибора параметров лечения за 180–365 ночей (уровень лечебного давления, величина утечек из-под маски, индекс обструктивных и центральных апноэ и гипопноэ, частота эпизодов храпа).

Возможность считывания результатов лечения особенно важна в том случае, когда у пациента отмечаются снижение эффективности CPAP-терапии или какие-либо побочные эффекты. Компью-

терный анализ результатов лечения за предшествующий период в подавляющем большинстве случаев позволяет определить и устранить проблему. Если же аппарат не обладает возможностью сохранения данных, то для уточнения проблем приходится проводить контрольное полисомнографическое исследование на фоне CPAP-терапии, что требует дополнительных затрат времени и ресурсов.

В аппарате SOMNObalance имеется возможность просмотра записи кривой потока в реальном времени за последние 35 ч лечения. Фактически этот прибор дает информацию аналогичную той, которая регистрируется в диагностических системах с помощью носовых канюль. Это особенно важно в сложных случаях, когда проводится лечение пациентов со смешанными нарушениями дыхания во сне обструктивного и центрального генеза. CPAP-терапия успешно устраняет обструкцию дыхательных путей, но практически не влияет на синдром центрального апноэ во время сна.

Пытаясь разделиться о лечении, хотелось бы еще раз подчеркнуть, что не существует одного единственного метода лечения храпа и апноэ. Выбор метода или комплекса методов зависит от причин храпа и СОАС, а также от степени тяжести нарушений дыхания во сне.

В заключение следует отметить, что СОАС является актуальной проблемой современной медицины из-за большой распространенности этой патологии в популяции, увеличения риска сердечно-сосудистых осложнений и значительного ухудшения качества жизни пациентов. В настоящее время врач, информированный о данной проблеме, располагает возможностью своевременно выявления больных с этой потенциально летальной патологией. Вовремя назначенное лечение позволяет в подавляющем большинстве случаев предотвратить нежелательные последствия и значительно улучшить качество жизни пациента.

#### Литература

1. Janson C, Gislason T, Bengtsson H et al. Long-term follow-up of patients with obstructive sleep apnea treated with uvulopalatopharyngoplasty. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 123 (3): 257–62.
2. Maw J, Marsan J. Uvulopalatopharyngoplasty versus laser-assisted uvulopalatopharyngoplasty in the treatment of snoring. *J Otolaryngol* 1997; 26 (4): 232–5.
3. Brooks DR, Horner L, Kimoff L et al. Effect of obstructive sleep apnea versus sleep fragmentation on responses to airway occlusion. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1609–17.
4. Sullivan CE, Issa FG, Berthon-Jones M, Eves L. Reversal of obstructive sleep apnoea by continuous positive airways pressure applied through the nares. *Lancet* 1981; 1: 862–5.
5. Institute for Clinical Systems Improvement (ICSI). *Diagnosis and treatment of obstructive sleep apnea in adults*. Bloomington (MN): Institute for Clinical Systems Improvement (ICSI). 2008.
6. National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). *Continuous positive airway pressure for the treatment of obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome*. London (UK). 2008 Mar. 25 (Technology appraisal guidance; no. 139).
7. Kusbita CA, Littner MR, Hirshkowitz M et al. American Academy of Sleep Medicine. *Practice parameters for the use of continuous and bilevel positive airway pressure devices to treat adult patients with sleep-related breathing disorders*. *Sleep* 2006; 29 (3): 375–80.

С.Н.Терещенко, И.В.Жиров, В.П.Масенко, Т.Г.Куликова,  
Т.В.Горюнова, В.В.Середович

## Рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом, и кардиоваскулярная патология: связь с гипертрофией миокарда и синдромом ишемии-реперфузии

Институт клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова, Москва

### Аннотация

В обзоре представлены данные, касающиеся возможной патогенетической роли семьи рецепторов, активируемых пролифераторами пероксисом, в развитии сердечно-сосудистой патологии.

**Ключевые слова:** рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом; синдром ишемии-реперфузии; гипертрофия левого желудочка.

S.N. Tereshchenko, I.V. Zhirov, V.P. Masenko, T.G. Kulikova, T.V. Goryunova, V.V. Sereдович

### Peroxisome proliferator-activated receptors and cardiovascular pathology: an association with myocardial hypertrophy and ischemia-reperfusion syndrome

A.L. Myasnikov Research Institute of Clinical Cardiology, Moscow

### Annotation

The review gives data on a possible pathogenetic role of a family of peroxisome proliferator-activated receptors in the development of cardiovascular disease.

**Keywords:** peroxisome proliferator-activated receptors, ischemia-reperfusion syndrome, left ventricular hypertrophy.

### Сведения об авторах:

Терещенко Сергей Николаевич – д-р мед. наук, проф., рук. отд. заболеваний миокарда и сердечной недостаточности НИИ клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова, тел.: 414-61-17

Жиров Игорь Витальевич – д-р мед. наук, ст. науч. сотр. отд. заболеваний миокарда и сердечной недостаточности НИИ клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова, тел.: 414-67-88 (izbirov@mail.ru)

Масенко Валерий Павлович – д-р мед. наук, проф., рук. отд. нейрогуморальных и иммунологических исследований НИИ клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова, тел.: 414-64-56

Куликова Татьяна Гавриловна – науч. сотр. лаб. клеточной подвижности НИИ экспериментальной кардиологии, тел.: 414-6743

Горюнова Татьяна Вячеславовна – мл. науч. сотр. отд. заболеваний миокарда и сердечной недостаточности НИИ клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова, тел.: 414-69-27

Середович Вячеслав Викторович – мл. науч. сотр. отд. заболеваний миокарда и сердечной недостаточности НИИ клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова, тел.: 414-68-52

Рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом – в английской транскрипции peroxisome proliferator activated receptor (PPARs), относятся к суперсемейству ядерных рецепторов факторов транскрипции [1–4]. После связывания лигандов малой молекулярной массы они активируют транскрипцию генов, контролирующих жировой и углеводный метаболизм. Семейство PPAR состоит из трех изоформ, обозначаемых как  $\alpha$ ,  $\gamma$  и  $\delta$ . В настоящее время интенсивно изучается роль PPAR в развитии сердечно-сосудистых, онкологических и метаболических заболеваний [1, 4].  $\gamma$ PPAR активируются синтетическими и природными лигандами, такими как антидиабетические препараты класса тиазолидиндионов, простагландинами класса J, включая 15d-PGJ2.  $\gamma$ PPAR экспрессируется в жировой ткани, способствуя дифференцировке адипоцитов, но также присутствует в раз-

личных других тканях и клетках, в том числе в клетках сосудистого русла, включая гладкомышечные клетки и макрофаги [1–4].

В активированных макрофагах активация  $\gamma$ PPAR приводит к уменьшению продукции провоспалительных цитокинов и металлопротеиназ. Кроме того,  $\gamma$ PPAR индуцируют перемещение холестерина из макрофагов и таким образом, возможно, оказывают антиатерогенное действие. Было также показано, что активация  $\gamma$ PPAR ингибирует развитие атеросклероза у окисленных липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) мышцей с нокаутированными рецепторами ЛПНП и уменьшает толщину стенки сонной артерии у пациентов с сахарным диабетом типа 2 [5, 6]. В противоположность этому в другом исследовании было предположено, что  $\gamma$ PPAR вызывает атерогенные эффекты, стимулируя захват макрофагами человека через индукцию транскрипции CD36, при-

надлежащей к семейству очищающих рецепторов класса B, и которые высокоэкспрессируются в моноцитах и происходящих из моноцитов макрофагах [1]. Кроме того, за счет увеличения количества рецепторов в фибробластах усиливается экспрессия ингибитора активатора плазминогена типа 1 – главного физиологического ингибитора фибринолиза [1].

$\gamma$ РАПП также экспрессируются в сердце взрослого человека, где могут регулировать метаболические процессы, важные для клеточного выживания и индукции роста. Активация  $\gamma$ РАПП в кардиомиоцитах (КМЦ) крыс, например, показала супрессию индуцированной LPS экспрессии  $\alpha$ -фактора некроза опухоли на уровне транскрипции посредством частичного антагонизма активности NF- $\kappa$ B [5]. Так как  $\alpha$ -фактор некроза опухоли вовлечен в патогенез сердечной недостаточности, можно предположить, что  $\gamma$ РАПП определяет регуляцию через путь NF- $\kappa$ B и играет важную роль в регуляции функций желудочков [2–4].

Современные исследователи считают, что рецепторы семейства РАПП вовлечены в патогенез сердечно-сосудистых заболеваний различными путями [1–4]. В настоящей статье мы остановимся на двух из них: влияние на процессы гипертрофии миокарда и синдром ишемии-реперфузии.

### 1.1. $\alpha$ РАПП и феномен ишемия-реперфузия

$\alpha$ РАПП обильно экспрессируются в сердце, где они играют важную роль в регуляции окисления жирных кислот (ЖК) при помощи индуцированной экспрессии генов, кодирующих белки, вовлеченные в захват и метаболизм ЖК. В нормальных физиологических условиях ЖК являются основным источником энергии для КМЦ. В условиях ишемии миокарда и при (после) реперфузии уровень  $\alpha$ РАПП снижается, хотя непонятно, является ли это адаптивным или дезадаптивным механизмом [6]. В попытке разобраться в точной роли  $\alpha$ РАПП в феномене ишемия-реперфузия и определении, могут ли лиганды  $\alpha$ РАПП быть терапевтическими средствами, было проведено множество исследований в различных экспериментальных вариантах.

В целом  $\alpha$ РАПП оказывают положительную роль при феномене ишемия-реперфузия. В эксперименте *in vivo* на модели крыс было продемонстрировано, что инфузия агониста  $\alpha$ РАПП Wy 14,643 перед окклюзией коронарной артерии приводила к значительному уменьшению зоны инфаркта миокарда (ИМ) и улучшению сократимости миокарда [7, 8], что наводит на мысль о том, что активация  $\alpha$ РАПП может сохранять сократительную способность миокарда [9]. Кардиопротективное действие  $\alpha$ РАПП связывают с ингибированием системы NF- $\kappa$ B и снижением в крови уровня провоспалительных медиаторов [9, 10]. Еще один агонист  $\alpha$ РАПП (GW7647) продемонстрировал положительное влияние на уменьшение зоны ИМ в модели мышей с феноменом ишемия-реперфузия [10]. Позитивное действие агонистов  $\alpha$ РАПП при ишемии-реперфузии было нейтрализовано в экспериментах с мышами с  $\alpha$ РАПП-/-, т.е. положительное действие  $\alpha$ РАПП реализуется посредством прямой активации этих рецепторов. Введение фибрата, клофибрата [8, 11] и фенофибрата [12] сопровождалось положительным действием при ишемии-реперфузии в

эксперименте *ex vivo* и *in vivo*, что подтверждает мысль о том, что активация  $\alpha$ РАПП может приводить к кардиопротективному эффекту.

Несмотря на широко декларируемые положительные эффекты еще одного агониста  $\alpha$ РАПП (Wy 14,643) при ишемии-реперфузии, некоторые исследования поставили под сомнение эту концепцию и показали даже некоторое негативное влияние этого агониста в экспериментальной модели *in vivo* на мышцах с феноменом ишемия-реперфузия [6]. Однако значительные различия в методиках проведения этих исследований могут объяснить противоречивость результатов. Данные исследований, проведенные на экспериментальной модели мышей с модифицированным геном, кодирующим  $\alpha$ РАПП, также противоречивы. Например, в то время как добавление  $\alpha$ РАПП оказывало положительное действие по кардиопротекции при ишемии-реперфузии [13], а в изолированно-перфузируемой модели мышей с отсутствием гена  $\alpha$ РАПП-/- был продемонстрирован также положительный эффект [14, 15], гиперэкспрессия  $\alpha$ РАПП в животной модели приводила к нейтральному или негативному эффекту в отношении кардиопротекции [14].

Более того, в то время как одни исследователи отмечали положительное влияние лигандов  $\alpha$ РАПП против гипоксического повреждения КМЦ [6], другие не выявили наличия какого-либо кардиопротективного их влияния [16] или даже наблюдали замедление [14] восстановления функциональной способности сердца после ишемии. Наиболее вероятное объяснение противоречивости этих результатов нужно искать в различиях выбора экспериментальных моделей и методов проведения исследования. Тенденция такова: исследования *in vivo* демонстрируют кардиопротективное действие, в то время как эксперименты *ex vivo* дают переменные результаты. Например, в отличие от экспериментов *in vivo*, изолированные препараты сердца не подвержены системным нейрогуморальным воздействиям. Кроме того, эксперименты по применению фармакологических агонистов  $\alpha$ РАПП также отличаются от экспериментов по модификации гена  $\alpha$ РАПП, что также может сказываться на результатах исследования [1, 6].

### 1.2. $\gamma$ РАПП и феномен ишемия-реперфузия

Поскольку  $\gamma$ РАПП локализируются в адипоцитах, большинство исследований сконцентрировано на изучении  $\gamma$ РАПП в метаболизме липидов. Точная физиологическая роль  $\gamma$ РАПП в миокарде до конца не ясна, однако в экспериментальной модели на крысах агонисты  $\gamma$ РАПП способствовали уменьшению зоны ИМ [6]. В целом данные исследований, оценивающих эффекты активации  $\gamma$ РАПП при феномене ишемия-реперфузия, более последовательны и однонаправлены (в отличие от данных по  $\alpha$ РАПП), что может говорить о том, что агонисты  $\gamma$ РАПП могут иметь больший терапевтический потенциал в условиях феномена ишемия-реперфузия.

В исследованиях, в которых использовали различные лиганды для активации  $\gamma$ РАПП, такие как тиазолидиндионы и простагландины (15D-PGJ2 и PGA1), продемонстрировано кардиопротективное действие по уменьшению зоны ИМ и улучшению функции сердца. В исследованиях *in vivo* [1, 6,

10, 17, 18] и *ex vivo* [19, 20] было показано, что введение росиглитазона уменьшает размер ИМ в экспериментальной модели ишемии-реперфузии. Более того, выявлено снижение конечного диастолического давления в левом желудочке (ЛЖ) при применении росиглитазона в условиях пост-ишемического повреждения [21]. Аналогичным образом (как и росиглитазон) действуют и другие глитазоны, такие как пиоглитазон и циглитазон [22, 23]. В экспериментальной модели на свиньях троглитазон также продемонстрировал положительное влияние на улучшение функции ЛЖ, в том числе на улучшение диастолической функции [24], аналогичные результаты получены и в моделях с другими животными [25, 26]. Высокоselectивный эндогенный лиганд к  $\gamma$ РАПП 15d-PGJ2 оказывал кардиопротективное действие в экспериментальной животной модели [27], что говорит о том, что эффекты агонистов  $\gamma$ РАПП реализуются посредством прямого влияния на этот рецептор. В то же время ингибирование  $\gamma$ РАПП посредством специфического антагониста GW9662 приводило к значительному увеличению размера зоны ИМ после ишемии-реперфузии [28]. Однако несмотря на многочисленные сообщения о положительном влиянии глитазонов при ишемии-реперфузии, один из этих препаратов, троглитазон, в эксперименте на свиньях (*in vivo*) оказывал отрицательное влияние, выражающееся в провокации желудочковых нарушений ритма сердца после 90-минутного периода ишемии [29].

Было также предложено несколько альтернативных механизмов, объясняющих кардиопротективное влияние  $\gamma$ РАПП, например ингибирование NF- $\kappa$ B [6], снижение лейкоцитарной инфильтрации [10] и ингибирование апоптоза [17].

Агонисты  $\gamma$ РАПП проявляют кардиопротективное влияние практически сразу, в течение нескольких минут после введения, причем независимо от его скорости: болюсно или инфузионно. Это подтверждает мысль о том, что положительные влияния  $\gamma$ РАПП при феномене ишемии-реперфузии реализуются не через воздействие на экспрессию генов, хотя они могут проявляться вторично вследствие послевоспалительного действия.

В нескольких исследованиях оценивали эффекты активации РАПП ( $\alpha$  или  $\gamma$ ) в экспериментальной модели постинфарктного кардиосклероза. Были получены противоречивые результаты. Например, агонист  $\alpha$ РАПП фенофибрат способствовал развитию гипертрофии ЛЖ (ГЛЖ) [30], в то время как агонист  $\gamma$ РАПП росиглитазон повышал смертность [31], но улучшал процесс ремоделирования [32]. Возможно, эти противоречивые данные были обусловлены различиями в дизайне исследований. Тем не менее необходимо проведение дальнейших работ по определению роли РАПП в условиях хронического ремоделирования сердца.

## 2.1. $\alpha$ РАПП и ГЛЖ

В здоровом сердце взрослого человека ЖК являются основным источником энергии [33], поскольку дают больше АТФ при равных затратах, чем глюкоза и лактат. Метаболизм ЖК в сердце происходит через цикл  $\beta$ -окисления. Надо отметить, что в эмбриональном состоянии основным путем получения энергии сердцем является мета-

болизм глюкозы и лактата. В сердце новорожденных способность для  $\beta$ -окисления ЖК быстро увеличивается параллельно с митохондриальной пролиферацией внутри кардиомиоцитов, устанавливая ЖК как основной источник АТФ.

Активация  $\alpha$ РАПП в сердце стимулирует гены, контролирующие синтез белков, ответственных за захват ЖК митохондриями, что в конечном итоге ведет к увеличению выработки АТФ [34, 35]. В гипертензивных сердцах повышенная нагрузка на сердце вызывает ряд изменений в метаболизме энергии КМЦ. В экспериментальных и клинических исследованиях было показано, что в условиях ГЛЖ снижается активность генов, отвечающих за синтез белков, захватывающих ЖК, что меняет вектор выработки энергии в сторону метаболизма глюкозы [1, 3, 36]. Происходит так называемая реверсия генной экспрессии в сторону фетальной (эмбриональной) экспрессии, которая касается не только белков, участвующих в энергетическом метаболизме, но и широкого спектра белков, например вовлеченных в процесс сокращения и расслабления КМЦ.

$\alpha$ РАПП является одним из основных регуляторов в процессе  $\beta$ -окисления ЖК в сердце. Логично предположить, что снижение экспрессии генов, участвующих в  $\beta$ -окислении, обусловлено снижением активности  $\alpha$ РАПП.

Роль  $\alpha$ РАПП в развитии ГЛЖ изначально была заподозрена при наблюдении за детьми с дефектом  $\beta$ -окисления ЖК [37]. В экспериментальной модели мышей с аортальным стенозом было показано, что уровень  $\alpha$ РАПП снижается, что сопровождается концентрической ГЛЖ. Это наталкивает на мысль об участии  $\alpha$ РАПП в реверсии фетального генотипа.

Интенсивно изучается вопрос: является ли нарушение активности  $\alpha$ РАПП в развитии ГЛЖ адаптивным или дезадаптивным процессом. В модели ГЛЖ из-за перегрузки давлением реверсия в сторону фетального генотипа изначально рассматривалась как адаптивный процесс, позволяющий через переключение на метаболизм глюкозы (с метаболизма ЖК) работать сердцу в режиме энергосохранения. Однако с прогрессированием ГЛЖ переключение на метаболизм глюкозы способствует нарастанию сократительной дисфункции, аккумуляции и токсичности ЖК. Это позволяет предположить, что снижение активности  $\alpha$ РАПП, возможно, адаптивное в начале, превращается в дезадаптивный процесс по мере прогрессирования ГЛЖ и декомпенсации сердца [1, 3].

Было проведено много работ, направленных на выяснение роли  $\alpha$ РАПП в развитии ГЛЖ, но, к сожалению, они только запутали вопрос. Ранее исследование в экспериментальной модели аортального стеноза показало, что реактивация  $\alpha$ РАПП при помощи агониста Wy 14,643 не оказывает значимого эффекта на развитие ГЛЖ. Неожиданно было обнаружено, что реактивация  $\alpha$ РАПП в гипертрофированных сердцах приводит к еще большему усугублению сократительной дисфункции, что позволило предположить, что снижение активности  $\alpha$ РАПП является необходимым условием для адаптации сердца в условиях перегрузки и ГЛЖ [1]. Вместе с тем введение агониста Wy 14,643 вызывало значимое снижение метаболизма глюкозы, вместо ожидаемой реактивации  $\beta$ -окисления ЖК, что также способствует нараста-

нию тяжести сократительной дисфункции. В еще одном исследовании с мышами, которых кормили агонистом Wu 14,643 в течение 26 нед, было также обнаружено развитие ГЛЖ, что указывает на то, что активация  $\alpha$ РАПП может также быть стимулом к развитию ГЛЖ [1]. Кроме того, те же авторы указывали, что сочетание Wu 14,643 и клофибрата приводит к повышению синтеза генетических «про-ГЛЖ» маркеров и цепей миозина. Интересно отметить, что в экспериментальной модели крыс (в отличие от модели мышей) при активации  $\alpha$ РАПП наблюдалось усиление  $\beta$ -окисления ЖК, но это не спасало от развития дисфункции ЛЖ. Это наводит на мысль, что снижение активности  $\alpha$ РАПП является положительным моментом, но гиперэкспрессия  $\alpha$ РАПП, приводя к активации  $\beta$ -окисления ЖК, приводит к истощению последнего и в дальнейшем к развитию сократительной дисфункции [1].

Несмотря на многочисленные сообщения о негативной роли активации  $\alpha$ РАПП, есть и работы, показавшие положительное влияние активации  $\alpha$ РАПП при развитии ГЛЖ. В эксперименте *in vivo* на модели перегрузки давлением активация  $\alpha$ РАПП при помощи фенофибрата способствовала ингибированию миокардиального фиброза через угнетение пролиферации фибробластов, ассоциированное с гиперэкспрессией эндотелина-1 (ЭТ-1). Лечение фенофибратом крыс с искусственно вызванной артериальной гипертензией (АГ) у линии крыс Dahl, чувствительных к соли, приводило к демпфированию ГЛЖ и миокардиального фиброза посредством ингибирования воспаления, обусловленного NF- $\kappa$ B. Более точно это было связано со снижением активности гена NF- $\kappa$ B. В модели с крысами с вызванной искусственно АГ и гиперэкспрессией ЭТ-1 введение фенофибрата значительно уменьшало ГЛЖ и тяжесть кардиального фиброза, ремоделирования и миокардиального воспаления [1, 3, 38]. Было также показано, что активация  $\alpha$ РАПП при помощи фенофибрата ингибировало обусловленную ЭТ-1 ГЛЖ в изолированном КМЦ, что добавляет уверенности в том, что обусловленная фенофибратом активация  $\alpha$ РАПП способствует ингибированию ГЛЖ [39].

Работы с так называемыми  $\alpha$ РАПП-негативными мышами показали, что отсутствие у них этих рецепторов оказывает негативное влияние на функцию сердца. Исследование с такими мышами и перегрузкой давлением показало, что у этих животных быстрее и сильнее развиваются ГЛЖ и сократительная дисфункция ЛЖ [40]. В аналогичной же экспериментальной модели было показано, что отсутствие  $\alpha$ РАПП оказывает благоприятный эффект и сдерживает развитие ГЛЖ, но приводит вместе с тем к снижению метаболизма глюкозы [41, 42]. Было также показано, что лечение фенофибратом  $\alpha$ РАПП-негативных мышей еще больше усугубляет ГЛЖ, фиброз, ремоделирование, что указывает на возможность агонистов независимо (от рецепторов) оказывать неблагоприятное действие [43]. Это может объяснить, почему реактивация  $\alpha$ РАПП при помощи Wu 14,643 может обладать негативным эффектом на гипертрофированное сердце. Данные всех исследований, в которых изучали влияние фенофибрата в спонтанной животной модели, показали положительное влияние. Это может указывать на то, что обус-

ловленное  $\alpha$ РАПП положительное влияние на ГЛЖ может перевешивать независимое от рецепторов прямое негативное действие.

Связь между активацией  $\alpha$ РАПП и ингибированием (ПСРО) была также подтверждена в работах с  $\alpha$ РАПП-негативными мышами, в которых было показано снижение активности супероксид-дисмутазы [44]. Предполагают, что снижение активности супероксид-дисмутазы может приводить к накоплению свободных радикалов, что может быть основным механизмом развития сократительной дисфункции у этой мышинной модели [44]. Суммируя имеющиеся результаты, можно предположить, что снижение активности  $\alpha$ РАПП или отсутствие этих рецепторов отрицательно сказывается на функции сердца. Фармакологическая реактивация  $\alpha$ РАПП оказывает ингибирующее действие на ГЛЖ и сократительную функцию, хотя нужно более полное понимание независимого от рецепторов действия этих веществ до начала клинических исследований этих лекарств.

## 2.2. $\gamma$ РАПП и ГЛЖ

Рецепторы  $\gamma$ РАПП экспрессируются в сердце в небольшом количестве [6, 45]. Вместе с тем в большинстве исследований, посвященных изучению этих рецепторов, показана их протективная роль, хотя механизмы ее неясны. Надо отметить, что агонисты  $\gamma$ РАПП не индуцируют значимой экспрессии генов, ответственных за  $\beta$ -окисление [46]. В соответствии с этими данными было показано, что в отличие от  $\alpha$ РАПП и  $\delta$ РАПП лиганды  $\gamma$ РАПП не оказывают значимого влияния на  $\beta$ -окисление ЖК [47]. В то же время несколько исследований *in vivo* и *ex vivo* показали благоприятную протективную роль активации  $\gamma$ РАПП в предотвращении развития ГЛЖ и фиброза [5]. Как синтетические агонисты  $\gamma$ РАПП (тиазолидиндионы), так и эндогенные агонисты (15d-PGJ2) уменьшали ГЛЖ, вызванную активацией ЭТ-1. Эти положительные эффекты реализуются через ингибирование путей NF- $\kappa$ B, что указывает на прямую вовлеченность в процесс  $\gamma$ РАПП-рецепторов. В модели с искусственно вызванной у крыс АГ россиглитазон, а в модели с крысами с перегрузкой давлением сиглитазон продемонстрировали положительное влияние на торможение ГЛЖ и фиброза [47]. Вместе с тем сиглитазон также благоприятно влиял на образование ПСРО.

Несмотря на множество сообщений, указывающих на защитное влияние  $\gamma$ РАПП от ГЛЖ, есть и противоположные данные. В исследовании L.Wu и соавт. [48] россиглитазон потенцировал ГЛЖ при АГ у мышей. Более того, хроническое кормление мышей специфическими агонистами  $\gamma$ РАПП (X334) и глитазонами вызывало развитие ГЛЖ [49]. Интересно, что негативные эффекты россиглитазона были продемонстрированы даже у  $\gamma$ РАПП-негативных мышей, что указывает на то, что лиганды  $\gamma$ РАПП могут оказывать свое трофическое действие независимо от рецепторных путей [50]. Это подтверждается работой с элегантным дизайном, в которой исследовали КМЦ и макрофаги  $\gamma$ РАПП-негативных мышей с индуцированной ангиотензином II моделью ГЛЖ и фиброза [1, 3]. Введение агониста  $\gamma$ РАПП пиоглитазона способствовало развитию индуцированной ангиотензином ГЛЖ как у  $\gamma$ РАПП-негативных мышей, так и в контрольной группе, но вместе с тем

развитие фиброза останавливалось, что опять указывает на наличие двух независимых путей активации. Однако благоприятное действие на фиброз пиоглиитазона отсутствовало в модели с макрофаг-специфичными  $\gamma$ РАПП-негативными мышами, что указывает на то, что ингибирование миокардиальных макрофагов при помощи  $\gamma$ РАПП может играть ключевую роль [6].

\*\*\*

Таким образом, рецепторы семейства РАПП значимо экспрессируются в миокарде и играют весомую роль в его метаболизме. В настоящее время проводится интенсивное экспериментальное и клиническое изучение возможности использования данных рецепторов в качестве маркеров поражения и терапевтических мишеней при различных сердечно-сосудистых заболеваниях, таких как атеросклероз, метаболический синдром, хроническая сердечная недостаточность. Для определения точной роли этих рецепторов требуется проведение новых исследований.

#### Литература

- Robinson E, Grieve D. Significance of peroxisome proliferator-activated receptors in the cardiovascular system in health and disease. *Pharmacol Ther* 2009; 122: 246–63.
- Asai T, Okumura K, Takahashi R et al. Combined therapy with PPAR $\alpha$  agonist and L-carnitine rescues lipotoxic cardiomyopathy due to systemic carnitine deficiency. *Cardiovascular Res* 2006; 70: 566–77.
- Benson S, Persbadsingh H, Ho C et al. Identification of telmisartan as a unique angiotensin II receptor antagonist with selective PPAR $\gamma$ -modulating activity. *Hypertension* 2004; 43: 993–1002.
- Suwyngbedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev* 1999; 79: 215–62.
- Gilde AJ, Van Bilsen M. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): Regulators of gene expression in heart and skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 2003; 178: 425–34.
- Devald O, Sharma S, Adroque J et al. Downregulation of peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  gene expression in a mouse model of ischemic cardiomyopathy is dependent on reactive oxygen species and prevents lipotoxicity. *Circulation* 2005; 112: 407–15.
- Bulbak AA, Sjoquist PO, Xu CB et al. Protection against myocardial ischaemia/reperfusion injury by PPAR- $\alpha$  activation is related to production of nitric oxide and endothelin-1. *Basic Res Cardiol* 2006; 101: 244–52.
- Wayman NS, Hattori Y, McDonald MC et al. Ligands of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR- $\gamma$  and PPAR- $\alpha$ ) reduce myocardial infarct size. *FASEB J* 2002; 16: 1027–40.
- Yeh CH, Chen TP, Lee CH et al. Cardiomyocyte apoptosis following global cardiac ischemia and reperfusion can be attenuated by peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  but not  $\gamma$  activators. *Shock* 2006; 26: 262–70.
- Yue TL, Bao W, Jucker BM et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  protects the heart from ischemia/reperfusion injury. *Circulation* 2003; 108: 2393–9.
- Tan NS, Shau NS, Vinckenbosch N et al. Selective cooperation between fatty acid binding proteins and peroxisome proliferator-activated receptors in regulating transcription. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 5114–27.
- Tenkanen L, Manttari M, Manninen V. Some coronary risk factors related to the insulin resistance syndrome and treatment with gemfibrozil. Experience from the Helsinki Heart Study. *Circulation* 1995; 92: 1779–85.
- Tabernero A, Schoonjans K, Jesel L et al. Activation of the peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  protects against myocardial ischaemic injury and improves endothelial vasodilatation. *BMC Pharmacol* 2002; 2: 10–20.
- Sambandam N, Morabito D, Wagg C et al. Chronic activation of PPAR $\alpha$  is detrimental to cardiac recovery after ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: H87–95.
- Panagia M, Gibbons GF, Radda GK. PPAR- $\alpha$  activation required for decreased glucose uptake and increased susceptibility to injury during ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288: H2677–83.
- Aasum E, Hafstad AD, Severson DL, Larsen TS. Age-dependent changes in metabolism, contractile function, and ischemic sensitivity in hearts from db/db mice. *Diabetes* 2003; 52: 434–41.
- Liu HR, Tao L, Gao E et al. Antipapoptotic effects of rosiglitazone in hypercholesterolemic rabbits subjected to myocardial ischemia and reperfusion. *Cardiovasc Res* 2004; 62: 135–44.
- Molavi B, Chen J, Mehta JL. Cardioprotective effects of rosiglitazone are associated with selective overexpression of type 2 angiotensin receptors and inhibition of p42/44 MAPK. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H687–93.
- Khandoudi N, Delerive P, Berrebi-Bertrand I et al. Rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ , inhibits the Jun NH(2)-terminal kinase/activating protein 1 pathway and protects the heart from ischemia/reperfusion injury. *Diabetes* 2002; 51: 1507–14.
- Sidell RJ, Cole MA, Draper NJ et al. Thiazolidinedione treatment normalizes insulin resistance and ischemic injury in the Zucker fatty rat heart. *Diabetes* 2002; 51: 1110–7.
- Conlon D. Goodbye glitazars? *Br J Diabetes Vasc Dis* 2006; 6: 135–7.
- Wynne AM, Mocanu MM, Yellon DM. Pioglitazone mimics preconditioning in the isolated perfused rat heart: A role for the pro-survival kinases PI3K and P42/44MAPK. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46: 817–22.
- Zingarelli B, Hake PW, O'Connor M et al. Diverse cardioprotective signaling mechanisms of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  ligands, 15-deoxy-Delta12,14-prostaglandin J2 and ciglitazone, in reperfusion injury: role of nuclear factor- $\kappa$ B, heat shock factor 1, and Akt. *Shock* 2007; 28: 554–63.
- Zhu P, Lu L, Xu Y, Schwartz GG. Troglitazone improves recovery of left ventricular function after regional ischemia in pigs. *Circulation* 2000; 101: 1165–71.
- Shimabukuro M, Higa S, Shinzato T et al. Cardioprotective effects of troglitazone in streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolism* 1996; 45: 1168–73.
- Lee TM, Chou TF. Troglitazone administration limits infarct size by reduced phosphorylation of canine myocardial connexin43 proteins. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 85: H1650–9.
- Kaplan J, Cook JA, O'Connor M, Zingarelli B. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  is required for the inhibitory effect of ciglitazone but not 15-deoxy-Delta 12,14-prostaglandin J2 on the NF $\kappa$ B pathway in human endothelial cells. *Shock* 2007; 28: 722–6.
- Sivarajah A, McDonald MC, Thiemermann C. The cardioprotective effects of preconditioning with endotoxin, but not ischemia, are abolished by a peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 313: 896–901.
- Xu Y, Lu L, Greyson C et al. Deleterious effects of acute treatment with a peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  activator in myocardial ischemia and reperfusion in pigs. *Diabetes* 2003; 52: 1187–94.
- Morgan EE, Rennison JH, Young ME et al. Effects of chronic activation of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  or high-fat feeding in a rat infarct model of heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: H1899–904.
- Li R, Zheng W, Pi R et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  prevents glycogen synthase 3 $\beta$  phosphorylation and inhibits cardiac hypertrophy. *FEBS Lett* 2007; 581: 311–6.

32. Geng DF, Wu W, Jin DM et al. Effect of peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligand rosiglitazone on left ventricular remodeling in rats with myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2006; 113: 86–91.
33. Taegtmeyer H. Energy metabolism of the heart: from basic concepts to clinical applications. *Curr Probl Cardiol* 1994; 19: 59–113.
34. Lee KAVD, Willemsen PH, Vusse GJVD. Effects of fatty acids on uncoupling protein-2 expression in the rat heart. *FASEB J* 2000; 14: 495–502.
35. Vosper H, Kboundoli GA, Graham TL, Palmer CN. Peroxisome proliferator-activated receptor agonists, hyperlipidaemia, and atherosclerosis. *Pharmacol Ther* 2002; 95: 47–62.
36. Sack MN, Rader TA, Park S et al. Fatty acid oxidation enzyme gene expression is downregulated in the failing heart. *Circulation* 1996; 94: 2837–42.
37. Kelly DP, Strauss AW. Inherited cardiomyopathies. *N Engl J Med* 1994; 330: 913–9.
38. Juge-Aubry CE, Hammar E, Siegrist-Kaiser C et al. Regulation of the transcriptional activity of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha by phosphorylation of a ligand-independent trans-activating domain. *J Biol Chem* 1999; 274: 10505–10.
39. Kliewer S A, Sundseth SS, Jones SA et al. Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 4318–23.
40. Smeets PJ, Teunissen BE, Willemsen PH et al. Cardiac hypertrophy is enhanced in PPAR alpha-/- mice in response to chronic pressure overload. *Cardiovasc Res* 2008; 78: 79–89.
41. Loichot C, Jesel L, Tesse A et al. Deletion of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha induces an alteration of cardiac functions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H161–6.
42. Smeets PJ, Teunissen BE, Planavila A et al. Inflammatory pathways are activated during cardiomyocyte hypertrophy and attenuated by peroxisome proliferator-activated receptors PPARalpha and PPARdelta. *J Biol Chem* 2008; 283: 29109–18.
43. Dubaney TA, Cui L, Rude MK et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha-independent actions of fenofibrate exacerbates left ventricular dilation and fibrosis in chronic pressure overload. *Hypertension* 2007; 49: 1084–94.
44. Guellich A, Damy T, Lecarpentier Y et al. Role of oxidative stress in cardiac dysfunction of PPARalpha-/- mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: H93–102.
45. Escher P, Wabli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: Insight into multiple cellular functions. *Mutat Res* 2000; 448: 121–38.
46. Barger PM, Kelly DP. PPAR signaling in the control of cardiac energy metabolism. *Trends Cardiovasc Med* 2000; 10: 238–45.
47. Pellieux C, Montessuit C, Papageorgiou I, Lerch R. Inactivation of peroxisome proliferator-activated receptor isoforms alpha, beta/delta, and gamma mediate distinct facets of hypertrophic transformation of adult cardiac myocytes. *Pflugers Arch* 2007; 455: 443–54.
48. Wu L, Wang R, De CJ, Wilson TW. Beneficial and deleterious effects of rosiglitazone on hypertension development in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 2004; 17: 749–56.
49. Arakawa K, Ishibara T, Aoto M et al. An antidiabetic thiazolidinedione induces eccentric cardiac hypertrophy by cardiac volume overload in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004; 31: 8–13.
50. Duan SZ, Ivashchenko CY, Russell MW et al. Cardiomyocyte-specific knockout and agonist of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma both induce cardiac hypertrophy in mice. *Circ Res* 2005; 97: 372–9.

\*

---

В.Б.Сергиенко, А.А.Аншелес

## Молекулярные изображения в оценке атеросклероза и перфузии миокарда

Институт клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова, Москва

### Аннотация

Молекулярная визуализация миокарда с использованием современных томографических методов исследования чрезвычайно важна для клинической кардиологии. Оценка жизнеспособности миокарда и степени выраженности атеросклероза имеет особенное значение для ведения и лечения больных с ишемической болезнью сердца (ИБС). Хотя эхокардиографию в состоянии покоя наиболее часто используют для оценки функционального состояния сердца, методы ядерной кардиологии (однофотонная эмиссионная компьютерная томография и позитронная эмиссионная томография, а теперь и рентгеновская компьютерная томография, а также магнитно-резонансная томография сердца) получают важное клиническое значение. Определение и понимание реальных возможностей этих новых методов исследования имеют большое значение. В обзоре оцениваются возможности современных томографических исследований, позволяющих получить молекулярные изображения для оценки перфузии миокарда, а также тяжести атеросклеротических изменений у пациентов с ИБС.

**Ключевые слова:** мультиспиральная компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, однофотонная эмиссионная компьютерная томография, позитронная эмиссионная томография, миокард, перфузия, жизнеспособность, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз.

V.B.Sergienko, A.A.Anshelies

### Molecular imaging in atherosclerosis and myocardial perfusion assessment

### Annotation

Molecular myocardium visualization using the most up-to-date tomographic techniques is extremely important in clinical cardiology. Myocardial viability and atherosclerosis assessment is of particular importance in management of patients with Ischemic Heart Disease. Although rest echocardiography is the most common in assessment of heart function, nuclear cardiology (SPECT and PET), and recently cardiac computed tomography (CT) and magnetic resonance (CMR) become playing important clinical roles. Determining and understanding of real capabilities of these methods is of great necessity in this regard. This review examines the current capabilities of current cardiac tomographic modalities with molecular imaging ability for the assessment of myocardial perfusion and atherosclerosis in patients with known Ischemic Heart Disease.

**Keywords:** cardiac computed tomography, cardiac magnetic resonance tomography, single-photon emission computed tomography, positron-emission tomography, myocardium, perfusion, viability, ischemic heart disease, atherosclerosis.

### Сведения об авторах:

Сергиенко Владимир Борисович – д-р мед. наук, проф., рук. отд. РИСС ФГУ «РКНПК» Минздравсоцразвития России, тел.: 414-63-11

Аншелес Алексей Аркадьевич – аспирант РКНПК в отд. РИСС, тел.: 414-63-11

Современные инструментальные методы неинвазивной визуализации сердца – однофотонная и позитронная эмиссионная компьютерная томография (ОЭКТ и ПЭТ), магнитно-резонансная томография (МРТ) и мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) – нашли широкое применение в диагностике структурно-анатомических и функциональных нарушений миокарда при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Современные подходы к пониманию процессов, происходящих на молекулярном уровне в кардиомиоцитах и миокарде, приобретают особую значимость в диагностике и определении тактики лечения больных с установленной или подозреваемой хронической ишемической болезнью сердца (ИБС) [1, 2]. Во многих случаях эти методы позволяют оценивать жизнеспособность миокарда, определять наличие фиб-

розных изменений и локализацию рубцовых зон, выявлять преходящую ишемию в бассейнах коронарных артерий [3].

В клинической практике показания к применению того или иного метода исследований для конкретных диагностических целей и задач частично пересекаются. В основу рентгенологических и радионуклидных методик заложены свои принципы получения изображений миокарда, и каждый из них имеет определенные преимущества и недостатки. Поэтому получаемая информация оказывается разного свойства, отражая различные аспекты функционального и структурно-анатомического состояния миокарда. Так, ОЭКТ и ПЭТ являются методами выбора для оценки структурно-функциональных и перфузионных изменений в миокарде, а компьютерная томография (КТ) и МРТ в большей степени отражают



структурно-анатомические изменения. Выбор тех или иных методов обследования с точки зрения их целесообразности и эффективности определяется в каждом конкретном случае [2, 4].

В последнем десятилетии с помощью методов ядерной визуализации выполнено множество исследований по разработке различных маркеров, которые могли бы стать показателями состояния коронарных артерий и кардиомиоцитов на клеточном и молекулярном уровнях. Обнаружение признаков высокого риска дестабилизации атеросклеротической бляшки и оценка степени повышенного риска возникновения сердечно-сосудистой патологии являются важнейшими проблемами кардиологии [5]. Здесь молекулярная визуализация может оказаться полезным инструментом исследования молекулярных звеньев патогенеза атеросклероза (АС) [6], включая локальное воспаление [7, 8] апоптоз [9] и ангиогенез [10, 11].

Подробно изучена активация макрофагов в качестве клеточных эффекторов воспаления при АС, их присутствие идентифицировано как предиктор высокого риска его развития [5]. Поэтому непосредственная визуализация степени активности макрофагов является важным методом оценки степени локального воспаления при АС.

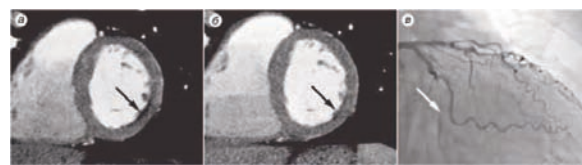
Опубликованы работы о применении меченого аннексина V (A-V) для прижизненной визуализации апоптоза: эндотелиоцитов и гладкомышечных клеток стенки сосуда [5], у пациентов с инфарктом миокарда [12], в тканях трансплантата сердца [13]. Визуализация A-V может дать информацию о стабильности атеросклеротического процесса [9].

С помощью метода NIRF\* (Near-Infrared Fluorescence probe) визуализируется активность провоспалительных ферментов. Наличие ферментов протеолиза в бляшках (в частности, матриксных металлопротеиназ и катепсинов) свидетельствует об альтерации фиброзной покрышки с вероятностью ее разрыва, выхода тромбогенных липидных субстанций и активации прокоагуляции с развитием инфаркта миокарда [14]. Разработаны чувствительные к протеазам NIRF-зонды [7], позволяющие получить оптимальное изображение протеолиза в тканях [15–18] или детализацию особенностей коагуляционного каскада при АС [19]. Визуализацию связанных с АС NIRF-сигналов выполняют также методом флуоресцентной молекулярной томографии [20]. Ведутся работы по оценке структурной трансформации фиброзной покрышки атеросклеротической бляшки с помощью МРТ, КТ или внутрисосудистой ультразвуковой визуализации. Но только молекулярная визуализация позволяет уточнить степень активности деструктивных процессов на атерогенной поверхности артерий и обосновать реальный прогноз возможных осложнений АС [21].

**МСКТ.** Несмотря на то что МСКТ не относится к молекулярным методам, известна ее важная роль в исследованиях по АС. Благодаря высокому разрешению и использованию контрастных средств современная МСКТ позволяет визуализировать коронарные артерии крупного и среднего калибра и оценивать их проходимость, на основании чего косвенно можно предполагать возможные изменения и в кардиомиоцитах. Диаметр визу-

**Рис. 1.** «Перфузионное» исследование МСКТ:

*а* – при исследовании с аденозином и контрастным усилением выявляется участок пониженной плотности в базальном сегменте нижебоковой стенки; *б* – при исследовании в покое указанный дефект имеет существенно меньший размер, что указывает на обратимость поражения; *в* – по данным КАГ – субтотальный стеноз ОА после отхождения первой ДА.



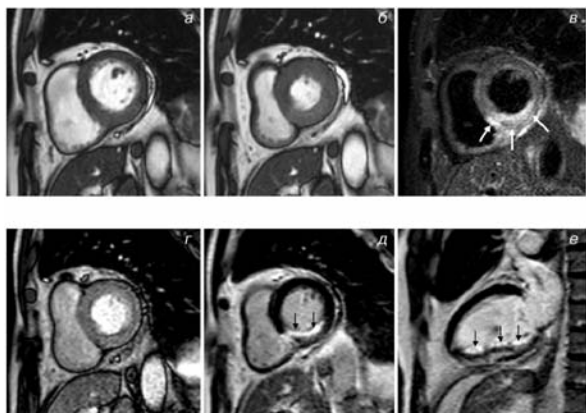
лизируемых сосудов при МСКТ достигает нескольких миллиметров. Однако при исследовании сосудистой системы или микроциркуляции в органах возможности МСКТ ограничены размерами используемых контрастных частиц, которые и определяют минимальный размер изучаемых сосудов. Методом МСКТ с контрастированием исследователи пытаются выявить «перфузионные» нарушения миокарда в покое и при нагрузочных фармакологических пробах [22–24]. Считается, что участки пониженной плотности при первом прохождении йодного контраста через миокард при исследовании в покое указывают на зоны инфаркта, а при исследовании с аденозином – на зону преходящей ишемии (рис. 1) [25–31].

Однако эти исследования пока лишь экспериментальные, а в зарубежных публикациях считают убедительными лишь работы по визуализации фиброзных и рубцовых повреждений миокарда [32]. Кроме того, ограничением этого метода исследования является периодическое возникновение артефактов движения и сдвига жесткости излучения (beam-hardening artifacts), которые могут скрыть диагностически значимые зоны повреждения миокарда [33].

**МРТ.** Известно, что этот метод позволяет за счет своей высокой разрешающей способности определять точные размеры камер сердца, оценивать параметры амплитуды движения участков миокарда и фракцию выброса. Однако, несмотря на постоянное совершенствование оборудования и методик исследований, МРТ пока не является рутинным методом диагностики атеросклеротического поражения коронарных артерий. Опубликованы данные поисковых работ, в которых утверждают, что МРТ с использованием новых контрастных средств позволяет различать отдельные составляющие атеросклеротической бляшки, фибриновую покрышку, кровоизлияния внутрь бляшки, кальциноз и острый тромбоз у больных с АС сонных артерий [34–36]. В этом направлении ведутся исследования с введением парамагнитных наночастиц оксида железа. На примере исследования сонных артерий установлено, что оксид железа связывается с макрофагами атеросклеротически измененной сосудистой стенки и накапливается в бляшках [37–40]. Более тонкие механизмы атеросклеротического процесса были продемонстрированы при использовании методики магнитофлуоресценции [39]. Дальнейшие успехи в этой области ожидаются в случае применения молекулярных контрастных соеди-

\* Инфракрасное флуоресцентное зондирование.

**Рис. 2. Визуализация острого инфаркта миокарда с помощью МРТ.**



Пациент с острым нижним инфарктом миокарда на 5-е сутки. В кинорежиме «Steady-state free precession» (SSFP) в диастолу (а) и систолу (б) – небольшая гипокинезия по нижней стенке. В режиме T2-ВИ с темной кровью – трансмуральный отек миокарда по нижней стенке – белые стрелки (в). Дефектов «перфузии» в покое нет (г). Изображения в отсроченную фазу с Gd по короткой (д) и длинной (е) оси – субэндокардиальный инфаркт миокарда нижней стенки (черные стрелки). Объем зоны отека больше, чем зоны инфаркта [44].

нений, тропных к окисленным липопротеинам низкой плотности (гадофлуорин), активированным макрофагам, молекулам клеточной адгезии стенки сосудов (VCAM-1, E-селектин,  $\alpha_v\beta_3$ -интегрин) [40].

Низкая чувствительность молекул-мишеней к магнетизации – основной недостаток магнитно-резонансной (МР) молекулярной визуализации. Проводятся исследования по усилению МР-сигналов, позволяющему создать достаточный контраст между молекулами-мишенями и окружающими их структурами [6]. Стоит отметить, что МРТ с использованием гадолиния из-за его фармакокинетики не позволяет отражать состояние клеточных систем на молекулярном уровне.

В последние годы с помощью МРТ с нагрузочными фармакологическими пробами и контрастными веществами стали получать данные о структурном состоянии миокарда, а также делают попытки оценить состояние микроциркуляции миокарда (рис. 2) [41–43].

Так, количественный и качественный анализ быстрых последовательных изображений, полученных при первом прохождении контрастного вещества в миокарде, позволяет выявить дефекты его накопления при исследованиях в покое и при фармакологической пробе. Изображения с отсроченным контрастированием указывают на зоны перенесенного инфаркта, рубцового поражения или инфильтрации. МРТ с нагрузочной пробой является точным методом выявления анатомических стенозов коронарных артерий. Метаанализ 14 исследований, касающихся выявления стенозов и включающих в общей сложности 1516 пациентов, показал чувствительность 91% и специфичность 81% в выявлении 50% стенозов и более [45, 46]. Несмотря на существование проблемы темных кольцеобразных артефактов Гиббса, появляющихся на границе сред кровь–эндокард [47], опытный радиолог в состоянии отличить эти артефакты от истинных дефектов накопления контрастного препарата.

**ОЭКТ.** Многочисленными отечественными и зарубежными работами на протяжении трех последних десятилетий показана ведущая роль ОЭКТ и ПЭТ в многосторонней оценке состояния миокарда в целях диагностики и определения прогноза при многих заболеваниях сердечно-сосудистой системы [48–50]. Методики ядерной кардиологии позволяют выявлять ранние нарушения метаболизма, перфузии и рецепторных изменений у пациентов без выраженной симптоматики ИБС или на фоне постинфарктного кардиосклероза и фиброзных изменений различного генеза [2, 3, 51–53]. Радионуклидная оценка перфузии миокарда прочно зарекомендовала себя эталонным методом в оценке его жизнеспособности не только при выраженных клинических проявлениях заболеваний с повреждением миокарда, но и при отсутствии таковой, а также при неизменных коронарных сосудах [54–56]. Оценка перфузии миокарда при ОЭКТ дает достоверную прогностическую информацию о возможных коронарных осложнениях у больных ИБС всех групп риска [57–59]. Однако описаны случаи ложноотрицательных заключений у больных с симметричным снижением глобального коронарного кровотока при многососудистом поражении [60]. До недавнего времени имели место проблемы, связанные с артефактами от молочных желез и диафрагмы. Однако теперь найдено решение с использованием методов коррекции поглощения и синхронизированных с ЭКГ протоколов записи и обработки [57].

**ПЭТ.** Этот метод исследования имеет преимущества перед ОЭКТ, связанные с возможностями количественной оценки миокардиального кровотока (и особенно коронарного резерва) и более высоким разрешением изображений. Сегодня ПЭТ сердца считается «золотым стандартом» в неинвазивной оценке перфузии и жизнеспособности миокарда [61, 62]. При ПЭТ радиационная нагрузка ниже, чем при ОЭКТ [63], а чувствительность и специфичность выявления 50% стенозов и более достигает 91 и 89% соответственно [64]. ПЭТ, как и ОЭКТ, имеет высокую ценность в прогнозировании сердечно-сосудистых осложнений [65–67], а точность выявления многососудистого поражения превышает таковую ОЭКТ [68].

**ПЭТ-КТ.** Разработки последних лет привели к созданию принципиально нового оборудования ПЭТ-КТ, способного интегрировать молекулярные детали ПЭТ- или ОЭКТ-визуализации с низким разрешением в анатомический формат КТ-изображений высокого разрешения, что оказалось важным для молекулярной визуализации в условиях клиники [69]. ПЭТ-КТ сочетает в себе достоинства радионуклидного и рентгенологического подходов в оценке состояния миокарда, при этом взаимно компенсируя их недостатки и ограничения (рис. 3). Приведенный пример наглядно указывает на целесообразность использования ПЭТ-КТ при выборе объема реваскуляризации при многососудистом поражении [70].

По-видимому, в дальнейшем роль гибридной визуализации будет неуклонно возрастать. Анатомическая часть гибридных приборов предоставит точную локализацию участков ткани, накопивших молекулярный агент, например зоны вос-

паления в атеросклеротической бляшке [71], позволяя достоверно судить о ее стабильности и в дальнейшем корректировать тактику ведения пациента [72].

### Обсуждение

Радионуклидные исследования основаны на совершенно иных принципах, чем МСКТ и МРТ. Изображения получаются с использованием меченых соединений, аналогичных тем, что участвуют в биохимических процессах в клеточных системах органов, т.е. визуализируют состояние клеточных систем на молекулярном уровне. При радионуклидной сцинтиграфии, ОЭКТ и ПЭТ изображения органов отражают в большей степени функциональное или перфузионное состояние клеточных систем изучаемых органов, в зависимости от используемого радиофармпрепарата (РФП), что и является принципиальным отличием двух ветвей томографических методов. Знание механизмов получения изображений особенно важно при исследовании миокарда, где требуется всесторонняя оценка структурного состояния сердца и сосудов, а также состояние сократительной функции и перфузии миокарда. Во многих исследованиях с использованием томографических методов зачастую используются термины «жизнеспособность» и «перфузия». Для понимания того, что же оценивает каждый из этих инструментальных методов, необходимо вспомнить, что нарушение перфузии – это патологическое состояние, характеризующееся несоответствием между потребностью и истинным кровоснабжением миокарда.

В зарубежной литературе для обозначения ИБС используется три, казалось бы, одинаковых термина: Coronary artery disease (CAD), Coronary heart disease (CHD) и Ischemic heart disease (IHD). Однако термины CAD и CHD не аналогичны применительно в России термину ИБС. К примеру, под CAD подразумевается только AC коронарных артерий как причина ИБС. Хотя это и доминирующий механизм развития ИБС, но не единственный, и, более того, неоднозначный: известен факт слабой корреляции между наличием атеросклеротического поражения коронарных артерий и собственно ишемией миокарда [73–78]. В CHD помимо CAD входит также васпастический вариант ИБС, т.е. касается в основном резистивных сосудов – артериол и прекапилляров. Таким образом, и CAD, и CHD включают лишь внутрисосудистые механизмы ИБС. Видимо, поэтому в зарубежных статьях о КТ фигурирует только понятие «CAD», поскольку для КТ доступна визуальная оценка лишь сосудов с диаметром более 0,5–1 мм. Однако при этом термин «CAD» переводится как ИБС, хотя единственным верным англоязычным термином для обозначения ИБС является IHD, и именно этот термин используется при описании методов, способных оценивать состояние непосредственно миокарда, а именно ПЭТ, ОЭКТ и МРТ. Такой подход кажется верным, поскольку в конечном счете главная задача – это оценка состояния собственно миокарда (кардиомиоцитов) – ткани, обеспечивающей жизненно важную работу, оценка же остальных структур не должна подменять основную задачу.

Поэтому понятия «жизнеспособности» и «перфузии», по определению относящиеся только к клетке – кардиомиоциту, могут употребляться

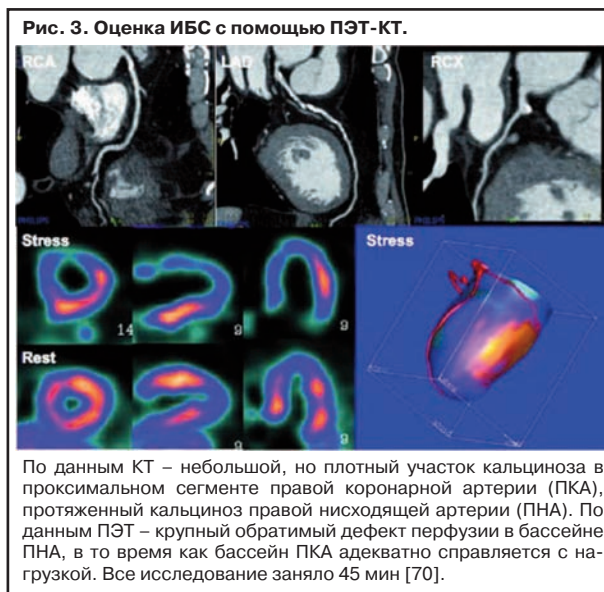


Рис. 3. Оценка ИБС с помощью ПЭТ-КТ. По данным КТ – небольшой, но плотный участок кальциноза в проксимальном сегменте правой коронарной артерии (РКА), протяженный кальциноз правой нисходящей артерии (ПНА). По данным ПЭТ – крупный обратимый дефект перфузии в бассейне ПНА, в то время как бассейн РКА адекватно справляется с нагрузкой. Все исследование заняло 45 мин [70].

лишь тогда, когда доступна достоверная информация о структурно-функциональном состоянии этой клетки на молекулярном уровне.

Как известно, контрастные препараты, используемые для КТ-ангиографии (омнипак, оптирей, визипак) и МРТ сердца (омнискан, магневист), являются внеклеточными, т.е., проникают через сарколемму, оставаясь в интерстиции (хотя Gd – контрасты в определенной степени поступают на внутриклеточное пространство путем диффузии протонов). Поэтому, заявляя о «жизнеспособности», методы КТ и МРТ могут всего лишь констатировать гибель клетки, когда ее мембрана разрушена и содержимое сообщается с межклеточной жидкостью – контраст накапливается в таких очагах и выводится медленнее, чем в норме. В то же время клиническое понятие «жизнеспособности» клетки несколько шире, чем установление факта ее жизни или гибели.

Что касается перфузии, то из-за того, что сущность этого термина точно не определена, зачастую и происходит подмена понятия. Поскольку в радионуклидной диагностике термин «perfusio» (лат. омывание, прохождение через ткань) подразумевал состояние именно клеточного прохождения [79], отсюда и появилось название метода – «перфузионная сцинтиграфия». В том случае, если «перфузией» называют кровоток, дошедший до уровня резистивных сосудов, то он должен называться «коронарным кровотоком» (он может визуализироваться непосредственно анатомически и при КТ). Микроциркуляция на уровне эндотелия капилляров – это уже «артериальный кровоток», и его оценка будет учитывать вазоспастический механизм ИБС. Кровоток через эндотелий, поступивший в межклеточное пространство и соединительную ткань, – это «миокардиальная (тканевая) перфузия», которая учитывает нарушение функции эндотелия и гипертрофию миокарда. Это и есть именно те «перфузии», которыми по факту оперируют при исследованиях КТ и МРТ. Они условно количественны, но напрямую не свидетельствуют о состоянии непосредственно кардиомиоцита. Вследствие этого термин «перфузия», характеризующий собственно обменные процессы и кинетику про-

дуктов метаболизма между капилляром и кардиомиоцитом, должен определяться как «клеточная перфузия». Ее оценка доступна лишь при ОЭКТ (полуколичественная) и ПЭТ (качественная и количественная), поскольку в основе радиоизотопных РФП лежит оценка физиологических и биохимических процессов на клеточном уровне. РФП поступают через сарколемму кардиомиоцита путем диффузии или активно при помощи Na-K-АТФазы и далее в митохондрии. При ишемии метаболизм кардиомиоцитов снижается, Na-K-АТФаза работает менее активно, что и приводит к снижению накопления РФП в клетке. Если клетка погибла, то накопления РФП в ней вообще не произойдет. Таким образом, при ОЭКТ и ПЭТ возможна не только констатация гибели клетки, но и оценка таких патологических состояний, как гипертония и оглушение, т.е. собственно жизнеспособность.

Вследствие этого, в силу указанных ограничений, разрешения методов и механизмов фармакокинетики контрастных веществ необходимо разделить терминологию и не допускать подмены терминологии перфузии. КТ и МРТ оперируют понятиями «тканевой перфузии», а ПЭТ и ОЭКТ оценивают состояние «клеточной перфузии». Клеточная перфузия является наиболее важной с точки зрения клинических задач, поскольку свидетельствует о состоянии жизнеспособности миокарда и на основании этих данных возможно обоснование применения инвазивных методов и определение дальнейшей тактики лечения. Данные же о тканевой перфузии, получаемые при рентгеноанатомических методах исследования, свидетельствуют только лишь о структурных и фиброзных изменениях миокарда и на данном этапе не могут оценивать жизнеспособность миокарда. Независимо от разрешающей способности мультиспиральных томографов (16 или 320 рядов детекторов) или оптимизации последовательностей и напряженности магнитного поля магнитно-резонансных томографов смысловая часть заключений находится в прямой зависимости от фармакокинетики вводимых контрастных веществ. Информация же о сократительной функции, являющейся составляющим компонентом жизнеспособности миокарда, помимо электрофизиологических нарушений, находится в прямой зависимости от состояния перфузии и зачастую является ее следствием.

Тем не менее во множестве случаев для оценки перфузии и жизнеспособности миокарда с требуемой точностью достаточно и косвенных данных «анатомических» томографических методов. Если опустить описанные нюансы, то фактически каждый из четырех анализируемых методов способен давать более или менее полную картину состояния сердца с акцентом на ту или иную функцию. Однако наряду с диагностической ценностью самих методов на его место в алгоритме обследования начинают влиять и другие факторы, в частности:

1. *Экономическая целесообразность.* Стоимость проведения синхронизированной ОЭКТ миокарда по протоколу покой-нагрузка в среднем в 2 раза меньше, чем стоимость МРТ и КТ с контрастным усилением, даже при исследовании в покое.

2. *Компетентность оператора.* Информация, получаемая при ОЭКТ миокарда и особенно при

синхронизации с ЭКГ, позволяет относительно просто при наличии соответствующей квалификации персонала достаточно легко и точно интерпретировать результаты для принятия клинических решений. МРТ и КТ предоставляют огромное количество данных, из которых сначала приходится выделять наиболее информативные. Анализ сотен изображений, получаемых при МРТ и КТ, занимает много времени, требует квалификации, скрупулезности и внимания. В заключение зачастую попадает лишь небольшая часть имеющейся в них информации, поскольку полное описание оказывается слишком трудоемким, что не позволяет проводить исследования в больших объемах и широко применять на практике. Получение массива параллельных сведений при одном исследовании считается одним из важных плюсов МРТ и особенно КТ, но по факту врач-радиолог может пропустить что-либо из того, что не относится напрямую к миокарду или даже к определенной задаче исследования.

3. *Простота выполнения и возможность работы в рутинном режиме.* Протоколы с нагрузкой достаточно просто выполняются в рутинном режиме с помощью ОЭКТ и ПЭТ, в то время как проведение МРТ и КТ с нагрузкой трудоемко, неудобно и пока применяется ограничено. Кроме того, открытый ОЭКТ-томограф более комфортен для больных, чем замкнутые тоннели КТ и особенно МРТ, а РФП для радионуклидной диагностики при меньшей лучевой нагрузке не вызывают аллергических реакций и других побочных эффектов, в отличие от контрастных препаратов и рентгеновского излучения КТ.

Таким образом, при визуализации миокарда с целью получения данных о состоянии перфузии различными инструментальными методами необходимо понимать, какую смысловую нагрузку несет каждый из используемых методов. Рентгенологические и радиодиагностические методы ни в коей степени не являются конкурирующими, поскольку в своей основе используют различные принципы и технологии получения изображений, базирующиеся в основном на фармакокинетических и функциональных особенностях контрастных веществ или РФП. Эти методы дополняют друг друга, и для того чтобы анализ и интерпретация получаемых с их помощью данных проводились наиболее эффективно, необходимо учитывать возможности и ограничения каждого из них.

#### Литература

1. Сергиенко В.Б., Свирицевский Е.Б. Радионуклидные методы исследования. Болезни сердца и сосудов. Под ред. Е.И.Чазова. М.: Медицина, 1992.
2. Беленков Ю.Н., Сергиенко В.Б. Роль неинвазивных методов исследования в диагностике атеросклероза. Кардиология. 2007; 47 (10): 37–44.
3. Сергиенко В.Б. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография. Опыт клинического применения. Дис. докт. мед. наук. М., 1984.
4. Сергиенко В.Б. Радионуклидные исследования при атеросклерозе. Кардиол. вестн. 2009; IV (2): 78–83.
5. Naghavi M, Libby P, Falk E et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II. Circulation 2003; 108 (15): 1772–8.
6. Jaffer FA, Weissleder R. Seeing within: molecular imaging of the cardiovascular system. Circ Res 2004; 94 (4): 433–45.

7. Chen J, Tung CH, Mahmood U et al. In vivo imaging of proteolytic activity in atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105 (23): 2766–71.
8. Kelly KA, Allport JR, Tsourkas A et al. Detection of vascular adhesion molecule-1 expression using a novel multimodal nanoparticle. *Circ Res* 2005; 96 (3): 327–36.
9. Kietselaer BL, Reutelingsperger CP, Heidendal GA et al. Noninvasive detection of plaque instability with use of radiolabeled annexin A5 in patients with carotid-artery atherosclerosis. *N Engl J Med* 2004; 350 (14): 1472–3.
10. Winter PM, Morawski AM, Caruthers SD et al. Molecular imaging of angiogenesis in early-stage atherosclerosis with alpha(v)beta3-integrin-targeted nanoparticles. *Circulation* 2003; 108 (18): 2270–4.
11. Matter CM, Schuler PK, Alessi P et al. Molecular imaging of atherosclerotic plaques using a human antibody against the extracellular domain B of fibronectin. *Circ Res* 2004; 95 (12): 1225–33.
12. Hofstra L, Liem IH, Dumont EA et al. Visualisation of cell death in vivo in patients with acute myocardial infarction. *Lancet* 2000; 356 (9225): 209–12.
13. Narula J, Acio ER, Narula N et al. Annexin-V imaging for noninvasive detection of cardiac allograft rejection. *Nat Med* 2001; 7 (12): 1347–52.
14. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420 (6917): 868–74.
15. Weissleder R, Tung CH, Mahmood U et al. In vivo imaging of tumors with protease-activated near-infrared fluorescent probes. *Nat Biotechnol* 1999; 17 (4): 375–8.
16. Tung CH, Mahmood U, Bredow S et al. In vivo imaging of proteolytic enzyme activity using a novel molecular reporter. *Cancer Res* 2000; 60 (17): 4953–8.
17. Bremer C, Tung CH, Weissleder R. In vivo molecular target assessment of matrix metalloproteinase inhibition. *Nat Med* 2001; 7 (6): 743–8.
18. Ohshima S, Petrov A, Fujimoto S et al. Molecular imaging of matrix metalloproteinase expression in atherosclerotic plaques of mice deficient in apolipoprotein e or low-density-lipoprotein receptor. *J Nucl Med* 2009; 50 (4): 612–7.
19. Jaffer FA, Tung CH, Gerszten RE et al. In vivo imaging of thrombin activity in experimental thrombi with thrombin-sensitive near-infrared molecular probe. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22 (11): 1929–35.
20. Ntzalachristos V, Bremer C, Weissleder R. Fluorescence imaging with near-infrared light: new technological advances that enable in vivo molecular imaging. *Eur Radiol* 2003; 13 (1): 195–208.
21. Залесский В.Н., Дынный О.Б. Молекулярная визуализация в медицине: проблемы и перспективы. *Украин. мед. журн.* 2005; 2 (46): 76–83.
22. Tsai IC, Lee WL, Tsao CR et al. Comprehensive evaluation of ischemic heart disease using MDCT. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 191 (1): 64–72.
23. Nagao M, Matsuoka H, Kawakami H et al. Detection of myocardial ischemia using 64-slice MDCT. *Circ J* 2009; 73 (5): 905–11.
24. Bastarrika G, Ramos-Duran L, Rosenblum MA et al. Adenosine-stress dynamic myocardial CT perfusion imaging: initial clinical experience. *Invest Radiol* 2010; 45 (6): 306–13.
25. Nagel E, Lima JA, George RT et al. Newer methods for noninvasive assessment of myocardial perfusion: cardiac magnetic resonance or cardiac computed tomography? *JACC Cardiovasc Imaging* 2009; 2 (5): 656–60.
26. Blankstein R, Rogers IS, Cury RC. Practical tips and tricks in cardiovascular computed tomography: diagnosis of myocardial infarction. *J Cardiovasc Comput Tomogr* 2009; 3 (2): 104–11.
27. Blankstein R, Shturman LD, Rogers IS et al. Adenosine-induced stress myocardial perfusion imaging using dual-source cardiac computed tomography. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54 (12): 1072–84.
28. George RT, Arbab-Zadeh A, Miller JM et al. Adenosine stress 64- and 256-row detector computed tomography angiography and perfusion imaging: a pilot study evaluating the transmural extent of perfusion abnormalities to predict atherosclerosis causing myocardial ischemia. *Circ Cardiovasc Imaging* 2009; 2 (3): 174–82.
29. Achenbach S. Stress computed tomography myocardial perfusion: steps, questions, and layers. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54 (12): 1085–7.
30. le Polain de Waroux JB, Pouleur AC, Goffinet C et al. Combined coronary and late-enhanced multidetector-computed tomography for delineation of the etiology of left ventricular dysfunction: comparison with coronary angiography and contrast-enhanced cardiac magnetic resonance imaging. *Eur Heart J* 2008; 29 (20): 2544–51. PMID: 2567022.
31. Schuleri KH, George RT, Lardo AC. Applications of cardiac multidetector CT beyond coronary angiography. *Nat Rev Cardiol* 2009; 6 (11): 699–710.
32. Berman DS, Hachamovitch R, Shaw IJ et al. Roles of nuclear cardiology, cardiac computed tomography, and cardiac magnetic resonance: assessment of patients with suspected coronary artery disease. *J Nucl Med* 2006; 47 (1): 74–82.
33. Blankstein R, Di Carli MF. Integration of coronary anatomy and myocardial perfusion imaging. *Nat Rev Cardiol* 2010; 7 (4): 226–36.
34. Балахоннова ТВ, Гаман СА, Синицын ВЕ. и др. Атеросклеротические изменения сонных артерий у больных ишемической болезнью сердца. *Визуализация в клинике.* 2003; 21: 8–12.
35. Knight LC. Scintigraphic methods for detecting vascular thrombus. *J Nucl Med* 1993; 34 (3 Suppl): 554–61.
36. Беленков Ю.Н., Терновой С.К., Синицын В.Е. Магнитно-резонансная томография сердца и сосудов. Новые методы визуализации в медицине. М.: ТОО "Видар", 1997.
37. Kim WY, Danias PG, Stuber M et al. Coronary magnetic resonance angiography for the detection of coronary stenoses. *N Engl J Med* 2001; 345 (26): 1863–9.
38. Терновой С.К., Синицын В.Е., Гагарина Н.В. Неинвазивная диагностика атеросклероза и кальциноза коронарных артерий. Москва, 2003.
39. Kooi ME, Cappendijk VC, Cleutjens KB et al. Accumulation of ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide in human atherosclerotic plaques can be detected by in vivo magnetic resonance imaging. *Circulation* 2003; 107 (19): 2453–8.
40. Trivedi RA, JM UK-I, Graves MJ et al. In vivo detection of macrophages in human carotid atheroma: temporal dependence of ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide-enhanced MRI. *Stroke* 2004; 35 (7): 1631–5.
41. Kim RJ, Fieno DS, Parrish TB et al. Relationship of MRI delayed contrast enhancement to irreversible injury, infarct age, and contractile function. *Circulation* 1999; 100 (19): 1992–2002.
42. McCrohon JA, Moon JC, Prasad SK et al. Differentiation of heart failure related to dilated cardiomyopathy and coronary artery disease using gadolinium-enhanced cardiovascular magnetic resonance. *Circulation* 2003; 108 (1): 54–9.
43. Bettencourt N, Chiribiri A, Schuster A et al. Assessment of myocardial ischemia and viability using cardiac magnetic resonance. *Curr Heart Fail Rep* 2009; 6 (3): 142–53.
44. Isbida M, Kato S, Sakuma H. Cardiac MRI in ischemic heart disease. *Circ J* 2009; 73 (9): 1577–88.
45. Nandalur KR, Dwamena BA, Choudhri AF et al. Diagnostic performance of stress cardiac magnetic resonance imaging in the detection of coronary artery disease: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50 (14): 1343–53.
46. Schwitler J, Wacker CM, van Rossum AC et al. MR-IMPACT: comparison of perfusion-cardiac magnetic resonance with single-photon emission computed tomography for the detection of coronary artery disease in a multicentre, multivendor, randomized trial. *Eur Heart J* 2008; 29 (4): 480–9.
47. Gerber BL, Raman SV, Nayak K et al. Myocardial first-pass perfusion cardiovascular magnetic resonance: history, theory, and current state of the art. *J Cardiovasc Magn Reson* 2008; 10: 18. PMID: 2387155.

48. Berman DS, Hachamovitch R. Risk assessment in patients with stable coronary artery disease: incremental value of nuclear imaging. *J Nucl Cardiol* 1996; 3 (6 Pt 2): S41–9.
49. Hachamovitch R, Di Carli MF. Methods and limitations of assessing new noninvasive tests: Part II: Outcomes-based validation and reliability assessment of noninvasive testing. *Circulation* 2008; 117 (21): 2793–801.
50. Hachamovitch R, Hayes SW, Friedman JD et al. A prognostic score for prediction of cardiac mortality risk after adenosine stress myocardial perfusion scintigraphy. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45 (5): 722–9.
51. Сергиенко В.В., Щербаткин Д.Д., Борисенко А.П. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография с  $^{201}\text{Tl}$  в диагностике ишемической болезни сердца. *Тер. арх.* 1985; 4: 95–9.
52. Рыжкова Д.В., Нифонтов Е.М., Тютин Л.А. Позитронная эмиссионная томография как метод неинвазивной оценки миокардиального кровотока и коронарного резерва у пациентов с сердечно-сосудистой патологией. *Артериал. гипертензия.* 2006; 3: 200–11.
53. Verani MS. Thallium-201 single-photon emission computed tomography (SPECT) in the assessment of coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1992; 70 (14): 3E–9E.
54. Сергиенко В.В., Саютина Е.В., Самойленко Л.Е. и др. Роль дисфункции эндотелия в развитии ишемии миокарда у больных ишемической болезнью сердца с неизменными и малоизменными коронарными артериями. *Кардиология.* 1999; 39 (1): 25–30.
55. Сергиенко В.В., Пашиа С.П., Ахмеджанов Н.И. Увеличение захвата таллия-201 при пробе с дитиридамолом у больных со стенокардией при неизмененных коронарограммах. *Мед. радиол.* 1990; 9: 10–4.
56. Matsunari I, Taki J, Nakajima K et al. Myocardial viability assessment using nuclear imaging. *Ann Nucl Med* 2003; 17 (3): 169–79.
57. Klocke FJ, Baird MG, Lorell BH et al. ACC/AHA/ASNC guidelines for the clinical use of cardiac radionuclide imaging—executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/ASNC Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Clinical Use of Cardiac Radionuclide Imaging). *J Am Coll Cardiol* 2003; 42 (7): 1318–33.
58. Hachamovitch R, Hayes SW, Friedman JD et al. Comparison of the short-term survival benefit associated with revascularization compared with medical therapy in patients with no prior coronary artery disease undergoing stress myocardial perfusion single photon emission computed tomography. *Circulation* 2003; 107 (23): 2900–7.
59. Shaw LJ, Hachamovitch R, Berman DS et al. The economic consequences of available diagnostic and prognostic strategies for the evaluation of stable angina patients: an observational assessment of the value of precatheterization ischemia. *Economics of Noninvasive Diagnosis (END) Multicenter Study Group.* *J Am Coll Cardiol* 1999; 33 (3): 661–9.
60. Berman DS, Kang X, Slomka PJ et al. Underestimation of extent of ischemia by gated SPECT myocardial perfusion imaging in patients with left main coronary artery disease. *J Nucl Cardiol* 2007; 14 (4): 521–8.
61. Bengel FM, Higuchi T, Javadi MS et al. Cardiac positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54 (1): 1–15.
62. Knesaurek K, Machac J, Крнукыи BR et al. Comparison of 2-dimensional and 3-dimensional  $^{82}\text{Rb}$  myocardial perfusion PET imaging. *J Nucl Med* 2003; 44 (8): 1350–6.
63. Einstein AJ, Moser KW, Thompson RC et al. Radiation dose to patients from cardiac diagnostic imaging. *Circulation* 2007; 116 (11): 1290–305.
64. Di Carli MF, Dorbala S, Meserve J et al. Clinical myocardial perfusion PET/CT. *J Nucl Med* 2007; 48 (5): 783–93.
65. Dorbala S, Hachamovitch R, Curillova Z et al. Incremental prognostic value of gated Rb-82 positron emission tomography myocardial perfusion imaging over clinical variables and rest LVEF. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2009; 2 (7): 846–54.
66. Marwick TH, Sban K, Patel S et al. Incremental value of rubidium-82 positron emission tomography for prognostic assessment of known or suspected coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1997; 80 (7): 865–70.
67. Yoshinaga K, Chow BJ, Williams K et al. What is the prognostic value of myocardial perfusion imaging using rubidium-82 positron emission tomography? *J Am Coll Cardiol* 2006; 48 (5): 1029–39.
68. Dorbala S, Vangala D, Sampson U et al. Value of vasodilator left ventricular ejection fraction reserve in evaluating the magnitude of myocardium at risk and the extent of angiographic coronary artery disease: a  $^{82}\text{Rb}$  PET/CT study. *J Nucl Med.* 2007; 48 (3): 349–58.
69. Massoud TF, Gambhir SS. Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light. *Genes Dev* 2003; 17 (5): 545–80.
70. Knaapen P, de Haan S, Hoekstra OS et al. Cardiac PET-CT: advanced hybrid imaging for the detection of coronary artery disease. *Neth Heart J* 2010; 18 (2): 90–98. PMID: 2828569.
71. Rudd JH, Warburton EA, Fryer TD et al. Imaging atherosclerotic plaque inflammation with [ $^{18}\text{F}$ ] fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Circulation* 2002; 105 (23): 2708–11.
72. Nabrendorf M, Zhang H, Hembrador S et al. Nanoparticle PET-CT imaging of macrophages in inflammatory atherosclerosis. *Circulation* 2008; 117 (3): 379–87. PMID: 2663426.
73. Di Carli MF, Dorbala S, Curillova Z et al. Relationship between CT coronary angiography and stress perfusion imaging in patients with suspected ischemic heart disease assessed by integrated PET-CT imaging. *J Nucl Cardiol* 2007; 14 (6): 799–809.
74. Gaemperli O, Schepis T, Valenta I et al. Functionally relevant coronary artery disease: comparison of 64-section CT angiography with myocardial perfusion SPECT. *Radiology* 2008; 248 (2): 414–23.
75. Hacker M, Jakobs T, Hack N et al. Sixty-four slice spiral CT angiography does not predict the functional relevance of coronary artery stenoses in patients with stable angina. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007; 34 (1): 4–10.
76. Hacker M, Jakobs T, Matthiesen F et al. Comparison of spiral multidetector CT angiography and myocardial perfusion imaging in the noninvasive detection of functionally relevant coronary artery lesions: first clinical experiences. *J Nucl Med* 2005; 46 (8): 1294–300.
77. Rispler S, Keidar Z, Gbersin E et al. Integrated single-photon emission computed tomography and computed tomography coronary angiography for the assessment of hemodynamically significant coronary artery lesions. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49 (10): 1059–67.
78. Schuijf JD, Wijns W, Jukema JW et al. Relationship between noninvasive coronary angiography with multi-slice computed tomography and myocardial perfusion imaging. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48 (12): 2508–14.
79. Энциклопедический словарь медицинских терминов (под ред. В.И.Покровского). М., 2005.

\* —————

А.В.Максименко

# Хиральность кардиологических препаратов: миф или реальность

Институт экспериментальной кардиологии, Москва

## Аннотация

Оптически активные стереоизомеры оказались действенным ресурсом для разработки новых лекарственных средств. При этом S- и R-энантиомеры рацематов могут быть по фармакологической активности антагонистами, дополнять действие друг друга или один из энантиомеров может быть изомерическим балластом, порой ведущим к побочным реакциям. Отмечено продвижение в кардиологическую практику хирально чистых препаратов антигипертензивного действия: левовращающих S-амлодипина и S-атенолола, превосходящих по эффективности и безопасности применение рацематов. Существует тенденция к интенсивному изучению новых препаратов как S-(-)-, так и R-(+)-энантиомеров и перспектива их биомедицинского и клинического сравнения, способствующая активной разработке ранее неизвестных стереоизомерных лечебных средств и новых курсов терапии на основе хиральной переориентации некоторых лекарств.

**Ключевые слова:** хиральность, зеркальные изомеры, энантиомеры, рацемат, S-амлодипин, S-атенолол, артериальная гипертония.

A.V. Maksimenko

**Cardio meds chirality: myth or reality**  
Institute of Experimental Cardiology, Moscow

## Annotation

Optically active stereoisomers become effective resource for development of novel remedies. S- and R-enantiomers of racemates may be according to their pharmacological activity as antagonists, mutual additional agents or one of enantiomers is isomeric ballast connected sometimes with side reactions. There is the promotion to cardiovascular practice the chirally pure preparations of antihypertensive action: left-rotating (as left-handed) S-amlodipine, S-atenolol, S-metoprolol possessing more efficacy and safety as compared to that of racemates. The review of obtained results shows the trend of involvement of S-(-)- and R-(+)-enantiomers in development of new preparations and perspective of biomedical and clinical comparison of enantiomers contributing the appearance novel stereoisomeric drugs, new cure and chiral switch of a some remedies.

**Keywords:** chirality, mirror isomers, enantiomers, racemates, S-amlodipine, S-atenolol, S-metoprolol, arterial hypertension.

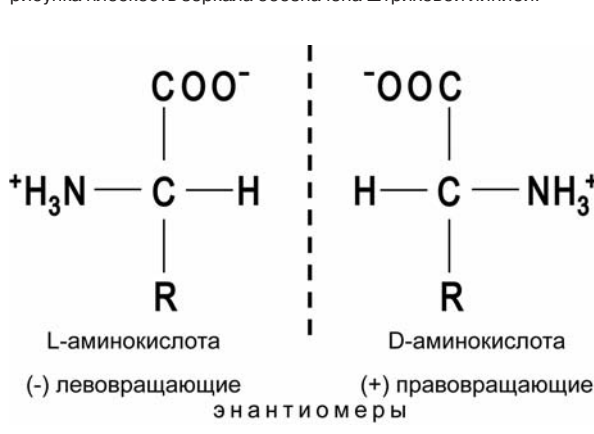
## Сведения об авторе:

Максименко Александр Васильевич – д-р биол. наук, проф., рук. лаб. биохимической инженерии, тел.: 414-60-25 (alexmak@cardio.ru)

В рамках Всероссийской научно-практической конференции «Новые возможности в диагностике, лечении и снижении смертности от сердечно-сосудистых заболеваний» и ежегодной сессии РКНПК, проводившихся 2–4 июня 2010 года, под эгидой фармацевтической компании «Актавис» состоялся симпозиум «Левовращающий переворот в кардиологии». Внимание было привлечено к опыту успешного применения препаратов антигипертензивного действия, используемых в хирально чистом виде, т.е. в форме левовращающих энантиомеров соответствующих соединений. Броское название симпозиума способствовало его активному проведению и заинтересованному вниманию кардиологов.

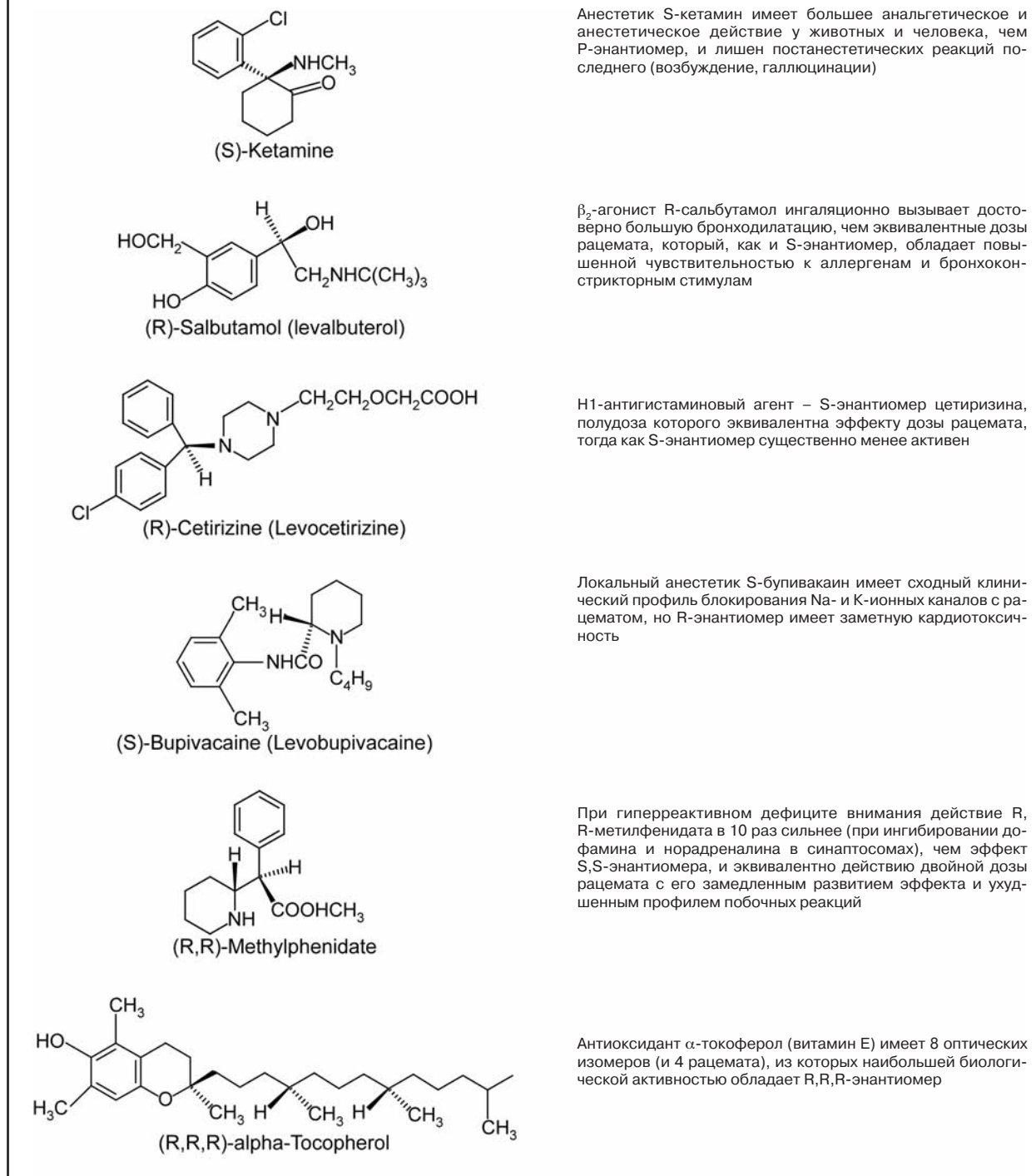
Изомерами органических веществ являются соединения, имеющие одинаковые молекулярные формулы, но отличающиеся порядком соединения атомов в молекуле или их расположением в пространстве. Это означает наличие двух основных типов изомерии: пространственной и структурной. Пространственная изомерия – это существование соединений с одинаковыми молеку-

Рис. 1. Зеркальное отражение оптически активных стереоизомеров L-(-)- (левовращающих) и D-(+)- (правовращающих) α-аминокислот. Перпендикулярная поверхности рисунка плоскость зеркала обозначена штриховой линией.



лярными формулами, одинаковой последовательностью соединения атомов в молекуле, но с различным положением атомов в пространстве (сте-

Рис. 2. Структурные формулы энантиомеров лекарственных соединений и преимущественные эффекты их физиологической активности в сравнении с рацемическим составом.

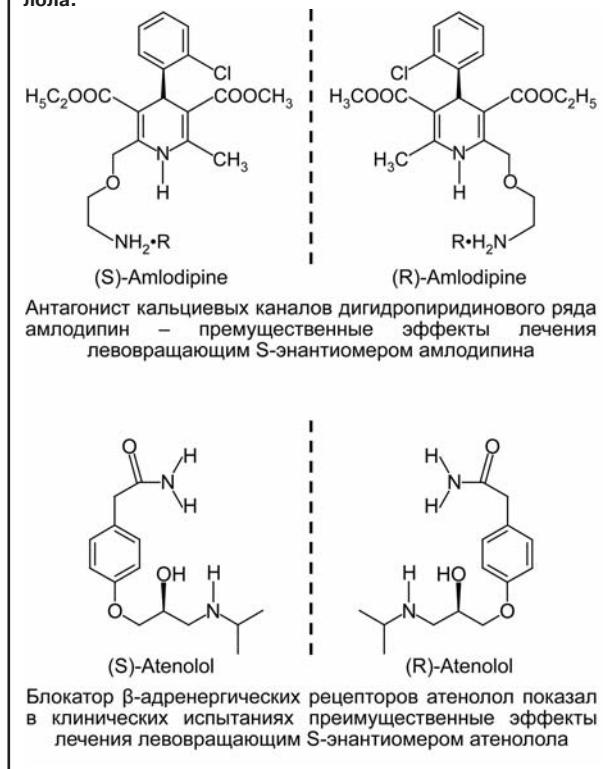


реоизомеры). Пространственная изомерия подразделяется в свою очередь на конформационную и конфигурационную, последняя может быть геометрической и оптической. Оптическая изомерия проявляется свойством стереоизомеров (энантиомеры) вращать плоскость поляризации света. Оптическая активность присуща зеркальным изомерам – соединениям, молекулярная структура которых является зеркальным отображением друг друга, причем представленный объект несовместим со своим зеркальным изображением (рис. 1). Таким образом, молекулы этих веществ не имеют центра или плоскости симметрии. Отмеченное качество называется хиральностью и обусловлено наличием в молекулярной

структуре энантиомеров хирального центра. Часто в его роли выступает  $sp^3$ -гибридизированный атом углерода, связанный с четырьмя разными группами (такой атом углерода именуют асимметричным). Асимметричными могут быть и другие атомы (азота, серы, фосфора и др.). Асимметричный углерод имеется у всех  $\alpha$ -аминокислот (за исключением глицина), которые подразделяются на L- и D-формы. Горькие на вкус L-аминокислоты образуют полипептидную цепь белка (потому называются протеиногенными) и вращают плоскость поляризованного луча света против часовой стрелки, т.е. являются левовращающими (L-(-)-энантиомеры). Правовращающие (по часовой стрелке) D-(+)-энантиомеры аминокислот



**Рис. 3. Энантиомеры в кардиологии: хирально чистые молекулы антигипертензивных средств амлодипина и атенолола.**



кислот, сладкие на вкус, встречаются в оболочках бактерий и структурах антибиотиков, например, в грамицидине S. Сахара в структурах ДНК и РНК являются правовращающими в отличие от левовращающих протеиногенных аминокислот. Имея различную конфигурацию, энантиомеры обладают одинаковыми физическими и химическими свойствами, вращая плоскость поляризации света в разные стороны, по-разному взаимодействуя с другими хиральными соединениями и различаясь по физиологическому действию. Эквимолекулярную смесь энантиомеров называют рацемической, или рацематом.

В качестве лекарственных агентов рацематы часто используются в клинике. Опыт их применения обнаружил хироселективность человеческого организма, поскольку отмечены его разные или варьируемые ответы на разные энантиомеры. С начала 80-х годов прошлого века обсуждались вопросы безопасности медицинского применения рацематов. Изучение отдельных энантиомеров выявило их потенциальные преимущества перед рацематами [1]: упрощенный фармакокинетический профиль, возможность улучшения терапевтического индекса, селективный и менее сложный профиль фармакодинамики, блокирование возможностей для сложных лекарственных взаимодействий, простое соотношение между концентрацией энантиомера в крови и его эффектом. Нобелевская премия по химии 2001 г. (W.Noles, R.Noyori, V.Charpless) была присуждена за открытие технологических способов разделения рацемических смесей. Это способствовало ускорению развития «хирального» направления в клинической медицине.

В фармакологическом сравнении энантиомеров с рацематами и друг с другом был определен ряд конкретных различий, некоторые из которых

представлены на рис. 2. В ходе исследований обнаружена клиническая ценность энантиомеров не только с одним, но и двумя (R,R-метилфенидат) и более (R,R,R-α-токоферол) хиральными центрами. Обозначения R и S по классификации Кана–Ингольда–Прелога соответствуют абсолютной конфигурации энантиомера, определяемой по направлению (S – против или R – по часовой стрелке) уменьшения старшинства заместителей у хирального центра, когда молекулярная структура ориентирована так, чтобы младший заместитель находился дальше всех от наблюдателя.

Как видно на рис. 2 эффективными лечебными средствами зарекомендовали себя S- и R-энантиомеры. Это подчеркивает важность их селективного применения и с учетом разнообразия их эффектов. Энантиомеры могут дополнять полезные эффекты друг друга, быть антагонистами, представлять собой изомерический балласт (порой с неблагоприятным побочным действием).

Исследовательский путь доказательств преимущественного использования в терапии энантиомеров не был гладким [1]. Клинические испытания β-блокатора R,R-дилевалола в комбинации с α- и β-блокатором лабеталолом были остановлены из-за высокой гепатотоксичности этого сочетания. Изучение антиаритмической активности (+)-энантиомера соталола у пациентов с желудочковой дисфункцией после инфаркта миокарда (в клиническом исследовании SWORD) было досрочно прекращено из-за повышенной смертности в группе получавших этот препарат по сравнению со смертностью в группе получавших плацебо. Высокие дозы R-флуоксетина вызывали небольшое, но достоверное удлинение интервала Q–Tc, заставившее прекратить разработку этого энантиомера. Эти результаты предостерегают от поспешности универсальных заключений по преимущественному клиническому использованию хирально чистых молекул и подчеркивают основанную необходимость осторожных и осмотрительных подходов к клиническому изучению энантиомеров [1].

И такие исследования стали интенсивно проводить, обеспечив акцентированное внимание к фармакологической оценке эффективности хирально чистых молекул. Многообещающие результаты были получены при изучении средств антигипертензивного действия в виде левовращающих энантиомеров (рис. 3). Установлено, что блокатор кальциевых каналов дигидропиридинового ряда амлодипин в форме S-энантиомера эффективен и безопасен для лечения артериальной гипертонии и не дает побочных эффектов [2–4]. Как блокатор кальциевых каналов S-амлодипин был на три порядка активнее, чем его R-энантиомер, который, вероятно, вовлечен в механизм развития отеков нижних конечностей в результате потери рефлекса прекапиллярной вазоконстрикции [5, 6]. При лечении мягкой и умеренной АГ полудоза (2,5 мг) S-амлодипина по эффективности действия и переносимости была эквивалентна дозе (5 мг) обычно применяемого амлодипина (рацемата R-(+)- и S-(-)-энантиомеров амлодипина). Появление на фармацевтическом рынке S-(-)-амлодипина, зарегистрированного в России как ЭсКорди Кор (фирма «Актавис»), вероятно, позволит врачам на практике оценить преимущества его монотерапевтического применения.

В клинических испытаниях селективного блокатора  $\beta_1$ -адренергических рецепторов атенолола установлено, что его S(-)-энантиомер блокирует названные рецепторы без участия с его стороны R(+)-атенолола (см. рис. 3), присутствие которого в рацемате может вызывать побочные эффекты [7, 8]. S(-)-атенолол оказался эффективным и хорошо переносимым препаратом для лечения АГ, в том числе с сопутствующей стенокардией, и представляет действенную альтернативу применению рацемических препаратов атенолола. Найденные доказательства преимуществ антигипертензивных средств энантиомерного вида не снимают задачу их дальнейшего изучения, особенно при сравнении с комбинированными воздействиями [9]. Таким образом, вхождение стереоизомеров лекарственных веществ в клиническую практику связано не только с их осмотрическим продвижением к рутинному монотерапевтическому применению, но и с будущими этапами исследования их пригодности для коррекции сочетанных патологий и взаимодействия с другими лекарственными агентами. Предложение к клиническому использованию  $\beta$ -блокатора S-метопролола и статина S-аторвастатина только подчеркивает необходимость таких исследований [10–12].

В РКНПК ведется биомедицинское изучение левовращающих пептидных производных: в качестве потенциальных кардиопротекторов при хронической сердечной недостаточности выступает апеллин (О.И.Писаренко, персональное сообщение, 2010), нейропептид FF (норглитон), отличающийся быстродействием в виде подъема артериального давления, что актуально при массивных кровопотерях, готовится к первой фазе клинических испытаний (В.И.Капелько, персональное сообщение, 2010), осуществляется исследовательский поиск пептидных производных противоотечного действия (В.П.Ширинский, персональное сообщение, 2010). Появление в будущем результатов этих исследований расширяет арсенал оптически активных производных кардиологического профиля.

Развитие хиральных технологий открыло новые горизонты в фармацевтической индустрии [2–4]. Обзор появившихся данных выявил тенденцию к разделению рацемических смесей или стереоселективного получения энантиомеров для разработки лекарственных средств с более четким фармакологическим профилем, повышенной эффективностью и безопасностью применения [1, 5–8]. Объектами фармакологических раз-

работок предстают как S-, так и R-энантиомеры лекарственных соединений, что снижает полемикаческий пафос «левоповорота в кардиологии». В конечном итоге усилия разработчиков направлены на выявление энантиомеров с достоверными лечебными преимуществами и выпуске на их основе более эффективных и безопасных лекарственных препаратов. В перспективе необходимо проведение биомедицинского и клинического сравнения действия как рацематов с энантиомерами, так и последних друг с другом. Указанный подход обещает не только получение оригинальных препаратов, но и создание новых подходов к их применению. Это составляет важный ресурс дальнейшего продвижения хироселективных препаратов в терапевтическую, в том числе кардиологическую практику.

#### Литература

- Hutt AJ, Valentova J. The chiral switch: the development of single enantiomer drugs from racemates. *Acta Facult Pharm Univ Comeniana* 2003; 50: 7–23.
- SESA study group, India. Safety and efficacy of S-amlodipine. *JAMA-India* 2003; 2(8): 87–92.
- MICRO-SESA-I. Safety and efficacy of S-amlodipine in the treatment of isolated systolic hypertension. *Indian Med Gazette* 2005; CXXXIX (6): 243–50.
- MICRO-SESA-II. Safety and efficacy of S-amlodipine. *Indian Med Gazette* 2005; CXXXIX (8): 353–8.
- Weir MR. Incidence of pedal edema formation with dihydropyridine calcium channel blockers: issues and practical significance. *J Clin Hypertens* 2003; 5 (5): 330–5.
- Blankfield RP. Fluid matter in choosing antihypertensive therapy: a hypothesis that the data speak volumes. *J Am Board Fam Pract* 2005; 18(2): 113–24.
- Patbiak L. Randomized, double-blind, parallel-group, multicentric clinical trial of S-atenolol 25 mg versus racemic atenolol 50 mg in stage 1 and 2 hypertension. *JAMA-India* 2004; 3 (1): 71–5.
- Mebvar R, Brocks DR. Stereospecific pharmacokinetics and pharmacodynamics of beta-adrenergic blockers in humans. *J Pharm Pharmacol* 2001; 4 (2): 185–200.
- Чазова И.Е., Ратова Л.Г. Гипертоническая болезнь: от АЛМясникова до наших дней. *Кардиол. вестн.* 2010; V (XVII), № 1: 5–10.
- SMART trial (S-metoprolol assessment in hypertension trial. The SMART trial study group). *Cardiol Today* 2005; 9: 1–8.
- Patil PA, Kotbekar MA. Development of safer molecules through chirality. *Indian J Med Assoc* 2006; 60: 427–37.
- Kob KK, Quon MJ, Han SH et al. Atorvastatin causes insulin resistance and increases ambient glycemia in hypercholesterolemic patients. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55 (12): 1209–16.

— \* —

О.О.Шахматова<sup>1</sup>, Ю.Ю.Курбатова<sup>2</sup>, Т.В.Попкова<sup>3</sup>, Д.С.Новикова<sup>3</sup>,  
П.С.Лагута<sup>1</sup>, И.В.Левицкий<sup>1</sup>, Е.П.Панченко<sup>1</sup>, Ю.А.Карпов<sup>1</sup>

## Клинический случай: инфаркт миокарда у пациентки 32 лет, страдающей дерматомиозитом

<sup>1</sup>Институт клинической кардиологии ФГУ РКНПК Росмедтехнологий;

<sup>2</sup>лаборатория клинической кардиологии НИИ ФХМ ФМБА;

<sup>3</sup>Институт ревматологии РАМН, Москва

O.O. Shakhmatova<sup>1</sup>, Yu.Yu. Kurbatova<sup>2</sup>, T.V. Popkova<sup>3</sup>, D.S. Novikova<sup>3</sup>, P.S. Laguta<sup>1</sup>,  
I.V. Levitsky<sup>1</sup>, E.P. Panchenko<sup>1</sup>, Yu.A. Karpov<sup>1</sup>

### Clinical case:

#### Myocardial infarction in a 32-year-old female patient with dermatomyositis

<sup>1</sup>Institute of Clinical Cardiology, Russian Cardiology Research-and-Production Complex,  
Russian Agency for Medical Technologies;

<sup>2</sup>Laboratory of Clinical Cardiology, Research Institute of Physicochemical Medicine, Federal Biomedical Agency;

<sup>3</sup>Institute of Rheumatology, Russian Academy of Medical Sciences

### Сведения об авторах:

Шахматова О.О. – аспирант лаб. клинических проблем атеротромбоза отдела ангиологии РКНПК

Курбатова Ю.Ю. – ординатор лаб. клинической кардиологии НИИ ФХМ ФМБА

Попкова Т.В. – д-р медн. наук, ст. научный сотр. лаб. системных ревматических заболеваний Института ревматологии РАМН

Новикова Д.С. – канд. мед. наук, Института ревматологии РАМН

Лагута П.С. – канд. мед. наук, ст. научный сотр. лаб. клинических проблем атеротромбоза отдела ангиологии РКНПК

Левицкий И.В. – канд. мед. наук, ст. научный сотр. отдела эндоваскулярных методов лечения РКНПК

Панченко Е.П. – д-р мед. наук, проф., рук. лаб. клинических проблем атеротромбоза отдела ангиологии РКНПК

Карпов Ю.А. – д-р мед. наук, проф., рук. отд. ангиологии РКНПК, директор Института клинической кардиологии РКНПК, тел.: (495)414-68-46

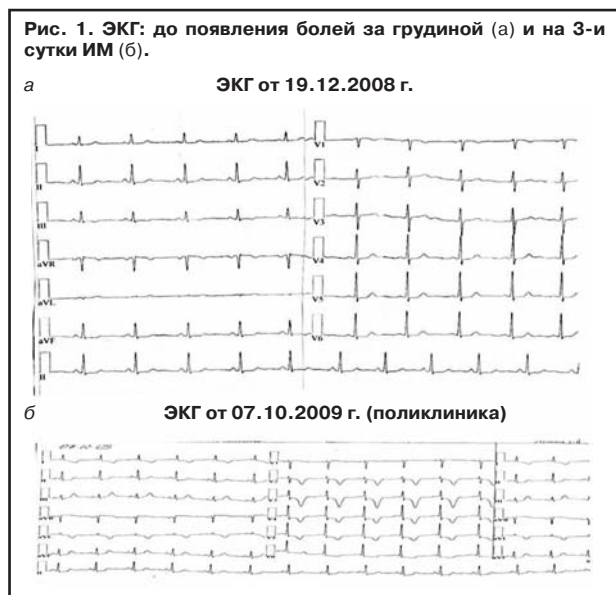
**И**шемическая болезнь сердца (ИБС) у женщин детородного возраста – ситуация редкая. Априорная вероятность наличия этой патологии даже при типичных клинических признаках стенокардии у женщин 30–39 лет не превышает 26% [1]. По данным регистра Oxford-Family Planning Association, включавшего 17 тыс. наблюдений, суммарная частота возникновения стенокардии и инфаркта миокарда (ИМ) у женщин в возрасте 25–34 лет не превышает 3 случаев на 1000 [2]. По-видимому, именно низкая вероятность возникновения ИМ и обуславливает несвоевременную диагностику и тактические ошибки при ведении молодых женщин с острым коронарным синдромом. Особенностью этих пациентов является также и то, что в патогенезе ИБС у них зачастую играют роль «неклассические» факторы риска, что требует индивидуального подхода к таким больным.

В качестве примера, иллюстрирующего подобную клиническую ситуацию, представляем историю болезни пациентки Е. 32 лет.

В октябре 2009 г. у нее впервые в жизни возникли боли и жжение за грудиной, а также в горле в состоянии покоя. Больная обратилась в поликлинику по месту жительства, заболевание расценили как фаринготрахеит. Ей рекомендовали полоскание горла растворами антисептиков. Приступы жжения за грудиной длительностью до 1 ч возникали в течение последующих 2 дней несколько

раз. Пациентка обратилась в поликлинику повторно и только тогда была зарегистрирована электрокардиограмма (ЭКГ), на которой были выявлены признаки ИМ передней локализации без образования патологического зубца Q (рис. 1).

Больная была госпитализирована в блок интенсивной терапии ГКБ №29 г. Москвы. При поступлении активность КФК составила 376 ЕД/л, КФК МВ – 32 ЕД/л. В стационаре по данным эхокардиографии (ЭхоКГ) была выявлена обширная гипокинезия передней стенки левого желудочка (ЛЖ). Проведено лечение гепарином, аспирином, β-блокаторами, ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента, статинами. Учитывая относительно высокий уровень в крови общего холестерина (ХС) – 7 ммоль/л, стартовую дозу аторвастатина назначили 20 мг/сут. В период госпитализации отмечено повышение уровня артериального давления (АД) до 140/100 мм рт. ст. Артериальная гипертензия (АГ) была зарегистрирована у пациентки впервые. На фоне проводимого лечения и ограничения двигательного режима в стационаре ангинозные боли не возникали. Перед выпиской (на 15-е сутки ИМ) была выполнена проба с дозированной физической нагрузкой (тредмилл-тест, протокол Bruce). На 4-й степени нагрузки (13-я минута) возник ангинозный приступ, сопровождавшийся ишемической динамикой на ЭКГ в виде снижения сегмента ST до 2 мм в отведениях II, III, aVF, подъе-



мом сегмента *ST* максимально до 3 мм в отведениях *aVL*,  $V_1$ - $V_6$  (рис. 2). Отмечено также снижение АД до 85/45 мм рт. ст. (на предыдущей ступени нагрузки – 130/80 мм рт. ст.). ЭКГ вернулась к исходной картине через 6 мин. Учитывая положительный результат пробы с физической нагрузкой, пациентке было рекомендовано проведение коронароангиографии (КАГ).

Больная росла и развивалась нормально. Перенесла ряд детских инфекций (корь, краснуха). Получила среднее специальное образование. Возраст наступления менархе – 14 лет. В 25 лет у пациентки была беременность, которая протекала без осложнений и закончилась нормальными родами. В настоящее время менструальная функция сохранена. Семейный анамнез по сердечно-сосудистой патологии отягощен: отец дважды перенес ишемический инсульт в возрасте до 50 лет.

У пациентки в анамнезе имелся ряд особенностей, немаловажных для понимания патогенеза заболевания. Летом 2004 г. в возрасте 27 лет у нее манифестировал дерматомиозит. Первыми его проявлениями стало поражение проксимальных мышц верхних и нижних конечностей, мышц шеи, спины, а также вовлечение глоточных мышц с затруднением глотания. Учитывая некоторое повышение уровня паратгормона в тот момент, состояние было расценено как следствие гиперпаратиреоза. Несколькими месяцами позже появились кожные проявления заболевания в виде гелиотропной сыпи на лице, эритемы Готрона, синдрома Рейно и сетчатого ливеда, что позволило верифицировать диагноз дерматомиозита.

В декабре 2004 г. пациентку госпитализировали в Институт ревматологии. При обследовании были выявлены признаки бурно протекающего воспалительного процесса в мышцах с распадом мышечных волокон, подтвержденным данными иглобиопсии и высоким уровнем ферментемии (активность КФК при поступлении достигала 8300 ЕД/л). Было также выявлено повышение титров антител к двухцепочечной ДНК, антинуклеарного фактора, антител к антигену Scl-70 (ядерная топоизомераза), а также антикардиолипидных антител IgG и IgM. В биохимическом анализе крови отмечено повышение уровня ХС

до 6,7 ммоль/л. Было начато лечение преднизолоном в суточной дозе 70 мг/сут, после чего самочувствие пациентки значительно улучшилось с постепенным уменьшением выраженности описанной клинической симптоматики. Отмечено снижение активности КФК до 2630 ЕД/л. Однако к концу времени госпитализации в Институте ревматологии на фоне приема глюкокортикоидов (ГКС) было отмечено повышение уровня общего ХС в крови до 8,2 ммоль/л. В течение нескольких недель суточная доза преднизолона была снижена до 5 мг.

Несмотря на прием относительно небольшой поддерживающей дозы преднизолона, через 1,5 года у пациентки развилась двусторонняя стероидная катаракта, потребовавшая экстракции обоих хрусталиков с имплантацией искусственных интраокулярных линз.

Спустя 3 года (в 2007 г.) пациентка перенесла повторное обострение дерматомиозита, которое проявлялось преимущественно повышением активности КФК до 1250 ЕД/л. Доза преднизолона была вновь увеличена до 30 мг/сут с последующим снижением до 7,5 мг/сут.

За время наблюдения в Институте ревматологии производились попытки назначения метотрексата, который был отменен в связи с непереносимостью его. В начале 2009 г. был назначен иммунодепрессант мофетил микофенолат (Селлсепт), который пациентка принимала нерегулярно.

В ноябре 2009 г. пациентка была переведена в Институт клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова для проведения КАГ и выбора дальнейшей тактики лечения.

При поступлении больная предъявляла жалобы на единичные эпизоды ощущения дискомфорта за грудиной при умеренной физической нагрузке, на повышение АД (максимально до 140/100 мм рт. ст.), общую слабость, ограничение подвижности и болезненность в грудных мышцах, а также на слабость и умеренную болезненность в мышцах бедер при подъеме по лестнице. Необходимо отметить, что мышечные симптомы появились у пациентки еще во время госпитализации в ГКБ №29.

При осмотре обращало на себя внимание наличие эритемы Готрона, сетчатого ливеда, гелиотропной сыпи. Отмечена умеренная болезненность при пальпации грудных мышц. Кроме того, выявлено повышение активности КФК до 896 ЕД/л, что было расценено как возможное проявление обострения дерматомиозита либо стативной миопатии и потребовало отмены аторвастатина.

В анализах крови были выявлены признаки железодефицитной анемии (гемоглобин 10,5 г/дл, средняя концентрация гемоглобина в эритроците 32,3 г/дл при норме 33–37 г/дл, сывороточное железо 3,6 мкмоль/л), что связали с имеющей место у пациентки меноррагией. Клинический анализ крови показал относительные нейтрофилез (81,4%) и лимфопению (10,2%). В биохимическом анализе крови помимо повышения активности КФК отмечено незначительное повышение активности ЛДГ до 500 ЕД/л (при норме до 435 ЕД/л) и АсАТ до 46 ЕД/л (при норме до 29 ЕД/л). Уровень ХС в крови при поступлении составил 4,7 ммоль/л. По данным коагулограммы отмечено

некоторое повышение уровня Д-димера до 0,58 мкг/мл (норма до 0,5 мкг/мл). При проведении комплексного иммунологического анализа, включавшего определение уровней С-реактивного белка, ревматоидного фактора, титров антител к нативной ДНК, денатурированной ДНК, кардиолипину классов IgG и IgM, отклонений от нормы не выявлено. При проведении ЭхоКГ была выявлена зона гипоакinesis в области верхушки ЛЖ с истончением этого участка до 0,6 см.

Пациентка была обследована на предмет наличия атеросклеротического поражения в основных сосудистых бассейнах. При проведении дуплексного сканирования выявлен стеноз 20–25% в бифуркации брахицефального ствола, а также стеноз 20% в правой подключичной артерии. В почечных артериях и артериях нижних конечностей атеросклеротических бляшек и увеличения толщины комплекса интима–медиа не выявлено.

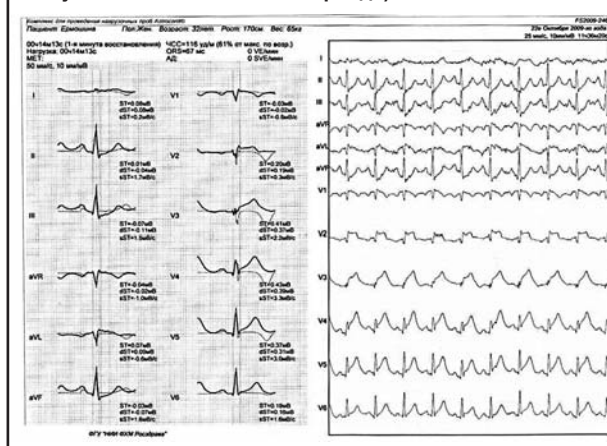
Пациентке была выполнена КАГ, по данным которой была выявлена окклюзия передней нисходящей артерии (ПНА) в проксимальном сегменте (рис. 3). Остальные коронарные артерии были интактны. После реканализации ПНА был выявлен гемодинамически значимый стеноз в устье первой диагональной артерии. Следует подчеркнуть, что ангиографическая морфология выявленных изменений была типичной для атеросклеротического поражения. Были выполнены баллонная ангиопластика и стентирование стентами Surfer обеих пораженных артерий с хорошим ангиографическим эффектом. На фоне расширения двигательного режима эпизоды ощущения дискомфорта за грудиной пациентку не беспокоили (вплоть до начала февраля 2010 г, когда был совершен последний из предшествующих данной публикации телефонный опрос больной).

После выписки пациентка была направлена на консультацию в Институт ревматологии, в котором была выполнена игольчатая миография (30.11.2009 г.), по данным которой выявили признаки, характерные для резко выраженного воспалительного процесса с распадом мышечных волокон. Было подтверждено наличие обострения дерматомиозита, рекомендовано повышение дозы преднизолона до 30 мг/сут, возобновление приема Селлсепта 2 г/сут. В результате проводимой терапии на амбулаторном этапе (через 2 мес после выписки) отмечена нормализация уровня КФК и уменьшение выраженности мышечных и кожных симптомов.

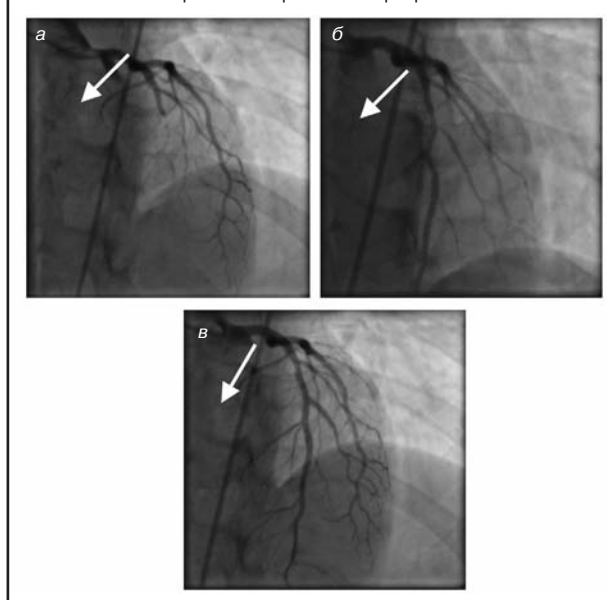
Одним из ключевых вопросов в данном случае стал анализ причин, приведших к развитию ИМ у женщины 32 лет. Наиболее вероятными вариантами представляются следующие: 1) аутоиммунный процесс с развитием коронарита (в рамках дерматомиозита), 2) тромбофилия (включая антифосфолипидный синдром – АФС), 3) раннее развитие атеросклероза (АС) на фоне активности аутоиммунного процесса и длительного лечения ГКС.

Есть данные, что сердечно-сосудистые заболевания занимают ведущую позицию в структуре смертности больных дерматомиозитом [3]. Однако речь идет в первую очередь о «некоронарогенной» патологии – первичном поражении миокарда с развитием миокардита (зачастую сопровождается динамикой на ЭКГ, гиперферментемией), сердечной недостаточности, а также нарушениях

**Рис. 2.** Проба с физической нагрузкой (15-е сутки ИМ; 1-я минута восстановительного периода).



**Рис. 3.** Данные ангиограмм пациентки до и после проведения ЧКВ: а – локализация окклюзии ПНА (указана стрелкой); б – локализация устьевого стеноза первой диагональной артерии (указана стрелкой); в – ангиограмма после баллонной ангиопластики и стентирования пораженных артерий.



ритма и проводимости сердца [4]. Собственно васкулит возникает чаще у детей, затрагивает капилляры и артериолы, тогда как поражение артерий среднего и крупного калибра (в том числе, коронарных) у них нехарактерно. Изредка на фоне дерматомиозита развивается сопутствующий АФС, приводящий к возникновению артериальных и венозных тромбозов. Учитывая это обстоятельство, пациентка была обследована для исключения наличия у нее АФС.

В настоящее время для диагностики АФС используют так называемые Саппоровские диагностические критерии [5], которые разделены на клинические и лабораторные.

Клинические критерии: 1) эпизод подтвержденного сосудистого тромбоза, 2) патология беременности: внутриутробная гибель морфологически нормального плода после 10 нед гестации, преждевременные роды морфологически нормального плода до 34 нед гестации из-за выраженной преэклампсии/эклампсии или выраженной плацентарной недостаточности либо 3 последовательных случаев или более спонтанных аборт до 10 нед

## Протромботические полиморфизмы генов

## Название полиморфизма

## Выявленный генотип

MTNFR 677 C>T (метилентетрагидрофолатредуктаза)  
 FGB: -455 G>A (бета-субъединица фибриногена)  
 F2: 20210 G>A (протромбин)  
 F5: 1691 G>A (лейденская мутация)  
 PAI-1: -675 5G>4G (ингибитор активатора плазминогена типа 1)  
 ITGA2: 807 C>T (гликопротеин Ia)  
 ITGB3: 1565 T>C (гликопротеин IIIa)

CT  
 GG  
 GG  
 GG  
 5G>4G  
 TT  
 TT

гестации (исключение – анатомические дефекты матки, гормональные нарушения, материнские или отцовские хромосомные нарушения).

Лабораторные критерии: 1) наличие антикардиолипиновых антител IgG- и/или IgM-изотипов в крови в средних или высоких титрах не менее чем в двух образцах крови, взятых с интервалом не менее 6 нед, 2) наличие волчаночного антикоагулянта в крови в средних или высоких титрах не менее чем в двух образцах крови, взятых с интервалом не менее 6 нед.

Определенный АФС диагностируется при наличии одного клинического и одного серологического критериев. У пациентки имел место артериальный тромбоз (окклюзия ПНА), а также эпизод однократного незначительного повышения титра антител к кардиолипину. Единственная беременность протекала без осложнений и закончилась срочными родами. Таким образом, достоверных критериев АФС у пациентки не выявлено.

Другой возможной причиной развития ИМ в молодом возрасте может быть тромбофилия, обусловленная носительством аллельных вариантов генов, продукты которых обладают протромботической активностью. Результаты генетического тестирования пациентки представлены в таблице.

Пациентка оказалась носителем протромботических полиморфных аллелей 3 генов: метилентетрагидрофолатредуктазы (гетерозигота), гликопротеина Ia (гетерозигота) и ингибитора активатора плазминогена типа 1 – PAI-1 (гомозигота). Сниженная активность метилентетрагидрофолатредуктазы, обусловленная выявленным генетическим полиморфизмом, может приводить к накоплению в крови гомоцистеина, обладающего проатерогенной и протромботической активностью [6]. Уровень гомоцистеина у пациентки составил 16,8 мкмоль/л (норма менее 10 мкмоль/л). Полиморфизм гена PAI-1: -675 5G>4G затрагивает промоторную область и сопровождается повышенной экспрессией гена, повышением уровня PAI-1 в крови [7], что может приводить к снижению эндогенного фибринолиза. ITGA2 (гликопротеин Ia) представляет собой тромбocyтaрный рецептор к коллагену. В случае носительства аллельного варианта 807T происходит изменение свойств рецептора, приводящее к усилению адгезии тромбоцитов [8].

Нам представляется, что у пациентки ИМ носил скорее атеротромботический характер, когда развитию окклюзирующего тромбоза коронарной артерии предшествует повреждение پوشки атеросклеротической бляшки. Наличие у пациентки АС подтверждается как выявленным стенозом в диагональной артерии, так и бляшками в брахицефальном стволе и правой подключичной артерии. Наиболее вероятными причинами развития АС у 32-летней женщины могут быть как активный аутоиммунный воспалительный процесс, так и длительное лечение ГКС.

Основными проатерогенными механизмами ГКС являются: 1) развитие АГ (за счет минералокортикоидной активности), 2) гиперлипидемия, для которой характерно повышение в крови уровня общего ХС, ХС липопротеидов низкой плотности и триглицеридов, 3) ожирение центрального типа, 4) нарушение толерантности к углеводам [9].

Принимая во внимание известную роль воспалительных реакций в патогенезе АС, можно предположить, что противовоспалительный эффект ГКС может ограничивать процессы развития атеротромбоза. Существуют данные, полученные на животных моделях, согласно которым применение дексаметазона снижает риск развития как АС de novo, так и рестенозов [10, 11]. Вероятно, по этой причине относительный риск (ОР) развития ИБС у лиц, получающих ГКС, по сравнению с риском ее развития у пациентов, их не получающих, составляет всего 1,2 [12].

Что касается негативного воздействия ГКС на наблюдаемую пациентку, следует напомнить, что уже через год после начала лечения преднизолоном в относительно небольшой дозе 5 мг/сут у нее развилась стероидная катаракта обоих глаз. Кроме того, в начале лечения ГКС в Институте ревматологии уровень общего ХС всего за несколько недель повысился с 6,7 до 8,2 ммоль/л. К моменту госпитализации в РКНПК у пациентки уже имела место АГ. Можно предполагать, что у нее была повышенная чувствительность к ГКС, способствовавшая раннему развитию АС.

Активно текущее аутоиммунное воспаление также увеличивает риск развития АС. У пациентов с воспалительными миопатиями отмечена высокая частота развития сосудистых осложнений (ИМ и ишемического инсульта). Риск (ОР=2,6) был обусловлен АГ и нарушениями липидного обмена. Применение иммуносупрессивных препаратов приводило к снижению ОР до 0,5 [13]. Это подтверждает значение аутоиммунного воспаления в развитии АС и его осложнений. Было также показано, что при дерматомиозите риск смерти в результате ИМ повышен в 16 раз и у женщин он в 4 раза выше, чем у мужчин [14].

Отдельное обсуждение заслуживает медикаментозное лечение данной пациентки. При поступлении в РКНПК ей были назначены ацетилсалициловая кислота 75 мг/сут, клопидогрел 75 мг/сут, периндоприл 5 мг/сут, метопролол 100 мг/сут. Учитывая повышение активности КФК и возможное провоцирование обострения дерматомиозита приемом статинов, в качестве гиплипидемического препарата был выбран эзетимиб в дозе 10 мг/сут. После 2 мес лечения эзетимибом на фоне поддерживающей дозы преднизолона 30 мг/сут уровень общего ХС составил 6,3 ммоль/л. Суточная доза эзетимиба в конце января 2010 г. была увеличена вдвое, через 1 мес уровень общего ХС снизился до 5,8 ммоль/л. В качестве альтернативы

тивных способов в случае недостижения целевых значений липидов на фоне титрации дозы эзетимиба могут быть рассмотрены такие меры, как проведение плазмафереза или повторная попытка назначения статины, используя правастатин как препарат, наиболее безопасный в отношении риска развития миопатии.

Антитромбоцитарная терапия у нашей больной также сопряжена с рядом проблем. С одной стороны, у пациентки имеется высокий риск тромботических осложнений, обусловленный активно текущим аутоиммунным заболеванием, приемом ГКС, носительством протромботических аллелей, а также повышенным уровнем в крови гомоцистеина. С другой стороны, пациентка характеризуется высоким риском геморрагических осложнений (в первую очередь – желудочно-кишечных кровотечений), который обусловлен приемом двойной антитромбоцитарной терапии на фоне выявленного, по данным ЭГДС, гастрита, а также постоянным приемом ГКС и цитостатиков. Поэтому было решено проводить постоянную гастропротективную терапию, а с вопросом об увеличении дозы клопидогрела после чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) до 150 мг/сут определиться после определения индивидуальной чувствительности пациентки к этому препарату. В качестве гастропротектора был выбран пантопразол по двум соображениям: во-первых, ингибиторы протонной помпы значительно эффективнее в плане профилактики аспириновых гастропатий, чем блокаторы H<sub>2</sub>-гистаминовых рецепторов [15]. Во-вторых, в последнее время появилось довольно много противоречивых данных о возможном ослаблении действия клопидогрела при совместном приеме с рядом ингибиторов протонной помпы (в первую очередь, омепразолом) за счет метаболитизации их в печени одними и теми же изоформами цитохрома P-450 [16]. В отношении пантопразола подобных сведений не получено.

У больной все же имеются показания к длительному приему клопидогрела: перенесенный ИМ и выполненное ЧКВ с имплантацией двух стентов Cypher. Напомним, что клопидогрел является пролекарством, которое всасывается в кишечнике с помощью молекулы-переносчика гликопротеина P. При нормальном функционировании этого переносчика всасывается около 15% препарата, а остальное разрушается эстеразами. Если ген гликопротеина P представлен вариантным аллелем ABCB1 C3435T, количество всасываемого клопидогрела уменьшается и его эффект, соответственно, ослабевает. Следующим этапом метаболизма препарата является его превращение в активную субстанцию путем окисления ферментами системы цитохрома P-450, в первую очередь его изоформой CYP2C19. Полиморфизм гена, кодирующего этот фермент (прежде всего носительство аллеля CYP2C19: 681 G>A \*2), приводит к уменьшению количества активного препарата. В последние годы было показано, что около 25% европейского населения имеют сниженную чувствительность к клопидогрелу, обусловленную носительством так называемых медленно функционирующих аллелей CYP2C19 [17]. У пациентов, перенесших ИМ и получавших стандартную дозу клопидогрела, носительство этих аллельных вариантов ассоциировалось с худшим прогнозом [18]. Наблю-

даемая нами пациентка оказалась гетерозиготным носителем аллеля ABCB1 C3435T, что послужило причиной увеличения поддерживающей дозы клопидогрела до 150 мг/сут на 2 мес после ЧКВ.

Представленное наблюдение демонстрирует, что пациенты с системными заболеваниями нуждаются в тщательном наблюдении и ведении с участием кардиолога. Сопутствующие сердечно-сосудистые заболевания требуют индивидуального подхода в выборе тактики лечения, поскольку низкая частота возникновения подобных клинических ситуаций обуславливает отсутствие четких алгоритмов, разработанных в соответствии с принципами медицины, основанной на доказательствах.

Наряду с необычными механизмами развития ИМ у молодой женщины, сложностями лечения двух одновременно протекающих заболеваний следует подчеркнуть важность следования стереотипным схемам обследования больных при наличии у них клинической картины, напоминающей стенокардию. В дебюте ИМ у пациентки все же было болевой синдром, типичный для стенокардии. Однако понадобилось более 2 дней и повторный визит в поликлинику, чтобы у лечащего врача возникла мысль о необходимости зарегистрировать ЭКГ, которая является простым методом, применение которого, возможно, предотвратило бы развитие ИМ у этой молодой женщины.

#### Литература

1. Diamond GA, Forrester JS. Analysis of probability as an aid in the clinical diagnosis of coronary artery disease. *N Engl J Med* 1979; 300: 1350–8.
2. Mant D, Villard-Mackintosh L, Vessey MP, Yeates D. Myocardial infarction and angina pectoris in young women. *J Epidemiol Community Health* 1987; 41: 215–9.
3. Lundberg IE. The heart in dermatomyositis and polymyositis. *Rheumatology* 2006; 45: 18–21.
4. Stern R, Godbold J, Chess Q, Kagen L. ECG abnormalities in polymyositis. *Arch Intern Med* 1984; 144: 2185–9.
5. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T et al. Arthritis & Rheumatism 1999; 42: 1309–11.
6. Frosst P, Blom HJ, Milos R et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10: 111–3.
7. Wiklund PG, Nilsson L, Ardnor SN et al. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and risk of stroke: replicated findings in two nested case-control studies based on independent cohorts. *Stroke* 2005; 36: 1661–5.
8. Nikolopoulos GK, Tsantes AE, Bagos PG et al. Integrin, alpha 2 gene C807T polymorphism and risk of ischemic stroke: a meta-analysis. *Thromb Res* 2007; 119: 501–10.
9. Sholter DE, Armstrong PW. Adverse effects of corticosteroids on the cardiovascular system. *Can J Cardiol* 2000; 16: 505–11.
10. Makbeja AN, Bloom S, Muesing R et al. Anti-inflammatory drugs in experimental atherosclerosis in WHHL rabbits and inhibition by cortisone acetate. *Atherosclerosis* 1989; 76: 155–61.
11. Villa AE, Guzman LA, Chen W et al. Local delivery of dexamethasone for prevention of neointimal proliferation in a rat model of balloon angioplasty. *J Clin Invest* 1994; 93: 1243–9.
12. Ng MKC, Celermajer DS. Glucocorticoid treatment and cardiovascular disease. *Heart* 2004; 90: 829–30.
13. Tisseverasinghe A, Bernatsky S, Pineau CA. Arterial events in persons with dermatomyositis and polymyositis. *J Rheumatol* 2009; 36: 1943–6.
14. Ljilko K, Ponzi A, Constantin T et al. Long-term survival of patients with idiopathic inflammatory myopathies according to clinical features: a longitudinal study of 162 cases. *Medicine* 2004; 83: 35–42.
15. Bhatt DL, Scheiman J, Abraham NS et al. ACCF/ACG/AHA 2008 expert consensus document on reducing the gastrointestinal risks of antiplatelet therapy and NSAID use: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *Circulation* 2008; 118: 1894–909.
16. European Medicines Agency. Public statement on possible interaction between clopidogrel and proton-pump inhibitors. May 29, 2009. <http://www.emea.europa.eu/>.
17. Hulot J-S, Bura A, Azizi M et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. *Blood* 2006; 108: 2244–7.
18. Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009; 360: 363–75.

---

# Календарь проведения научных мероприятий

---

## Calendar of Scientific Events

---

### Российские научные мероприятия 2010–2011 гг.

---

2010 г.

**Ноябрь**

**23–24**

Неотложная кардиология–2010

<http://cardioweb.ru>

Москва

**24–26**

III съезд кардиологов Приволжского федерального округа

<http://www.scardio.ru/congresses/russian00019/default.asp>

Самара

2011 г.

**Март**

**10–11**

VII Всероссийская научно-практическая конференция «Спорные и нерешенные проблемы диагностики и лечения артериальной гипертонии»

<http://www.cardioweb.ru/news/page/80>

Тюмень

**Апрель**

**26–28**

14-й Конгресс Международного общества холтеровского мониторирования и неинвазивной электрофизиологии (ISHNE)

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

Москва

---

### Международные научные мероприятия 2010 г.

---

**Декабрь**

**9–11**

Heart, Vessels Diabetes The European Conference

<http://hvd-euroconference.com>

Лиссабон, Португалия

---

\* —————