



ISSN 2410- 5155 (Online), ISSN 2311- 4495 (Print)

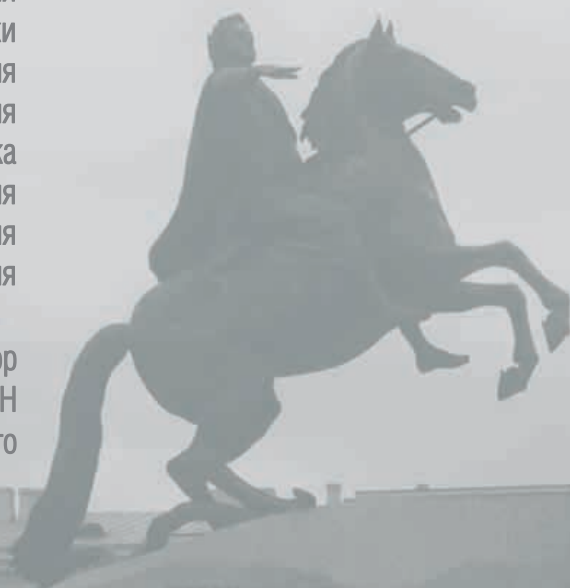
Трансляционная Медицина Translational Medicine

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал

том 8 №3 / 2021

Фундаментальная медицина
Сердечно-сосудистые заболевания
Эндокринология
Нейронауки
Педиатрия и детская хирургия
Неонатология
Лучевая диагностика
Акушерство и гинекология
Онкология
Гематология

Главный редактор
Академик РАН
Е.В. Шляхто





ISSN 2410-5155 (Online), ISSN 2311-4495 (Print)

Трансляционная Медицина Translational Medicine

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал

том 8 №3 / 2021

Фундаментальная медицина
Сердечно-сосудистые заболевания
Эндокринология
Нейронауки
Педиатрия и детская хирургия
Неонатология
Лучевая диагностика
Акушерство и гинекология
Онкология
Гематология

Главный редактор
Академик РАН
Е.В. Шляхто

**Национальный медицинский
исследовательский центр им. В. А. Алмазова
Министерства здравоохранения Российской Федерации**



ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Е. В. Шляхто

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

А. О. Конради

М. М. Галагудза

ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР

Н. А. Смолина

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ

С. В. Анисимов (Санкт-Петербург)
Е. И. Баранова (Санкт-Петербург)
Е. Р. Баранцевич (Санкт-Петербург)
Т. В. Вавилова (Санкт-Петербург)
А. В. Васильев (Москва)
М. Л. Гордеев (Санкт-Петербург)
Е. Н. Гринёва (Санкт-Петербург)
А. А. Жлоба (Санкт-Петербург)
А. Ю. Зарицкий (Санкт-Петербург)
Э. Э. Звартау (Санкт-Петербург)
Д. О. Иванов (Санкт-Петербург)

М. А. Карпенко (Санкт-Петербург)
Э. В. Комличенко (Санкт-Петербург)
А. А. Костарева (Санкт-Петербург)
Д. С. Лебедев (Санкт-Петербург)
Ю. Б. Лишманов (Томск)
О. М. Моисеева (Санкт-Петербург)
А. О. Недошивин (Санкт-Петербург)
И. Л. Никитина (Санкт-Петербург)
Е. В. Пармон (Санкт-Петербург)
Д. В. Рыжкова (Санкт-Петербург)

**ЧЛЕНЫ МЕЖДУНАРОДНОГО
РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА**

Ж. Бакс (Нидерланды)
Р. Феррари (Италия)
Р. Хельманн (Германия)
Г. Ханссон (Швеция)
Д. Керр (США)
Ж. Массард (Франция)
Б. Ольшанский (США)
М. Орлов (США)
Т. Сейерсен (Швеция)
Г. Сёберг (Швеция)
О. Содер (Швеция)
Т. Сили-Торок (Нидерланды)
Я. Вааге (Норвегия)
Э. К. Айламазян (Санкт-Петербург)
В. Н. Анисимов (Санкт-Петербург)
В. Г. Баиров (Санкт-Петербург)
В. С. Баранов (Санкт-Петербург)
О. А. Беркович (Санкт-Петербург)
Л. А. Бокерия (Москва)
В. Н. Васильев (Санкт-Петербург)
Т. Д. Власов (Санкт-Петербург)
А. Я. Гудкова (Санкт-Петербург)
Е. З. Голухова (Москва)
И. В. Гурьева (Москва)
А. С. Галявич (Казань)
С. Л. Дземешкевич (Москва)
Д. В. Дупляков (Самара)
И. Е. Зазерская (Санкт-Петербург)
Е. В. Заклязьминская (Москва)
А. М. Караськов (Новосибирск)
Р. С. Карпов (Томск)
В. М. Кутузов (Санкт-Петербург)
В. В. Ломиворотов (Новосибирск)
Ю. М. Лопатин (Волгоград)
В. А. Мазурок (Санкт-Петербург)
А. С. Максимов (Санкт-Петербург)
Л. Н. Маслов (Томск)
А. Л. Маслянский (Санкт-Петербург)
Г. А. Мельниченко (Москва)
В. М. Моисеенко (Санкт-Петербург)
И. А. Наркевич (Санкт-Петербург)
И. В. Поддубный (Москва)
Е. А. Покушалов (Новосибирск)
В. П. Пузырёв (Томск)
В. А. Ткачук (Москва)
С. В. Сидоркевич (Санкт-Петербург)
Г. Н. Салогуб (Санкт-Петербург)
В. В. Фадеев (Москва)
В. А. Цырлин (Санкт-Петербург)

Журнал зарегистрирован в Государственном комитете РФ по печати.
Свидетельство о рег. ПИ № ФС77-56793 от 29.01.2014 г.
Журнал включен в Российский индекс научного цитирования

Журнал включен Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации в «Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук».

Периодичность — 6 выпусков в год. Тираж — 1100 экземпляров.

Тематическая рассылка по специалистам.

Верстка — Л. П. Попова. Корректра — А. А. Попова

18+

Издательство «ФОНД АЛМАЗОВА»

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

Телефон издательства: +7(812)702-37-16

Подача рукописей и переписка с авторами, размещение рекламы и подписка —
e-mail: bulletin@almazovcentre.ru

Подписка по каталогу агентства «Роспечать»: подписной индекс 57996

Архив номеров: http://www.almazovcentre.ru/?page_id=20396
http://elibrary.ru/title_about.asp?id=50986

Все права защищены. © 2021.

Полное или частичное воспроизведение материалов, опубликованных в журнале, допускается только с письменного разрешения редакции.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов

**V. A. Almazov National
Medical Research Centre
Ministry of Health of the Russian Federation**

**EDITOR-IN-CHIEF**

E. Shlyakhto

VICE-EDITORS

A. Konradi

M. Galagudza

TECHNICAL EDITOR

N. Smolina

EDITORIAL BOARD

S. Anisimov (Saint-Petersburg)
E. Baranova (Saint-Petersburg)
E. Barancevich (Saint-Petersburg)
T. Vavilova (Saint-Petersburg)
A. Vasiliev (Moscow)
M. Gordeev (Saint-Petersburg)
E. Grineva (Saint-Petersburg)
A. Zhloba (Saint-Petersburg)
A. Zaritskiy (Saint-Petersburg)
E. Zvartau (Saint-Petersburg)
D. Ivanov (Saint-Petersburg)

M. Karpenko (Saint-Petersburg)
E. Komlichenko (Saint-Petersburg)
A. Kostareva (Saint-Petersburg)
D. Lebedev (Saint-Petersburg)
Yu. Lishmanov (Tomsk)
O. Moiseeva (St. Petersburg)
A. Nedoshivin (Saint-Petersburg)
I. Nikitina (Saint-Petersburg)
E. Parmon (Saint-Petersburg)
D. Ryzhkova (Saint-Petersburg)

MEMBERS**OF THE INTERNATIONAL
EDITORIAL BOARD**

J. Bax (Netherlands)
R. Ferrari (Italy)
R. Hehlmann (Germany)
G. Hansson (Sweden)
K. David (USA)
G. Massard (France)
B. Olshansky (USA)
M. Orlov (USA)
T. Sejersen (Sweden)
G. Sjöberg (Sweden)
O. Söder (Sweden)
T. Szili-Torok (Netherlands)
J. Vaage (Norway)
E. Aylamazyan (Saint-Petersburg)
V. Anisimov (Saint-Petersburg)
V. Bairov (Saint-Petersburg)
V. Baranov (Saint-Petersburg)
O. Berkovich (Saint-Petersburg)
L. Bokeria (Moscow)
V. Vasiliev (Saint-Petersburg)
T. Vlasov (Saint-Petersburg)
A. Gudkova (Saint-Petersburg)
E. Golukhova (Moscow)
I. Gurieva (Moscow)
A. Galyavich (Kazan)
S. Dzemeshevich (Moscow)
D. Duplyakov (Samara)
I. Zazerskaya (Saint-Petersburg)
E. Zaklyazminskaya (Moscow)
A. Karaskov (Novosibirsk)
R. Karpov (Tomsk)
V. Kutuzov (Saint-Petersburg)
V. Lomivorotov (Novosibirsk)
Yu. Lopatin (Volgograd)
V. Mazurok (Saint-Petersburg)
A. Maksimov (Saint-Petersburg)
L. Maslov (Tomsk)
A. Maslyanskiy (Saint-Petersburg)
G. Melnichenko (Moscow)
V. Moiseenko (Saint-Petersburg)
I. Narkevich (Saint-Petersburg)
I. Poddubniy (Moscow)
E. Pokushalov (Novosibirsk)
V. Puzyrev (Tomsk)
V. Tkachuk (Moscow)
S. Sidorkevich (Saint-Petersburg)
G. Sologub (Saint-Petersburg)
V. Fadeev (Moscow)
V. Tsyrlin (Saint-Petersburg)

Journal is registered in State Committee for Publishing of the Russian Federation.
Certificate of registration. ПИ № ФС77-56793 on 29.01.2014
The Journal is included in the Russian Citation Index

The journal is listed among Russian peer-reviewed scientific journals approved
by the Higher Attestation Commission of the Russian Ministry of Education
and Science for the publication of major scientific results of theses
for academic degrees of Doctor and Candidate of Sciences.

Periodicity — 6 issues per year. Edition 1100 copies.

Distribution to specialists.

Make-up — L. P. Popova. Proofreader — A. A. Popova

Publisher «ALMAZOV FOUNDATION»

Address: 197341, Saint-Petersburg, Akkuratova str. 2

Tel.: +7(812)702-37-16

Manuscript submission and correspondence with authors,
advertising and subscription —

e-mail: bulletin@almazovcentre.ru

Subscription on catalogue of Rospechat agency: index 57996

Archive: http://www.almazovcentre.ru/?page_id=20396
http://elibrary.ru/title_about.asp?id=50986

All rights reserved. © 2021.

Full or partial reproduction of materials printed in journal is allowed by the written
permission of publisher.

Editors accept no responsibility for the content of advertising materials.

18+

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENT

СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

CARDIOVASCULAR MEDICINE

- 5** Кириллова В. В.
**ОСОБЕННОСТИ ЭХОКАРДИОГРАФИИ
В ОПРЕДЕЛЕНИИ ДИЛАТАЦИИ ЛЕВОГО
ПРЕДСЕРДИЯ СЕРДЦА У ПАЦИЕНТОВ
С ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ**

- 5** Kirillova V. V.
**ECHOCARDIOGRAPHY FEATURES
IN DETERMINING LEFT ATRIAL DILATATION
IN PATIENTS WITH HYPERTENSION**

НЕВРОЛОГИЯ

NEUROLOGY

- 14** Воробьев С. В., Янишевский С. Н.
**ГЛИМФАТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА И ЕЕ РОЛЬ
В РАЗВИТИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА**

- 14** Vorob'ev S. V., Yanishevskij S. N.
**THE GLYMPHATIC SYSTEM AND ITS ROLE
IN THE DEVELOPMENT OF ALZHEIMER'S
DISEASE**

- 22** Одинцова Г. В., Банникова Г. В.
**ЭПИЛЕПСИЯ И COVID-19: ПРЕДИКТОРЫ
ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО ИСХОДА
У ПАЦИЕНТОВ С ЭПИЛЕПСИЕЙ
(НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА КЛИНИЧЕСКОГО
НАБЛЮДЕНИЯ)**

- 22** Odintsova G. V., Bannikova G. V.
**EPILEPSY AND COVID-19: PREDICTORS
OF A POSITIVE OUTCOME IN PATIENTS
WITH EPILEPSY (BASED ON ANALYSIS
OF CLINICAL CASES)**

РАДИОЛОГИЯ

RADIOLOGY

- 29** Штенцель Р. Э., Семенова Е. С.,
Машченко И. А., Труфанов Г. Е., Первунина Т. М.,
Комличенко Э. В.
**ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СТАНОВЛЕНИЯ
И РАЗВИТИЯ МЕТОДОВ ЛУЧЕВОЙ
ДИАГНОСТИКИ В ПЕРИНАТОЛОГИИ**

- 29** Shtentsel R. E., Semenova E. S.,
Mashchenko I. A., Trufanov G. E., Pervunina T. M.,
Komlichenko E. V.
**THE HISTORY OF THE FORMATION AND
DEVELOPMENT OF METHODS OF RADIATION
DIAGNOSTICS IN PERINATOLOGY**

МЕТОДОЛОГИЧЕСКАЯ СТАТЬЯ

METHODOLOGICAL PAPER

- 37** Козырева А. А., Злотина А. М.,
Головкин А. С., Калинина О. В., Костарева А. А.
**КОНСТРУИРОВАНИЕ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ПЦР
В ПРОГРАММЕ PRIMER-BLAST**

- 37** Kozyreva A. A., Zlotina A. M.,
Golovkin A. S., Kalinina O. V., Kostareva A. A.
PRIMER DESIGNING IN PRIMER-BLAST

ОСОБЕННОСТИ ЭХОКАРДИОГРАФИИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ДИЛАТАЦИИ ЛЕВОГО ПРЕДСЕРДИЯ СЕРДЦА У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Кириллова В. В.^{1,2}

¹Государственное автономное учреждение здравоохранения Свердловской области «Центр специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Екатеринбург, Россия

Контактная информация:

Кириллова Венера Вячеславовна,
ГАУЗ СО «Институт медицинских
клеточных технологий»,
ул. Карла Маркса, д. 22 а, Екатеринбург,
620026.
E-mail: venova@list.ru

Статья поступила в редакцию 25.05.2021
и принята к печати 24.06.2021.

Резюме

Актуальность. Определение дилатации левого предсердия (ЛП) эхокардиографическим методом (ЭхоКГ) является одним из критериев диагностики сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса.

Цель исследования — определение возможных причин занижения площади ЛП по ЭхоКГ у пациентов с гипертонической болезнью.

Материалы и методы. В проспективном исследовании у 89 амбулаторных пациентов (57 пациентов с длительностью зубца Р (з. Р) > 0,1 с и 32 пациента с з. Р ≤ 0,1 с во II стандартном отведении ЭКГ) проведена эхокардиография с определением площади левого предсердия в 4- и 2-камерных позициях из апикального доступа с оптимизацией выведения ЛП и без нее, а также в 4-камерной позиции из субкостального доступа.

Результаты. Выявлена сильная положительная корреляционная связь между продолжительностью з. Р по ЭКГ и площадью ЛП по эхокардиографии ($r = 0,74$). У пациентов с длительностью з. Р более 0,1 с выявлены различия в площади ЛП в 4-камерной позиции из апикального доступа с оптимизацией выведения ЛП и без нее ($22,33 \pm 0,68$ и $19,02 \pm 0,56$ см² соответственно). Максимальная площадь ЛП выявлена в 4-камерной позиции из субкостального доступа ($24,41 \pm 0,78$ см²).

Заключение. Таким образом, использование соответствия площади/объема ЛП и продолжительности з. Р во II стандартном отведении по ЭКГ, оптимизация выведения ЛП, дополнительное измерение размеров ЛП из субкостального доступа позволят избежать врачам ультразвуковой диагностики занижения размеров ЛП.

Ключевые слова: апикальный доступ, длительность зубца Р, оптимизация выведения левого предсердия, площадь левого предсердия, субкостальный доступ, эхокардиография.

Для цитирования: Кириллова В.В. Особенности эхокардиографии в определении дилатации левого предсердия сердца у пациентов с гипертонической болезнью. Трансляционная медицина. 2021;8(3): 5-13. DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-3-5-13

ECHOCARDIOGRAPHY FEATURES IN DETERMINING LEFT ATRIAL DILATATION IN PATIENTS WITH HYPERTENSION

Kirillova V. V.^{1,2}

¹Institute of Medical Cell Technologies, Ekaterinburg, Russia

²Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

Corresponding author:

Kirillova Venera V.,
Institute of Medical Cell Technologies,
Karl Marks str., 22a, Ekaterinburg, Russia,
620026.
E-mail: venova@list.ru

Received 25 May 2021; accepted 24 June 2021.

Abstract

Background. The correct echocardiographic (Echo) determination of left atrial (LA) dilatation is a criterion for diagnosing heart failure with the preserved ejection fraction.

Objective. The aim is to detect probable reasons for underestimating the LA area by Echo in hypertension patients.

Design and methods. In the prospective study, the LA area was measured echocardiographically in 89 ambulatory patients (P-wave duration in standard lead II was > 0.1 sec in 57 patients and ≤ 0.1 sec in 32 patients) from the apical four- and two-chamber views with and without focusing on the LA, and from the subcostal four-chamber view.

Results. A strong positive correlation was detected between ECG P-wave duration and the Echo LA area ($r = 0.74$). The LA areas were revealed to be different in patients with P-wave duration over 0.1 sec from the apical fourchamber view with optimization of displaying the LA (22.33 ± 0.68 and 19.02 ± 0.56 cm², respectively). The maximum LA area was detected from the subcostal fourchamber view (24.41 ± 0.78).

Conclusion. Thus, using the correspondence between the LA area and Pwave duration in standard lead II, optimization of displaying the LA, and additionally measuring the LA dimensions from the subcostal view, sonologists can avoid underestimating LA dimensions.

Key words: apical view, echocardiography, left atrial area, optimization of displaying left atrial, P-wave duration, subcostal view.

For citation: Kirillova VV. Echocardiography features in determining left atrial dilatation in patients with hypertension. Translational Medicine. 2021;8(3): 5-13. (In Russ.). DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-3-5-13

Список сокращений: ГБ — гипертоническая болезнь, ИММ — индекс массы миокарда, ЛЖ — левый желудочек, ЛП — левое предсердие, МРТ — магнитно-резонансная томография, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, ПП — правое предсердие, СДЛА — систолическое давление в легочной артерии, ТМЖП — толщина межжелудочковой перегородки, ТНБС — толщина нижнебоковой стенки, ФВ — фракция выброса, ЭКГ — электрокардиография, ЭхоКГ — эхокардиография.

Введение

В настоящее время эхокардиография (ЭхоКГ) является наиболее простым, удобным и информативным способом для выявления структурных изменений сердца (гипертрофия левого желудочка и/или расширение левого предсердия), определения диастолической дисфункции левого желудочка (ЛЖ), необходимых для диагностики хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка [1]. Своевременная диагностика хронической сердечной не-

достаточности и дальнейшая правильная тактика ведения пациентов позволяет избежать утяжеления ее функционального класса и предотвратить декомпенсацию сердечной недостаточности.

Однако эхокардиография является субъективным методом обследования, результат которого зависит от квалификации специалиста, разрешающей способности УЗИ-аппарата, анатомической структуры сердца пациента, патологического изменения геометрии сердца. Кроме этого, показано частое занижение объемов левого предсердия (ЛП), полученных с помощью двухмерной эхокардиографии, по сравнению с трехмерной эхокардиографией [2], компьютерной томографией [3, 4], магнитно-резонансной томографией (МРТ) [5]. МРТ в настоящее время считается золотым стандартом для оценки размеров и функций ЛП, так как она обеспечивает превосходное высокое временное и пространственное разрешение, а также высокую воспроизводимость [6]. Однако дороговизна МРТ-исследования, недостаток высококвалифицированных специалистов и отсутствие оборудования в большинстве клиник затрудняют его использование в обычной клинической практике.

В одних исследованиях применение электрокардиографии (ЭКГ) для определения дилатации левого предсердия показало низкую чувствительность и умеренную специфичность по сравнению с двухмерной эхокардиографией в парастернальной позиции по длинной оси левого желудочка и в 4-камерной позиции из апикального доступа [7]. Однако в других исследованиях показано, что длительность зубца Р (з. Р) > 110 мс связана с дилатацией ЛП, выявленной на основании объема и индекса ЛП по компьютерной томографии [8] и МРТ [9].

Целью исследования явилось определение возможных причин несоответствия площади/объема ЛП, определенных по ЭхоКГ, с продолжительностью з. Р во II стандартном отведении по ЭКГ.

Материалы и методы

В проспективное исследование включено 89 амбулаторных пациентов с гипертонической болезнью (ГБ), находившихся на обследовании и лечении в ООО «Клиника «Уральская» (г. Екатеринбург, Россия). Пациенты разделены на две группы в зависимости от длительности з. Р во II стандартном отведении: 1 группа — пациенты с длительностью з. Р $> 0,1$ с ($n = 57$) и 2 группа — пациенты с длительностью з. Р $\leq 0,1$ с ($n = 32$). Всем пациентам проведены трансторакальная эхокардиография на аппарате Philips HD-15 (США) по стандартному протоколу с определением площади левого предсердия планиметрическим методом с оптимизацией выведения ЛП и без нее, а также в 4-камерной

позиции из субкостального доступа. Оптимизация выведения левого предсердия заключалась в выведении максимальной площади левого предсердия в апикальной 4-камерной позиции, поскольку камеры сердца не находятся в одной плоскости [10, 11]. Критериями включения в исследование являлось наличие гипертонической болезни, качественной записи ЭКГ, сделанной на момент проведения ЭхоКГ, хорошая визуализация камер сердца из субкостального доступа, нормальные размеры левого предсердия по данным ЭхоКГ других исследователей с з. Р более, равным и менее $0,1$ с. Критериями не включения в исследование являлось наличие беременности, заболеваний щитовидной железы, острых и тяжелых хронических заболеваний почек, печени, органов дыхания, онкологических заболеваний.

У всех пациентов получено письменное информированное согласие на участие в исследовании, которое было одобрено этическим комитетом Института медицинских клеточных технологий (Екатеринбург, Россия).

Статистическую обработку результатов исследования проводили по t-критерию Стьюдента ввиду нормального распределения данных. Рассчитывался линейный коэффициент корреляции по Спирмену. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее значение измеряемой величины, m — погрешность измеряемой величины.

Результаты

Общая клиническая и инструментальная характеристика исследуемых пациентов представлена в таблице 1. Все пациенты имели в диагнозе гипертоническую болезнь. Пациенты в группе с длительностью з. Р $> 0,1$ с по сравнению с пациентами, имеющими референсное значение з. Р $\leq 0,1$ с, были старше, часть из них имела в диагнозе ишемическую болезнь сердца, сахарный диабет 2 типа, по эхокардиографии — более выраженное ремоделирование сердца в виде дилатации левого предсердия, более высокие показатели индекса массы миокарда, толщины межжелудочковой перегородки, ниже-боковой стенки левого желудочка, систолическое давление в легочной артерии. По гендерному признаку группы не отличались.

Выявлена сильная положительная корреляционная связь между длительностью з. Р во II стандартном отведении по ЭКГ и площадью ЛП по эхокардиографии ($r = 0,74$).

В зависимости от проведения оптимизации выведения ЛП или без нее в апикальной 4-камерной позиции при определении площади левого предсердия выявлены достоверные различия в группе

Таблица 1. Клиническая и инструментальная характеристика пациентов с ГБ разных групп: с длительностью з. Р менее и более 0,1 с

Показатель	1 группа (з. Р ≤ 0,1 с) n = 32	2 группа (з. Р > 0,1 с) n = 57
Пол, муж	7 (21,8 %)	19 (33,3 %)
Возраст, лет	53,60 ± 3,73	66,60 ± 2,29*
Гипертоническая болезнь	32 (100 %)	57 (100 %)
Ишемическая болезнь сердца	0	11 (19,3 %)*
Сахарный диабет 2 типа	0	5 (8,8 %)*
ОНМК	0	2 (3,5 %)
Размер ЛП, левый парастеральный доступ, мм	32,07 ± 1,18	39,38 ± 1,57*
Площадь левого предсердия, апикальный доступ без оптимизации выведения ЛП, см ²	15,35 ± 0,74	19,02 ± 0,56*
Площадь левого предсердия, апикальный доступ с оптимизацией выведения ЛП, см ²	16,59 ± 0,67	22,33 ± 0,68*
Площадь левого предсердия, субкостальный доступ, см ²	16,62 ± 0,58	24,41 ± 0,78*
ИММ	81,20 ± 1,60	95,26 ± 7,16*
ТНБС ЛЖ	9,42 ± 0,54	11,04 ± 0,48*
ТМЖП	9,38 ± 0,51	11,19 ± 0,64*
ФВ ЛЖ по Симпсону, %	61,83 ± 4,95	69,32 ± 2,88*
СДЛА, мм рт. ст.	20,61 ± 3,11	26,32 ± 3,18*

Примечание: * — достоверность различий показателей между исследуемыми группами.

с длительностью з. Р > 0,1 с по сравнению с группой, имеющей з. Р ≤ 0,1 с (табл. 1). Так, минимальная площадь левого предсердия в пределах референсных значений (менее 20 см²) выявлена при определении из апикального доступа без оптимизации выведения ЛП (19,02 ± 0,56 см²) по сравнению с площадью ЛП с проведенной оптимизацией его выведения (22,33 ± 0,68 см²).

На рисунках 1 и 2 приведены различные площади левого и правого предсердий в зависимости от применения оптимизации выведения правого или левого предсердий. На рисунке 1 выведена 4-камерная позиция сердца с оптимизацией выведения левого предсердия из апикального доступа. При этом площадь ЛП равна 22,6 см² при референсных значениях до 20 см², то есть при этом выведении ЛП дилатировано. Площадь правого предсердия (ПП) составила 13,3 см² при референсных значениях до 18 см², то есть площадь ПП при этом выведении в пределах нормы.

На рисунке 2 выведена 4-камерная позиция сердца этого же пациента с оптимизацией выведения правого предсердия из апикального доступа. При этом площадь правого предсердия равна 20,4 см², то есть ПП дилатировано, а площадь ЛП составила 19,2 см², то есть при этом выведении площадь ЛП в пределах нормы.

Таким образом, площадь левого предсердия отличается в зависимости от использования или неиспользования оптимизации выведения левого или правого предсердий у пациентов с гипертонической болезнью.

В группе с нормальной длительностью з. Р во II стандартном отведении по ЭКГ площадь левого предсердия не отличалась в зависимости от доступа выведения сердца при ЭхоКГ (табл. 1). Так, на рисунке 3 представлен объем левого предсердия у пациента В. в 4-камерной апикальной позиции (66,8 мл) (рис. 3А) и в 4-камерной субкостальной позиции (68,3 мл) (рис. 3Б).

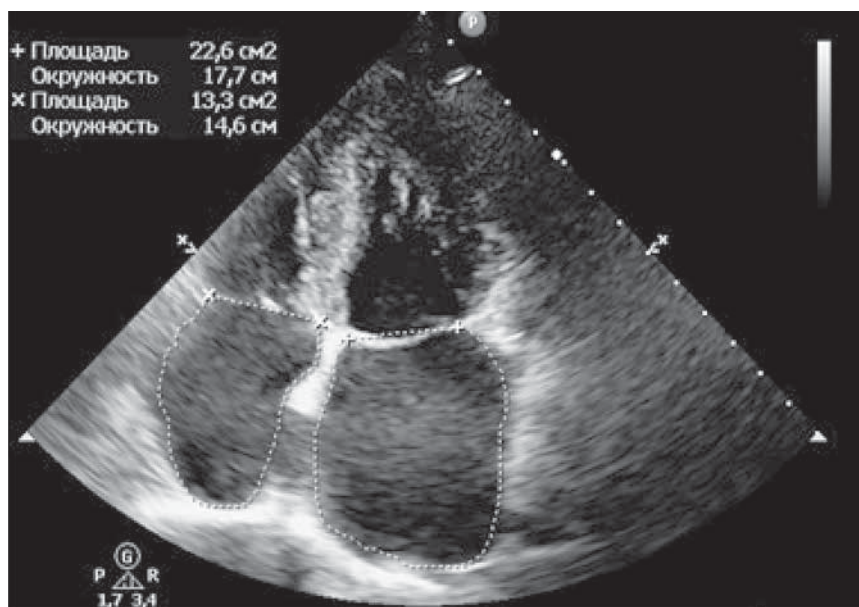


Рис. 1. 4-камерная позиция сердца с оптимизацией вывода левого предсердия, апикальный доступ

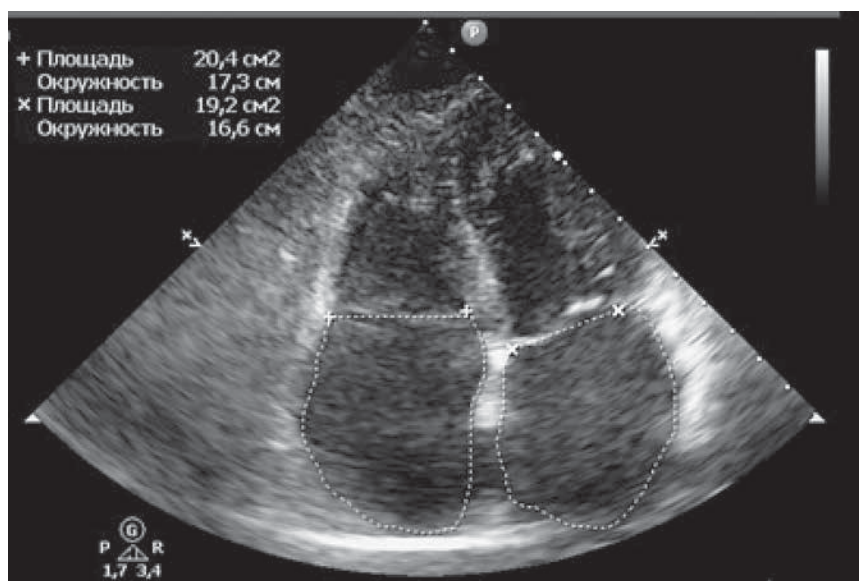


Рис. 2. 4-камерная позиция сердца с оптимизацией вывода правого предсердия, апикальный доступ

Однако в группе пациентов с ГБ, имеющих $з. Р \geq 0,1$ с, максимальная площадь левого предсердия выявлена при определении ее из субкостальной позиции ($24,41 \pm 0,78$ см², табл. 1). Так, на рисунке 4 представлены площади и объемы левого предсердия у пациента С. из апикального доступа в 4- (20,2 см² или 61,3 мл) (рис. 4А) и 2-камерных (23,7 см² или 72,9 мл) (рис. 4Б) позициях со средним значением площади или объема ЛП из данного доступа, равным 21,9 см² или 67,1 мл соответственно. Тогда

как площадь и объем левого предсердия у этого же пациента в 4-камерной позиции из субкостального доступа оказались равными 34,7 см² и 134 мл соответственно (рис. 5).

Таким образом, в группе пациентов с ГБ, имеющих $з. Р \geq 0,1$ с, по сравнению с пациентами, имеющими референсное значение $з. Р$ по ЭКГ, максимальная площадь левого предсердия выявляется в 4-камерной позиции из субкостального доступа, что, вероятно, связано с изменением геометрии

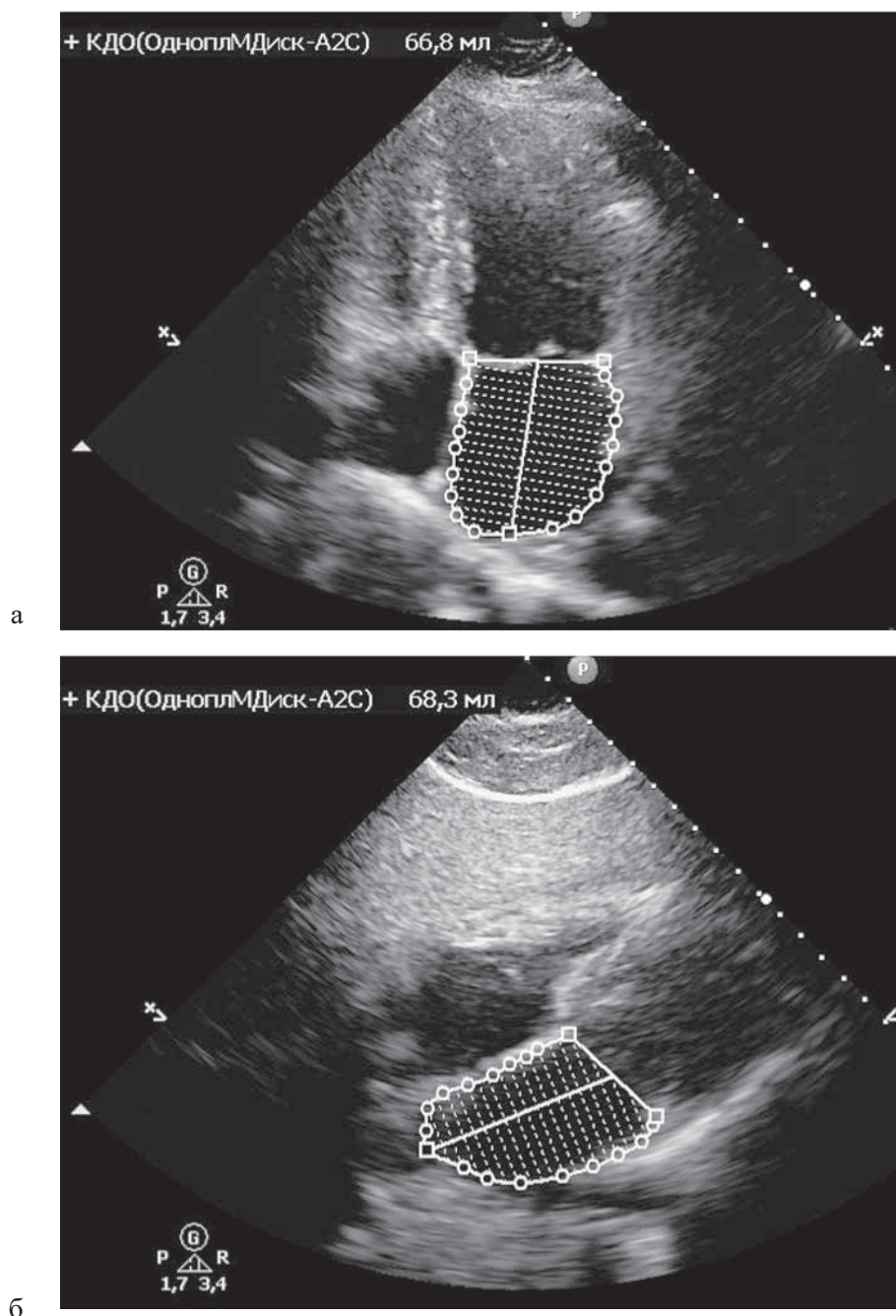


Рис. 3. Объем левого предсердия у пациента В.:

а — объем 66,8 мл из апикального доступа в 4-камерной позиции; б — объем 68,3 мл из субкостального доступа в 4-камерной позиции

левого предсердия при ремоделировании сердца и необходимости более подходящего угла визуализации камер сердца.

Обсуждение

Изучались особенности эхокардиографии в измерении площади левого предсердия. Выявлена сильная положительная корреляционная связь между длительностью з. Р во II стандартном отведении по ЭКГ и площадью ЛП по эхокардиографии

($r = 0,74$), что подтверждается работами других исследователей [8, 9].

В данной работе обсуждаются возможные причины нормальных размеров по эхокардиографии площади ЛП у пациентов с длительностью з. Р более 0,1 с во II стандартном отведении по ЭКГ. К ним относятся отсутствие оптимизации выведения ЛП при измерении его площади в 4-камерной позиции из апикального доступа. Определение объемных показателей ЛП в двухмерном режиме ЭхоКГ из апи-

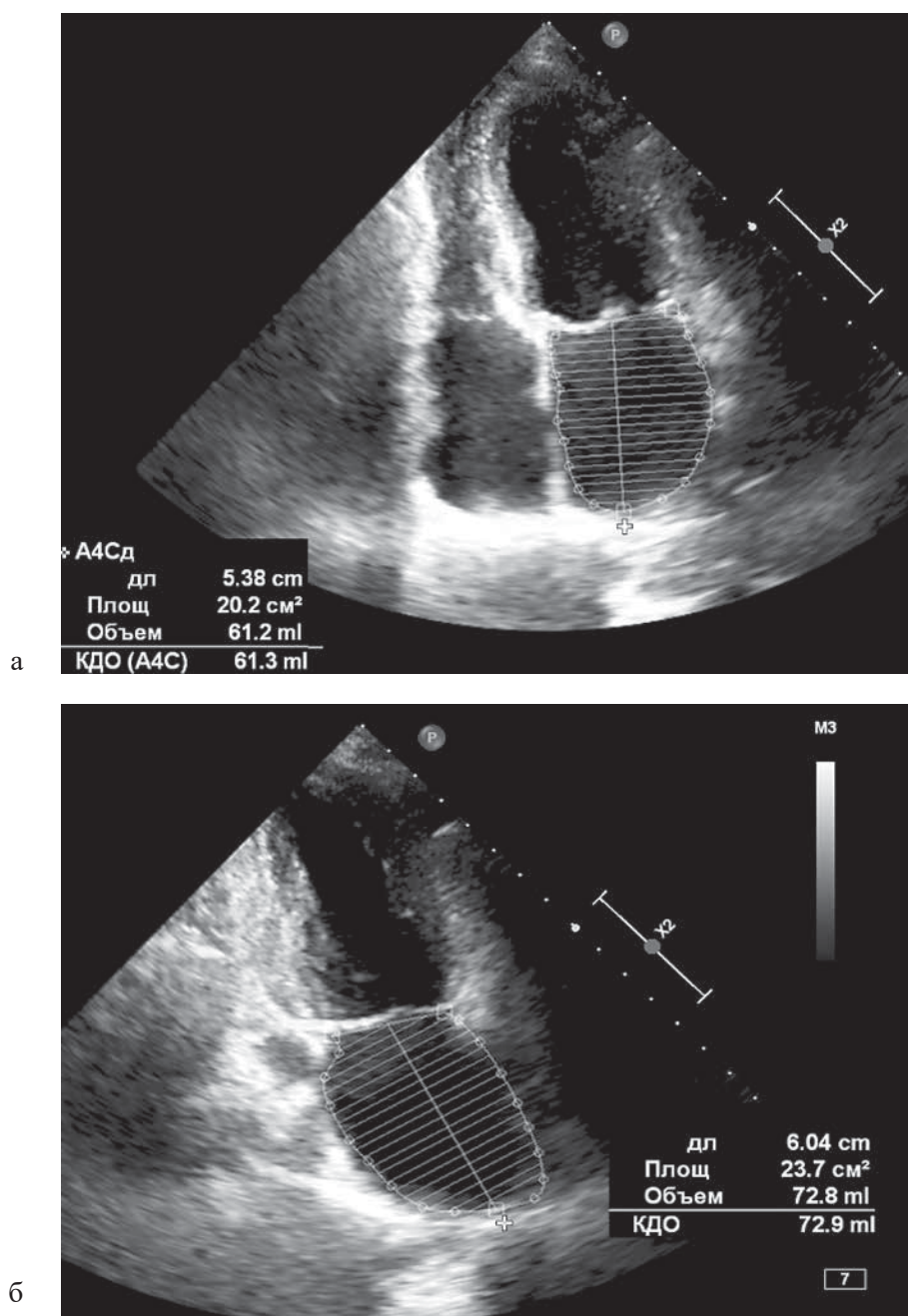


Рис. 4. Площадь и объем левого предсердия у пациента С:

а — площадь и объем (20,2 см² и 61,3 мл) в 4-камерной позиции, апикальный доступ; б — площадь и объем (23,7 см² и 72,9 мл) в 2-камерной позиции, апикальный доступ

кального доступа считается более точной и воспроизводимой методикой, принятой для применения в ежедневной клинической практике, согласно рекомендациям по количественной оценке камер сердца Американского общества эхокардиографии и Европейской ассоциации 2015 года [12]. Однако в данной работе у некоторых пациентов с з. Р более 0,1 с выявлены различия площади в 4-камерной позиции из апикального и субкостального доступов, что, вероятно, связано с изменением геометрии ЛП при

прогрессировании ремоделирования. Отмечается, что ЛП не является сферой с постоянным радиусом [10, 13], в связи с этим одномерные или двумерные эхокардиографические измерения не всегда могут отражать истинный размер камеры. Проведение исследований по сопоставлению объемов ЛП, измеренного в субкостальной 4-камерной позиции по ЭхоКГ и МРТ, позволят определить возможность использования данной позиции ЭхоКГ для измерения объема левого предсердия.

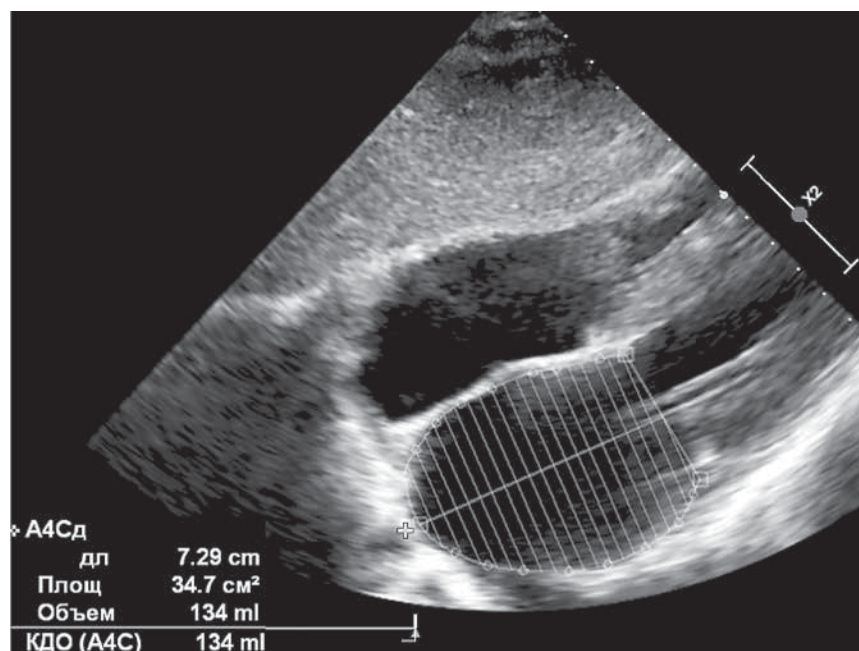


Рис. 5. Площадь и объем левого предсердия (34,7 см² и 134 мл) у пациента С. в 4-камерной позиции, субкостальный доступ

Заключение

Таким образом, несоответствие площади или объема ЛП по ЭхоКГ с продолжительностью з. Р во II стандартном отведении по ЭКГ может быть связано с отсутствием использования оптимизации выведения левого предсердия в апикальной 4-камерной позиции. Занижение площади или объема левого предсердия может привести к неправильной постановке клиницистом диагноза, некорректной терапии и, как результат, прогрессированию заболевания, что требует дальнейших исследований в этой теме.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Благодарности / Acknowledgments

Работа выполнена частично в рамках государственного задания ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России № 121030900298-9, тема «Индивидуализация подбора комплексной геропротективной терапии» на 2021–2023 годы.

Список литературы / References

1. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special

contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*. 2016;37(27):2129–2200. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw128.

2. Perez De Isla L, Feltz G, Moreno J, et al. Quantification of left atrial volumes using three-dimensional wall motion tracking echocardiographic technology: comparison with cardiac magnetic resonance. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2014;15(7):793–799. DOI: 10.1093/ehjci/jeu001.

3. Avelar E, Durst R, Rosito GA, et al. Comparison of the accuracy of multidetector computed tomography versus two-dimensional echocardiography to measure left atrial volume. *Am J Cardiol*. 2010;106(1):104–109. DOI: 10.1016/j.amjcard.2010.02.021.

4. Gweon HM, Kim SJ, Kim TH, et al. Evaluation of left atrial volumes using multidetector computed tomography: comparison with echocardiography. *Korean J Radiol*. 2010;11(3):286–294. DOI: 10.3348/kjr.2010.11.3.286.

5. Agner BFR, Kühl JT, Linde JJ, et al. Assessment of left atrial volume and function in patients with permanent atrial fibrillation: comparison of cardiac magnetic resonance imaging, 320-slice multi-detector computed tomography, and transthoracic echocardiography. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2014;15(5):532–540. DOI: 10.1093/ehjci/jet239.

6. Maceira AM, Cosin-Sales J, Roughton M, et al. Reference left atrial dimensions and volumes by steady state free precession cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2010;12(1):65. DOI: 10.1186/1532-429X-12-65.

7. Hazen MS, Marwick TH, Underwood DA. Diagnostic accuracy of the resting electrocardiogram in detection and estimation of left atrial enlargement: an echocardiographic correlation in 551 patients. *Am Heart J*. 1991;122(3 Pt 1):823–828. DOI: 10.1016/0002-8703(91)90531-l.

8. Truong QA, Charipar EM, Ptaszek LM, et al. Usefulness of electrocardiographic parameters as compared with computed tomography measures of left atrial volume enlargement: From the ROMICAT trial. *J Electrocardiol.* 2011;44(2):257–264. DOI: 10.1016/j.jelectrocard.2010.04.011.
9. Tsao CW, Josephson ME, Hauser TH, et al. Accuracy of electrocardiographic criteria for atrial enlargement: validation with cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson.* 2008;10(1):7. DOI: 10.1186/1532-429X-10-7.
10. Whiteman S, Saker E, Courant V, et al. An anatomical review of the left atrium. *Translational Research in Anatomy.* 2019;17:1000523. DOI: 10.1016/j.tria.2019.100052.
11. Anderson RH, Razavi R, Taylor AM. Cardiac anatomy revisited. *J Anat.* 2004; 205(3):159–177. DOI: 10.1111/j.0021-8782.2004.00330.x.
12. Lang RM, Badano LP, Victor M-A, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2015;28(1):1–39. DOI: 10.1016/j.echo.2014.10.003.
13. Lester SJ, Ryan EW, Schiller NB, et al. Best method in clinical practice and in research studies to determine left atrial size. *Am J Cardiol.* 1999;84(7):829–832. DOI: 10.1016/s0002-9149(99)00446-4.

Информация об авторах:

Кириллова Венера Вячеславовна, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории антивозрастных технологий, ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», доцент кафедры биохимии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России.

Author information:

Kirillova Venera V., PhD, Senior Researcher, Laboratory Of Anti-Aging Technologies, Institute of Medical Cell Technologies, Assistant Professor, Department of Biochemistry, 2Ural State Medical University.



ГЛИМФАТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА И ЕЕ РОЛЬ В РАЗВИТИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Воробьев С. В.^{1,2}, Янишевский С. Н.^{1,3}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Воробьев Сергей Владимирович,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: vorobev_sv@almazovcentre.ru

*Статья поступила в редакцию 12.02.2021
и принята к печати 18.06.2021.*



Резюме

Одной из основных концепций, объясняющих развитие болезни Альцгеймера, в настоящее время является амилоидная теория. Достоверно установлено, что накопление патологического белка амилоида β провоцирует запуск ряда патохимических реакций, приводящих в конечном счете к развитию синаптической дисфункции и формированию когнитивных нарушений. Белок амилоид β синтезируется и в мозге людей, не страдающих нейродегенеративной патологией. В норме он активно удаляется из головного мозга. Однако точные механизмы поддержания его клиренса не установлены. На роль такого компонента претендует недавно открытая глимфатическая система. В представленном обзоре проводится анализ предположения, что развитие ее дисфункции способствует накоплению амилоид β и развитию клинической картины болезни Альцгеймера.

Ключевые слова: аквапорин, астроциты, болезнь Альцгеймера, глимфатическая система, ликвор, параваскулярное пространство.

Для цитирования: Воробьев С.В., Янишевский С.Н. Глимфатическая система и ее роль в развитии болезни Альцгеймера. Трансляционная медицина. 2021;8(3): 14-21. DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-3-14-21

THE GLYMPHATIC SYSTEM AND ITS ROLE IN THE DEVELOPMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE

Vorob'ev S. V.^{1,2}, Yanishevskij S. N.^{1,3}

¹ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

² Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

³ Military Medical Academy named after S.M.Kirov, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Vorob'ev Sergey V.,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str. 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.

E-mail: vorobev_sv@almazovcentre.ru

Received 12 February 2021; accepted
18 June 2021.

Abstract

One of the main concepts explaining the development of Alzheimer's disease is currently the amyloid theory. It was reliably established that the accumulation of the pathological protein amyloid β provokes the launch of a number of pathochemical reactions that ultimately lead to the development of synaptic dysfunction and the formation of cognitive disorders. The protein amyloid β is also synthesized in the brain of people who do not suffer from neurodegenerative pathology. Normally, it is actively removed from the brain. However, the exact mechanisms for maintaining its clearance are not established. The recently discovered glymphatic system claims to be such a component. The present review provides a comprehensive analysis of suggestions that the development of glymphatic system dysfunction contributes to the accumulation of amyloid β and the development of the clinical picture of Alzheimer's disease.

Key words: alzheimer's disease, aquaporin, astrocytesparavascular space, glymphatic system, liquor.

For citation: Vorob'ev SV, Yanishevskij SN. The glymphatic system and its role in the development of Alzheimer's disease. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2021;8(3): 14-21. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-3-14-21

Список сокращений: ГЛБ — гематоликворный барьер, ГЭБ — гематоэнцефалический барьер, ЛЭБ — ликвороэнцефалический барьер.

Введение

Среди важнейших составляющих, обеспечивающих жизнедеятельность организма, выделяют лимфатическую систему. Одна из ее функций связана с участием в обмене веществ и поддержании гомеостаза тканей организма за счет удаления определенных субстанций, образующихся в результате клеточного метаболизма, с одной стороны, а также транспорта липопротеинов, с другой стороны. Вторая функция направлена на реализацию активации реакций иммунитета посредством доставки иммунокомпетентных клеток. В то же время необходимо отметить, что до последнего времени головной мозг считался лишенным лимфатической системы [1]. Такая «анатомическая особенность» создавала

значительные сложности в понимании физиологических процессов, направленных на сохранение постоянства внутренней среды центральной нервной системы. Особенно необычным этот факт воспринимался с учетом высокой степени метаболизма ткани головного мозга. Данное несоответствие наводит на мысль о наличии в тканях головного мозга иного альтернативного пути обеспечения обмена веществ. Исходя из этих позиций различными научными группами предпринимаются исследования, направленные на идентификацию такого механизма и раскрытие основ его действия.

Структура лимфатической системы

В ранних исследованиях было установлено, что введенное непосредственно в паренхиму мозга контрастное вещество, смешиваясь с интерстициальной жидкостью, в дальнейшем поступает в параваскулярные пространства [2]. При

этом скорость подобной элиминации достаточно высока и не может быть объяснена обычной диффузией. Этот факт предопределяет наличие определенных механизмов транспорта веществ из межклеточных пространств [3, 4]. В последующих работах удалось определить, что значительная часть ликвора проникает в ткань мозга через параваскулярные пространства и этим же путем происходит его удаление [5].

Известно, что сосудистая сеть головного мозга обладает определенными особенностями по сравнению с подобными структурами других органов. Так, в частности, эндотелиоциты сосудов центральной нервной системы соединены друг с другом плотными щелевыми контактами, не имеют фенестраций и сопровождаются с наружной стороны непрерывной базальной мембраной [6]. Кроме того, практически на всем протяжении сосуды окружены окончаниями астроцитов, образующих своеобразную муфту, которая дополнительно отграничивает кровеносное русло от нейронов. При проникновении пияльных сосудов в глубь вещества мозга вокруг них образуется параваскулярное пространство Вирхова–Робина, заполненное цереброспинальной жидкостью и выстланное лептоменингеальным слоем как с наружной, так и с внутренней стороны. По мере истончения артериол до капилляров данный слой исчезает, пространство резко сужается, и его границами становятся базальная мембрана со стороны сосуда и астроцитарная муфта с наружной поверхности [7–9].

В дальнейшем группой исследователей с применением двухфотонной микроскопии была описана динамика движения цереброспинальной жидкости после введения флуоресцентного маркера в мозжечково-мозговую цистерну. Оказалось, что ликвор первоначально проникает в пространства Вирхова–Робина, после чего распределяется в паренхиме мозга, проходя через ножки астроцитов. Здесь он смешивается с интерстициальной жидкостью и выходит в паравенозное пространство, в конечном итоге покидая мозг через глубокие вены. Этот путь движения ликвора, в котором значимая роль принадлежит астроцитам, по своей функции напоминал лимфатическую систему и был назван авторами, учитывая описанные особенности, глимфатической системой [10].

С учетом достаточно высокой скорости проникновения некоторых веществ из ликвора в интерстициальное пространство, было высказано предположение о наличии определенных структурных компонентов, локализованных в астроцитарной муфте, обеспечивающих данный процесс. На роль такого компонента вполне заслужено пре-

тендует мембранный белок аквапорин. Известно, что аквапорины способны формировать каналы, через которые избирательно проходят вода и ряд растворенных в ней веществ. В центральной нервной системе экспрессируются пять видов этого белка — аквапорины-1, 3, 4, 9, 11. Аквапорин-1 в основном локализован в эпителиальных клетках сосудистых сплетений желудочков головного мозга и активно участвует в образовании ликвора. Аквапорин-3 обнаружен в эпендиме головного мозга. Аквапорин-11 находится в клетках Пуркинье головного мозга. В то же время аквапорин-4 и аквапорин-9 обнаружены в астроцитах [11]. При этом значительное количество аквапорина-4 находится в ножках астроглии, участвующих в образовании муфт вокруг сосудов, проходящих сквозь паренхиму головного мозга. Установлено, что данный белок покрывает большую часть суммарной площади ножек астроцитов [12, 13]. Аквапорины представляют из себя трансмембранные белки-тетрамеры, состоящие из четырех гомологичных субъединиц, собранных на супрамолекулярном уровне в ортогональные массивы частиц [14]. Каждая из них в центральной своей части образует водный канал, через который также оказывается способным проникать и ряд других веществ и микроэлементов. Структурно субъединицы имеют в своем составе шесть длинных трансмембранных α -спиральных доменов, а также два коротких α -спиральных домена, непосредственно участвующих в образовании канала. В этих доменах содержится аминокислотная последовательность аспарагин-пролин-аланин, служащая для формирования селективного фильтра. Ортогональные массивы частиц удерживаются на поверхности клеточной мембраны посредством их прикрепления через белок α -синтрофин к дистрофин-ассоциированному белковому комплексу. Последний через α -дистрогликан соединяется с ламинином и агрином, которые являются компонентами компонентами периваскулярной глиальной мембраны. Именно такая, достаточно сложная молекулярная структура позволяет создать высокую концентрацию водных каналов между параваскулярным и интерстициальным пространствами головного мозга [12]. Общая структура аквапориновых каналов отображена на рисунке 1.

Сведения, подтверждающие значимость водных каналов, образуемых посредством аквапорина-4, в перемещении цереброспинальной жидкости, были получены при исследовании пути движения меченного амилоида β 1–40 у лабораторных животных. Установлено, что амилоид, введенный в стриатум мышей в конечном итоге, элиминирует через паравенозные пространства. Кроме того, у живот-

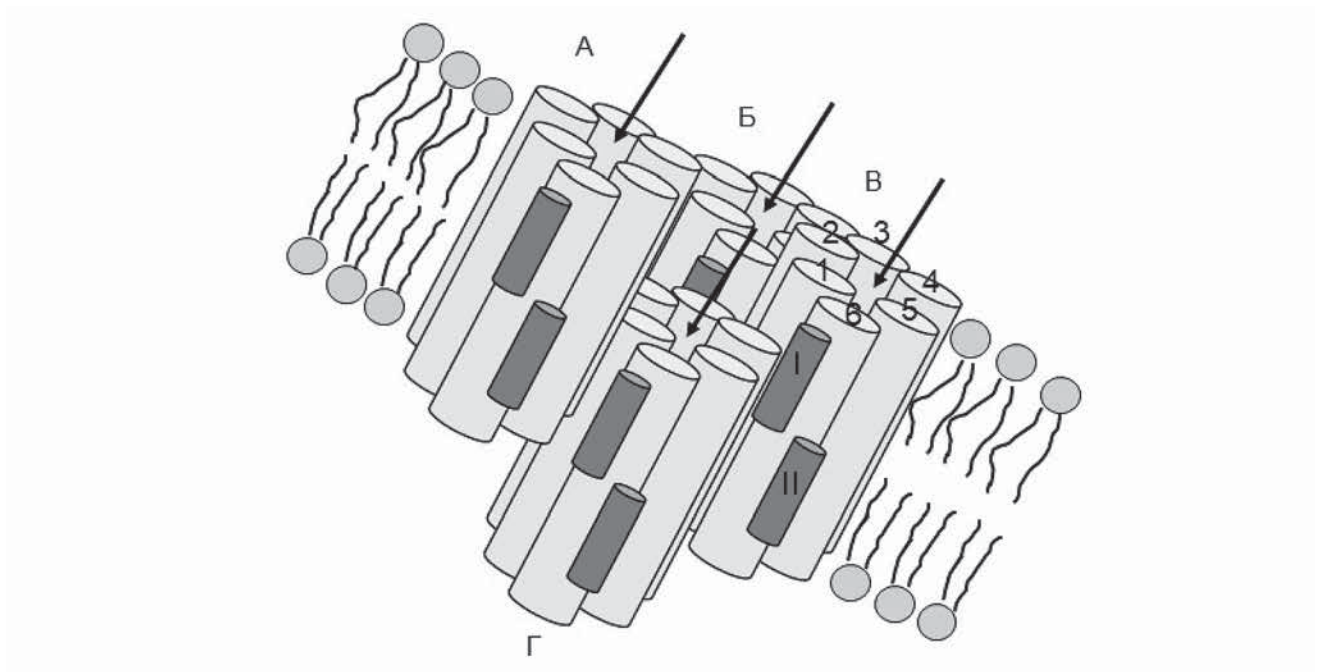


Рис. 1. Общее строение аквапориновых каналов:

А, Б, В, Г — гомологичные субъединицы; 1, 2, 3, 4, 5, 6 — длинные трансмембранные α -спиральные домены; I, II — короткие α -спиральные домены; стрелками указаны водные каналы

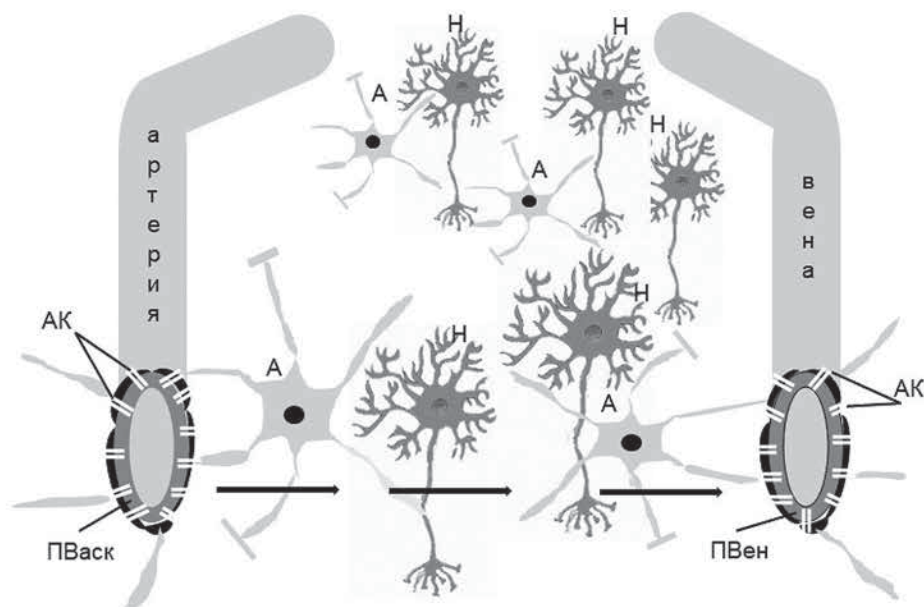


Рис. 2. Принципиальная схема строения глимфатической системы:

А — астроцит; Н — нейрон; АК — аквапориновый канал; ПВаск — параваскулярное пространство; ПВен — паравенозное пространство, стрелками указано направление движения ликвора с растворенными в нем веществами

ных с нокаутом гена аквапорина-4 определялось снижение клиренса амилоида β на 55 % и уменьшение перфузии цереброспинальной жидкости на 65 % [10]. Схема строения глимфатической системы указана на рисунке 2.

Лимфатическая система и головной мозг

К настоящему времени в пределах головного мозга и окружающих его структурах обнаружена сеть лимфатических сосудов, которые, как ранее считалось, отсутствуют в центральной нервной

системе. В частности, с помощью электронной микроскопии в твердой мозговой оболочке были найдены элементы лимфодренажной системы [15]. Кроме того, недавно определена ее топография как у экспериментальных животных, так и у человека. Установлено, что лимфатические сосуды локализованы не только в твердой мозговой оболочке, но также сопровождают венозные синусы, среднюю менингеальную артерию. Выходя через ряд отверстий черепа, они впадают в глубокие шейные лимфатические узлы, тем самым способствуя выведению отдельных веществ из центральной нервной системы. Подтверждением этого факта является обнаружение снижения клиренса макромолекул из тканей головного мозга в шейные лимфатические узлы в эксперименте на трансгенных животных при нарушении развития менингеальных лимфатических сосудов [16–18]. Существует данные, что по крайней мере часть ликвора, смешанного с интерстициальной жидкостью, может выводиться посредством дренажа через эти лимфатические церебральные сосуды. Однако точные механизмы движения жидкости через клеточные элементы стенки этих сосудов продолжают оставаться предметом дискуссии [19].

Роль лимфатической системы в развитии болезни Альцгеймера

С учетом высокой значимости лимфатической системы в элиминации метаболитов из вещества головного мозга было предположено, что нарушение ее активности может являться одним из патогенетических факторов развития нейродегенеративной патологии, в частности болезни Альцгеймера. Среди основных факторов риска ее формирования рассматривается пожилой возраст. При этом проведенными исследованиями было показано, что с возрастом отмечается снижение способности лимфатической системы выводить вещества из головного мозга. В эксперименте на мышах обнаружено достоверное уменьшение у 18-месячных животных проникновения флуоресцентных маркеров как из ликвора в ткань головного мозга при интерстициальном их введении, так и снижение элиминации меченных веществ, введенных в область хвостатого ядра, например амилоида β , по сравнению с молодыми животными в возрасте 2–3 месяцев [20]. Рассматривается несколько возможных причин таких изменений. В частности, с возрастом в головном мозге на фоне ряда метаболических изменений формируется хронический провоспалительный процесс «Inflamm-aging», на фоне которого астроциты способны переходить в активированное состояние и нарушать деятель-

ность лимфатической системы [21–24]. Также отмечается, что при старении уменьшается поляризация аквапорина-4 в сторону ножек астроцитов, формирующих муфту вокруг сосудов, и увеличивается представительство этого белка в клеточной мембране ближе к телу клетки. Естественно, что такое перераспределение ведет к снижению количества образуемых аквапорином-4 каналов, контактирующих с параваскулярным пространством, и способствует уменьшению интенсивности обмена между ликвором, находящимся в нем, и интерстициальной жидкостью [9]. Помимо этого, постепенно, по мере старения организма, происходит уменьшение количества вырабатываемого ликвора и снижение его давления, что также может сказаться на уменьшении интенсивности обмена в пределах лимфатической системы [25, 26]. Кроме того, с возрастом постепенно происходит утолщение внутренней оболочки сосудов и повышение их ригидности. Данные изменения способствуют уменьшению пульсации интракорткальных артериол, обеспечивающей значительную часть притока ликвора по параваскулярным пространствам [20, 26, 27]. Таким образом, в пожилом возрасте формируется несколько вероятных механизмов, провоцирующих нарушение деятельности лимфатической системы.

При посмертном проведении иммуногистохимического исследования мозга пациентов, страдавших при жизни болезнью Альцгеймера, было установлено наличие у них изменений в локализации каналов аквапорина-4, аналогичных изменениям, выявленным в эксперименте. Обнаружено, что с возрастом наблюдается увеличение его экспрессии в головном мозге. Однако у пациентов, не имеющих клинических и гистопатологических признаков болезни Альцгеймера, сохраняется преимущественная периваскулярная (в ножках астроцитов) локализация этого белка. В то же время при формировании нейродегенерации отмечается достоверное снижение содержания аквапорина-4 в астроцитарных муфтах, коррелирующее с накоплением амилоида β [28].

Полученные в настоящее время сведения говорят о том, что лимфатическая система может играть значимую роль в осуществлении функций гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Известно, что ГЭБ представляет собой высокопластичное морфофункциональное образование, в соответствии с классической концепцией включающее три гистогематических барьера: собственно гематоэнцефалический, гематоликворный (ГЛБ) и ликвороэнцефалический (ЛЭБ). При этом к основным его структурным компонентам относятся эндоте-

лиоциты капилляров головного мозга с базальной мембраной, астроциты, своими отростками в виде муфты покрывающие поверхность капилляров (ГЭБ), глия эпиндимы и ее базальная оболочка, поверхностная и субэпиндимальная глиальные мембраны (ЛЭБ), эпителий сосудистых сплетений желудочков мозга (ЛЭБ), элементы мягкой мозговой оболочки, арахноидальная оболочка, синусы твердой мозговой оболочки [29–31]. Таким образом, отдельные элементы глимфатической системы одновременно являются компонентами ГЭБ. Этот факт предопределяет определенную общность их функций.

Проведенными исследованиями было установлено, что с возрастом отмечается повышение проницаемости ГЭБ, что приводит к нарушению его защитной и регуляторной функциональных составляющих. При этом обнаружена определенная взаимосвязь между нарушением работы барьерных механизмов в области гиппокампа и развитием синдрома умеренных когнитивных нарушений. Значимая роль в формировании этого процесса принадлежит повреждению перicyтов капилляров [32]. Также в ряде работ выявлено увеличение альбуминового индекса у пациентов с болезнью Альцгеймера, в особенности имеющих сосудистые факторы риска, что говорит о нарушении защитной функции ГЭБ [33]. Одной из ключевых гипотез патогенеза болезни Альцгеймера является гипотеза амилоидного каскада. Существенная роль в ней отводится повышению образования нейротоксичного нерастворимого β -амилоида, с одной стороны, и нарушению его выведения за пределы головного мозга, с другой стороны. Однако остается до конца неясным, является ли накопление β -амилоида фактором, провоцирующим дисфункцию ГЭБ, или этот процесс является вторичным по отношению к развивающемуся нарушению работы барьера.

Другим значимым компонентом нейродегенерации при болезни Альцгеймера является формирование внутриклеточных нейрофибриллярных сплетений, в которых в качестве основного компонента выступает ассоциированный с нейрональными микротрубочками гиперфосфорилированный τ -протеин. Полученные за последнее время данные показывают, что межклеточное пространство, состав которого регулируется деятельностью глимфатической системы, может принимать активное участие в процессе нейрон-нейронального прогрессирования тау-патологии [34, 35]. При этом исследования с применением пассивной иммунизации анти-тау антителами продемонстрировали высокую вероятность очищения головного мозга от τ -протеина посредством периферических механизмов элими-

нации через глиальные элементы [36]. Также в эксперименте с помощью применения МРТ с динамическим контрастированием было определено, что глимфатическая система способствует удалению τ -протеин из головного мозга, однако эта функция в значительной степени нарушается на фоне моделирования болезни Альцгеймера. Кроме того, фармакологическая блокада рецепторов аквапорина-4 в еще большей степени приводит к снижению клиренса данного белка [37].

Накопленные к настоящему времени данные о способности глимфатической системы обеспечивать клиренс ряда веществ, в частности амилоида β , предопределили попытки исследователей фармакологически воздействовать на этот процесс в рамках терапевтической стратегии болезни Альцгеймера. В частности, в эксперименте и ряде когортных клинических исследований было показано, что назначение селективного ингибитора фосфодиэстеразы III цилостазола, способствующего элиминации амилоида β из тканей головного мозга, оказывая определенный положительный эффект на состояние когнитивных функций. В настоящее время завершается II фаза рандомизированного клинического исследования COMCID по оценке эффективности и безопасности цилостазола у пациентов с умеренными когнитивными нарушениями [38].

Заключение

Таким образом, накопленные в настоящее время данные позволяют говорить о наличии в пределах головного мозга особой морфофункциональной (глимфатической) системы, одной из основных функций которой является поддержание клиренса различных метаболитов. Эта структура имеет некоторые общие компоненты с гематоэнцефалическим барьером и участвует в сохранении гомеостаза внутренней среды центральной нервной системы. Проведенные исследования указывают на то, что нормальная биохимическая активность мозга в значительной степени сохраняется благодаря своевременному выведению из него отдельных метаболитов. В значительной степени это становится возможным благодаря сопряжению глимфатической системы с недавно открытой сетью лимфатических сосудов головного мозга, в которые и реализуется «сброс» химических веществ. При этом имеющиеся в настоящее время сведения указывают на достаточно важную роль нарушения активности глимфатической системы в развитии нейродегенеративной патологии, в частности болезни Альцгеймера, вследствие возможности способствовать накоплению агрегированных форм

β -амилоида и τ -протеина. Учитывая тот факт, что одним из основных патоморфологических критериев болезни Альцгеймера является накопление экстраклеточных амилоидных (сенильных) бляшек, основу которых составляет патологический белок β -амилоид, обнаруживаемый в незначительных концентрациях и в мозге здоровых людей, нормальная работа механизмов, направленных на его удаление из центральной нервной системы, представляется весьма важной с позиций сохранения физиологического когнитивного статуса. Напротив, накопление белка β -амилоида в дальнейшем провоцирует его агрегацию и отложение в виде бляшек, запускающих последующий каскад биохимических реакций, завершающийся гибелью нейронов и развитием деменции. Однако необходимо отметить, что имеющиеся данные о механизмах работы глимфатической системы и регуляции ее функций в настоящее время неполны и достаточно фрагментарны. Заполнение этих пробелов будет способствовать лучшему нашему пониманию патогенеза болезни Альцгеймера и позволит сформировать новую терапевтическую стратегию.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Breslin JW, Yang Y, Scallan JP, et al. Lymphatic vessel network structure and physiology. *Compr Physiol* 2018;9(1):207–299. DOI: 10.1002/cphy.c180015.
2. Cserr HF, Ostrach LH. Bulk flow of interstitial fluid after intracranial injection of Blue Dextran. 2000. *Exp Neurol*. 1974;45(1):50–60. DOI: 10.1016/0014-4886(74)90099-5.
3. Cserr HF, Cooper DN, Suri PK, et al. Efflux of radiolabeled polyethylene glycols and albumin from rat brain. *Am J Physiol*. 1981;240(4):F319–328. DOI: 10.1152/ajprenal.1981.240.4.F319.
4. Szentistvanyi I, Patlak CS, Ellis RA, et al. Drainage of interstitial fluid from different regions of rat brain. *Am J Physiol*. 1984;246(6 Pt 2):F835–844. DOI: 10.1152/ajprenal.1984.246.6.F835.
5. Rennels ML, Gregory TF, Blaumanis OR, et al. Evidence for a 'paravascular' fluid circulation in the mammalian central nervous system, provided by the rapid distribution of tracer protein throughout the brain from the subarachnoid space. *Brain Res*. 1985;326(1):47–63. DOI: 10.1016/0006-8993(85)91383-6.
6. Vasina LV, Vlasov TD, Petrishchev NN. Functional heterogeneity of the endothelium (the review). *Arterial hypertension*. 2017;23(2):88–102. DOI: 10.18705/1607-419X-2017-23-2-88-102. In Russian [Васина Л.В., Власов Т.Д., Петрищев Н.Н. Функциональная гетерогенность эндотелия (обзор). *Артериальная гипертензия*. 2017;23(2):88–102. DOI: 10.18705/1607-419X-2017-23-2-88-102].
7. Babiyants AY, Khananashvili YaA. Cerebral circulation: physiological aspects and modern research methods. *Zhurnal fundamental'noi meditsiny i biologii*. 2018;3:46–54. In Russian [Бабианц А.Я., Хананашвили Я.А. Мозговое кровообращение: физиологические аспекты и современные методы исследования. *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. 2018;3:46–54].
8. Nikolenko VN, Oganessian MV, Yakhno NN, et al. The brain's glymphatic system: physiological anatomy and clinical perspectives. *Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics*. 2018;10(4):94–100. DOI: 10.14412/2074-2711-2018-4-94-100. In Russian [Николенько В.Н., Оганесян М.В., Яхно Н.Н. и др. Глимфатическая система головного мозга: функциональная анатомия и клинические перспективы. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2018;10(4):94–100. DOI: 10.14412/2074-2711-2018-4-94-100].
9. Jessen NA, Munk ASF, Lundgaard I, et al. The glymphatic system – a beginner's guide. *Neurochem Res*. 2015;40(12):2583–2599. DOI: 10.1007/s11064-015-1581-6.
10. Iliff JJ, Wang M, Liao Y, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci Transl Med*. 2012;4(147):147ra111. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003748.
11. Krysova AV, Tsirkin VI, Kunshin AA. Role of aquaporins in transport of water through biological membranes. *Vyatskii meditsinskii vestnik*. 2012;2:50–58. In Russian [Крысова А.В., Циркин В.И., Куншин А.А. Роль аквапоринов в транспорте воды через биологические мембраны. *Вятский медицинский вестник*. 2012;2:50–58].
12. Kondratyev AN, Tsentsiper LM. Glymphatic system of the brain: structure and practical significance. *Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology*. 2019;6:72–80. DOI: 10.17116/anaesthesiology201906172. In Russian [Кондратьев А.Н., Ценципер Л.М. Глимфатическая система мозга: строение и практическая значимость. *Анестезиология и реаниматология*. 2019;6:72–80. DOI: 10.17116/anaesthesiology201906172].
13. Nagelhus EA, Ottersen OP. Physiological roles of aquaporin-4 in brain. *Physiol Rev*. 2013;93(4):1543–1562. DOI: 10.1152/physrev.00011.2013.
14. Wolburg H, Wolburg-Buchholz K, Fallier-Becker P, et al. Structure and functions of aquaporin-4-based orthogonal arrays of particles. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2011;287:1–41. DOI: 10.1016/B978-0-12-386043-9.00001-3.
15. Li J, Zhou J, Shi Y. Scanning electron microscopy of human cerebral meningeal stomata. *Ann Anat*. 1996;178(3):259–261. DOI: 10.1016/S0940-9602(96)80059-8.
16. Aspelund A, Antila S, Proulx ST, et al. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *J Exp Med*. 2015; 212(7):991–999. DOI: 10.1084/jem.20142290.
17. Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*. 2015;523(7560): 337–341. DOI: 10.1038/nature14432.
18. Antila S, Karaman S, Nurmi H, et al. Development and plasticity of meningeal lymphatic vessels. *J Exp Med*. 2017;214(12):3645–3667. DOI: 10.1084/jem.20170391.
19. Raper D, Louveau A, Kipnis J. How do meningeal lymphatic vessels drain the CNS? *Trends Neurosci*. 2016;39(9):581–586. DOI: 10.1016/j.tins.2016.07.001.
20. Kress BT, Iliff JJ, Xia M, et al. Impairment of

paravascular clearance pathways in the aging brain. *Ann Neurol*. 2014;76(6):845–861. DOI: 10.1002/ana.24271.

21. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, et al. Inflammaging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;908:244–254. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x.

22. Cornejo F, von Bernhardi R. Age-dependent changes in the activation and regulation of microglia. *Adv Exp Med Biol*. 2016;949:205–226. DOI: 10.1007/978-3-319-40764-7_10.

23. Simon MJ, Iliff JJ. Regulation of cerebrospinal fluid (CSF) flow in neurodegenerative, neurovascular and neuroinflammatory disease. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1862(3):442–451. DOI: 10.1016/j.bbdis.2015.10.014.

24. Guzman-Martinez L, Maccioni RB, Andrade V, et al. Neuroinflammation as a common feature of neurodegenerative disorders. *Front Pharmacol*. 2019;10:1008. DOI: 10.3389/fphar.2019.01008.

25. Chen RL, Kassem NA, Redzic ZB, et al. Age-related changes in choroid plexus and blood-cerebrospinal fluid barrier function in the sheep. *Exp Gerontol*. 2009;44(4):289–296. DOI: 10.1016/j.exger.2008.12.004.

26. Fleischman D, Berdahl JP, Zaydlarova J. Cerebrospinal fluid pressure decreases with older age. *PLoS One*. 2012;7(12):e52664. DOI: 10.1371/journal.pone.0052664

27. Iliff JJ, Wang M, Zeppenfeld DM, et al. Cerebral arterial pulsation drives paravascular CSF-interstitial fluid exchange in the murine brain. *J Neurosci*. 2013;33(46):18190–18199. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1592-13.2013.

28. Zeppenfeld DM, Simon M, Haswell JD, et al. Association of perivascular localization of aquaporin-4 with cognition and Alzheimer disease in aging brains. *JAMA Neurol*. 2017;74(1):91–99. DOI: 10.1001/jamaneurol.2016.4370.

29. Demina TL, Boiko AN, Chekhonin VP, et al. Blood-brain barrier. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 1999;99(8):57–62. In Russian [Демина Т.Л., Бойко А.Н., Чехонин В.П. и др. Гематоэнцефалический барьер. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 1999;99(8):57–62].

30. Bradbury M. The concept of a blood-brain barrier. London: John Wiley & Sons, 1983. 480 p. [Russ. transl.: Бредбери М. Концепция гемато-энцефалического барьера. М.: Медицина, 1983. 480 с.].

31. Vorob'ev SV, Savicheva AM, Shalepo KV, et al. Metody laboratornoi diagnostiki bakterial'nykh meningitov (meningo-ehntsefalitov). SPb.: SPBGPMU, 2020. 24 p. In Russian [Воробьев С.В., Савичева А.М., Шалепов К.В. и др. Методы лабораторной диагностики бактериальных менингитов (менинго-энцефалитов). СПб.: СПб-ГПМУ, 2020. 24 с.].

32. Montagne A, Barnes SR, Sweeney MD, et al. Blood-brain barrier breakdown in the aging human hippocampus. *Neuron*. 2015;85(2):296–302. DOI: 10.1016/j.neuron.2014.12.032.

33. Bowman GL, Kaye JA, Quinn JF. Dyslipidemia and blood-brain barrier integrity in Alzheimer's disease. *Curr Gerontol Geriatr Res*. 2012;2012:184042. DOI:10.1155/2012/184042.

34. Medina M, Avila J. The role of extracellular Tau in the spreading of neurofibrillary pathology. *Front Cell Neurosci*. 2014;8:113. DOI: 10.3389/fncel.2014.00113.

35. Lewis J, Dickson DW. Propagation of tau

pathology: hypotheses, discoveries, and yet unresolved questions from experimental and human brain studies. *Acta Neuropathol*. 2016;131(1):27–48. DOI: 10.1007/s00401-015-1507-z.

36. Castillo-Carranza DL, Sengupta U, Guerrero-Muñoz MJ, et al. Passive immunization with Tau oligomer monoclonal antibody reverses tauopathy phenotypes without affecting hyperphosphorylated neurofibrillary tangles. *J Neurosci*. 2014;34(12):4260–4272. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3192-13.2014.

37. Harrison IF, Ismail O, Machhada A, et al. Impaired glymphatic function and clearance of tau in an Alzheimer's disease model. *Brain*. 2020;143(8):2576–2593. DOI: 10.1093/brain/awaa179.

38. Saito S, Yamamoto Y, Ihara M. Development of a multicomponent intervention to prevent Alzheimer's disease. *Front Neurol*. 2019;10:490. DOI: 10.3389/fneur.2019.00490.

Информация об авторах:

Воробьев Сергей Владимирович, д.м.н., главный научный сотрудник НИЛ неврологии и нейрореабилитации, РНХИ им. проф. А.Л. Поленова — филиала НМИЦ им. В.А. Алмазова, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ФП и ДПО СПбГПМУ;

Янишевский Станислав Николаевич, д.м.н., заведующий лабораторией НИЛ неврологии и нейрореабилитации, РНХИ им. проф. А. Л. Поленова — филиала НМИЦ им. В. А. Алмазова.

Author information:

Vorob'ev Sergey V., MD, Dr. Sci., Chief Researcher, Research Laboratory of Neurology and Neurorehabilitation, Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery — branch of Almazov National Medical Research Centre, prof. department of clinical and laboratory diagnostics, Saint-Petersburg State Pediatric Medical University;

Yanishevskij Stanislav N., MD, Dr. Sci., Head of Laboratory, Research Laboratory of Neurology and Neurorehabilitation, Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery — branch of Almazov National Medical Research Centre.

ЭПИЛЕПСИЯ И COVID-19: ПРЕДИКТОРЫ ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО ИСХОДА У ПАЦИЕНТОВ С ЭПИЛЕПСИЕЙ (НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА КЛИНИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ)

Одинцова Г. В., Банникова В. Д.

Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт имени профессора А. Л. Поленова — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Одинцова Галина Вячеславовна,
РНХИ им. проф. А. Л. Поленова —
филиал ФГБУ «НМИЦ им.
В. А. Алмазова» Минздрава России,
ул. Маяковского, д. 12, Санкт-Петербург,
Россия, 191014.
E-mail: epipik@ya.ru

Статья поступила в редакцию 11.02.2021
и принята к печати 18.06.2021.

Резюме

Актуальность. Многие пациенты с неврологическими заболеваниями имеют повышенный риск заражения и тяжелого течения COVID-19. Недостаточно исследуются предикторы положительной динамики эпилепсии на фоне перенесенной новой коронавирусной инфекции.

Цель работы — изучить предикторы положительного исхода COVID-19 у пациентов с эпилепсией на основе анализа клинического наблюдения

Материалы и методы. Дизайн исследования — работа является частью проспективного наблюдательного исследования динамики эпилепсии у пациентов, перенесших COVID-19.

Результаты. Приведенное клиническое наблюдение демонстрирует положительный исход COVID-19 у молодого пациента, страдающего генетической генерализованной эпилепсией с сохранением клинко-электроэнцефалографической ремиссии приступов на монотерапии антиэпилептическими препаратами новейшего поколения (бриварацетам).

Заключение. Предикторами положительного течения эпилепсии на фоне COVID-19 можно считать молодой возраст пациентов, отсутствие коморбидной соматической патологии, ремиссию приступов, применение современных препаратов с отсутствием межлекарственного взаимодействия с антибиотиками и противовирусными средствами, применяемыми при лечении COVID-19.

Несмотря на обнадеживающие данные по благоприятному течению эпилепсии при заболевании COVID-19, необходимо продолжение исследований.

Ключевые слова: антиэпилептические препараты, пандемия, приступы, эпилепсия, COVID-19.

Для цитирования: Одинцова Г.В., Банникова В.Д. Эпилепсия и COVID-19: предикторы положительного исхода у пациентов с эпилепсией (на основе анализа клинического наблюдения). Трансляционная медицина. 2021;8(3): 22-28. DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-3-22-28

EPILEPSY AND COVID-19: PREDICTORS OF A POSITIVE OUTCOME IN PATIENTS WITH EPILEPSY (BASED ON ANALYSIS OF CLINICAL CASES)

Odintsova G. V., Bannikova V. D.

Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery —
a branch of Almazov National Medical Research Centre,
Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Odintsova Galina V.,
Polenov Neurosurgical Institute,
Mayakovskaya str. 12, Saint Petersburg,
Russia, 191014.
E-mail: epipik@ya.ru

Received 11 February 2021; accepted
18 June 2021.

Abstract

Background. Many patients with neurological disorders have an increased risk of infection and the severe course of COVID-19. Studies on positive predictors of seizure outcomes with the 2019 novel coronavirus disease remain limited.

The objective is to study predictors for positive health outcomes after COVID infection in patients with epilepsy based on analysis of clinical observations.

Design and Methods. Study design - the work is a part of a prospective observational study of seizure dynamics after COVID infection in patients with epilepsy.

Results. The presented clinical observation demonstrates a positive health outcome after COVID infection in a young patient with the genetic generalized epilepsy with sustained clinical and electroencephalographic seizure remission on the next generation AED monotherapy (brivaracetam).

Conclusion. Predictors for positive health outcome after the 2019 novel coronavirus disease in patients with epilepsy include a young age, absence of somatic comorbidities, seizure remission, modern drug use with no interaction among AEDs and antibiotics and antivirals for the coronavirus disease treatment.

Despite the encouraging data on the favourable course of epilepsy in cases of developing COVID-19, further research is needed to continue.

Key words: antiepileptic drugs, COVID-19, epilepsy, pandemic, seizures.

For citation: Odintsova GV, Bannikova VD. Epilepsy and COVID-19: predictors of a positive outcome in patients with epilepsy (based on analysis of clinical cases). Translational Medicine. 2021;8(3): 22-28. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-3-22-28

Список сокращений: полимеразной цепной реакции (ПЦР тонико-клонический приступ (ГТКП) а монотерапии антиэпилептическими препаратами (АЭП)

Введение

Спустя два месяца после возникновения вспышки коронавирусного заболевания, вызванного новым коронавирусом SARS-CoV-2, ВОЗ объявила вспышку COVID-19 пандемией [1]. В условиях пандемии особую актуальность представляет получение сведений о клиническом течении, возможностях диагностики и особенно лечения больных с COVID-19 [2]. Новая коронавирусная инфекция — COVID-19, как показали последние исследования, приводит к вовлечению нервной системы и мышечной системы [3]. На сегодняшний день выделяют три основные группы неврологических осложнений, ассоциированных с COVID-19: симптомы со стороны центральной и периферической нервной системы и повреждение скелетных мышц [4, 5]. Патогномоничным для COVID-19 является наличие цефалгического синдрома, инфекционно-токсической энцефалопатии, гипо-, аносмии и агевзии, что важно учитывать у пациентов с эпилепсией, перенесших COVID-19 [6].

Таким образом, основное внимание исследователей направлено на факторы риска тяжелого течения COVID-19 у пациентов с эпилепсией. Недостаточно исследуются предикторы положительной динамики эпилепсии на фоне перенесенной новой коронавирусной инфекции. Большинство исследований динамики эпилепсии при заболевании пациентов коронавирусной инфекцией являются телефонными интервью и относятся к исследованию изменения приступов при COVID-19. В такой ситуации особый интерес представляют клинко-электроэнцефалографические данные пациентов с эпилепсией после перенесенной новой коронавирусной инфекции.

Цель работы — определить предикторы положительного исхода COVID-19 у пациентов с эпилепсией на основе анализа клинического наблюдения динамики течения генетической генерализованной эпилепсии при новой коронавирусной инфекции.

Материалы и методы

Дизайн исследования — работа является частью проспективного наблюдательного исследования динамики эпилепсии у пациентов, перенесших COVID-19. Предметом исследования являлись показатели частоты приступов, сохранения ремиссии

эпилепсии после COVID-19, динамика электроэнцефалографических результатов. Предикторы положительного исхода COVID-19 при эпилепсии были выделены на примере клинического наблюдения преобладающего течения эпилепсии на фоне COVID-19.

Результаты

Клинический пример. Пациент Н., 20 лет, 2000 г.р., страдает эпилепсией 4 года, дебют заболевания в 2016 г. Пациент наблюдается с диагнозом: генетическая (идиопатическая) генерализованная эпилепсия с генерализованными тонико-клоническими приступами пробуждения, ремиссия приступов (G40.3). С 2018 г. постоянно проживает в США. Два раза в год проходит контрольные обследования в России во время приездов к матери.

Во время последнего визита в Санкт-Петербург перенес новую коронавирусную инфекцию в октябре 2020 г. Из анамнеза известно, что заболел остро с появлением слабости, подъема температуры до 37,4 °С. В клинической картине отмечался кашель без одышки, субфебрильная температура в течение 3 дней. Десатурации не отмечалось, оксигенация держалась на уровне 97 %. С помощью молекулярно-генетического исследования методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в мазке слизистой оболочки носоглотки и ротоглотки была выделена РНК вируса SARS-CoV-2. По данным лучевого обследования органов грудной клетки изменения в легких с явлениями вирусной пневмонии не выявлено. Лечился амбулаторно. Получал противовирусное лечение (арбидол, ингавирин), симптоматическую терапию. Антибактериальная терапия не проводилась. На 10 день заболевания взяты контрольные анализы: исследование методом ПЦР в мазке слизистой оболочки носоглотки и ротоглотки на РНК вируса SARS-CoV-2 — результат отрицательный.

До настоящего времени респираторными инфекциями болел редко, аллергический анамнез неотягощен. Сопутствующей соматической патологии нет.

Анамнез жизни. Ребенок от 5 беременности, протекавшей без особенностей. Роды 2 на сроке 40 недель, физиологические. Масса при рождении 3350 г, рост 51 см, окружность головы 34 см, оценка по шкале Апгар 8/8б. Выписан на 5 сутки, период новорожденности протекал без особенностей. Неврологом в дошкольном возрасте наблюдался по поводу заикания. Профессионально занимался футболом. Травмы: в мае 2016 г. получил удар по голове футбольным мячом; отмечалась головная боль, слабость. Госпитализирован в Детскую го-

родскую больницу № 19 с диагнозом: ушиб мягких тканей лица. Нейроинфекции, операции отрицает. Детские инфекции: ветряная оспа. Наследственность: у матери мигрень. Окончил среднюю школу в РФ. Проживает и учится в колледже в США.

Анамнез заболевания эпилепсией. Первый неспровоцированный генерализованный тонико-клонический приступ (ГТКП) в мае 2016 г. Был госпитализирован в Детскую городскую больницу Святой Ольги с впервые возникшим ГТКП. Обследован, МРТ головного мозга: киста шишковидной железы, ЭЭГ: фоновая ЭЭГ норма. Эпилептиформная активность не регистрируется. Диагноз при выписке: однократный судорожный приступ.

Повторная госпитализация в июне 2016 г. с повторным ГТКП во время ночного сна, с фиксацией взгляда, тризмом жевательной мускулатуры, пеной изо рта; длительностью до 10 минут, «выход» самостоятельный. Постприступная оглушенность, амнезия, шаткость походки после приступа. Диагноз при выписке: криптогенная эпилепсия (ювенильная фотосенситивная эпилепсия, синдром Янца)? В стационаре начато лечение антиэпилептическими препаратами (АЭП), введен депакин хроно 750 мг/с. На фоне проводимой терапии до марта 2017 г. семь генерализованных приступов. Из побочных явлений антиэпилептической терапии — снижение успеваемости в школе. Исследование органов брюшной полости: увеличение размеров печени.

При обращении к эпилептологу в марте 2017 г. проведена смена антиэпилептической терапии с вводом леветирацетама (LEV) в суточной дозировке 2000 мг/с. Через 4 месяца повторный ГТКП. Суточная дозировка LEV увеличена до 2500 мг/с. Достигнута клиническая ремиссия с июня 2017 г. без электроэнцефалографической ремиссии, что потребовало в терапии перехода в июле 2019 г. на политерапию: LEV 1000мг/сутки и ввод бриварацетама (BRV) 200 мг/с. Получена полная редукция эпилептиформной активности на ЭЭГ и запланирован переход на монотерапию BRV с учетом разрешения применения препарата в монотерапии в США, месте постоянного проживания. Прием LEV постепенно закончен в ноябре 2020 г.

Клинический статус пациента оценен на приеме в октябре за неделю до заболевания COVID-19. Состояние удовлетворительное. Сознание ясное, по шкале Глазго — 15 баллов. Кожа и слизистые покровы обычной окраски и влажности без патологических высыпаний. Периферические лимфоузлы не увеличены. АД — 120/70 мм рт. ст.; частота сердечных сокращений — 70 ударов в минуту, частота дыхания — 21 в минуту. Дыхание с двух сторон везикулярное. Живот мягкий, безболезненный при пальпации. Физиологические отправления в норме.

Обследования. Тестирование по Госпитальной шкале тревоги и депрессии не выявило нарушений в эмоциональной сфере. Плановое и контрольное

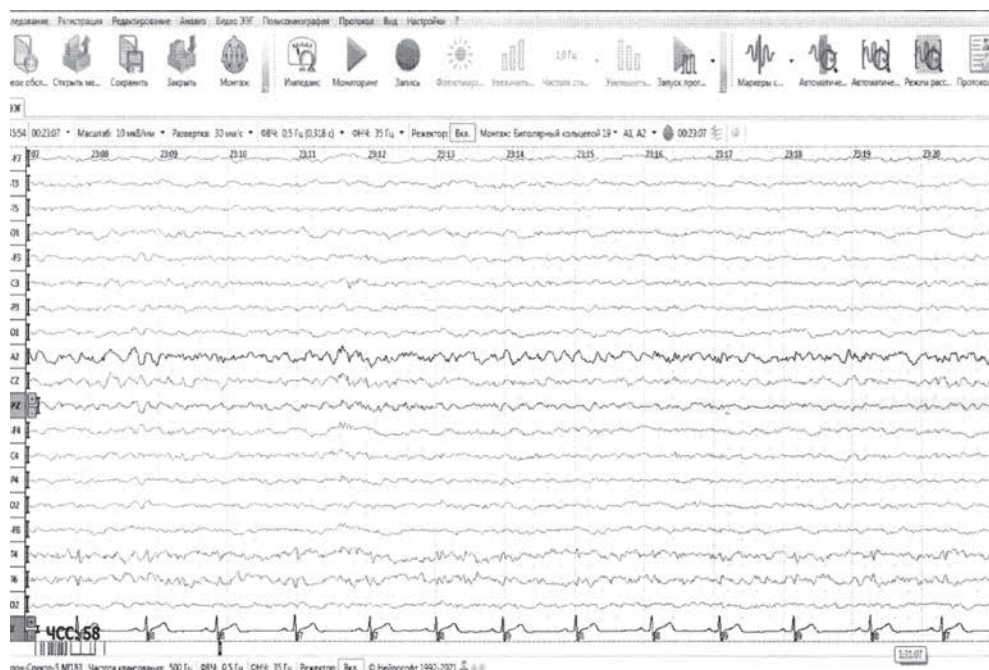


Рис. 1. ЭЭГ через 2 месяца после перенесенного COVID-19.

Заключение: Легкое нарушение биоэлектрической активности мозга в виде умеренного повышения восходящих синхронизирующих влияний ретикулярной формации ствола головного мозга, эпилептиформной и очаговой корковой активности не выявлено

ЭЭГ обследования проведены в октябре 2020 г., до заболевания COVID-19 и после болезни в январе 2021 г. Электроэнцефалографическая ремиссия сохранилась. Эпилептиформной активности не выявлено (рис. 1)

Таким образом, у пациента с генерализованной генетической эпилепсией сохранилась клинко-электроэнцефалографическая ремиссия во время и после болезни COVID-19.

Обсуждение

Приведенное клиническое наблюдение демонстрирует положительный исход COVID-19 у молодого пациента, страдающего генетической генерализованной эпилепсией с сохранением ремиссии приступов на монотерапии АЭП новейшего поколения. В мировой литературе имеются данные о благоприятном течении эпилепсии у пациентов, перенесших COVID-19. Vohora D, et al. (2020) сообщают, что риск развития судорог, связанных с COVID-19, может быть относительно низким, за исключением пациентов в критическом состоянии и пациентов в терминальной стадии [7]. Заболеваемость COVID-19 пациентов с эпилепсией не превышает популяционную. По данным Granata T, et al. (2020), из 5700 человек с эпилепсией, наблюдаемых в эпилептологических центрах Испании и Италии, только у 14 пациентов выявлен положительный результат на SARS-CoV-2, при этом не отмечено отрицательного воздействия на течение эпилепсии [8].

Однако необходимо учитывать особенности при лечении пациентов с эпилепсией. Мосолов С.Н. рекомендует в психофармакотерапии пациентов с COVID-19 использовать препараты с минимально выраженным побочным действием, особенно на дыхательную функцию [9]. Российская противоэпилептическая Лига своевременно отреагировала на пандемию, опубликовав статью «Эпилепсия и COVID-19. Тактика и лечение. Рекомендации Российской Противоэпилептической Лиги» с рекомендациями по профилактике основных рисков при заболевании и лечении COVID-19 у пациентов с эпилепсией [10]. По данным обзора Ридер Ф.К. с соавт. к основным принципам ведения пациентов с эпилепсией в период пандемии COVID-19 относятся: соблюдение режима, непрерывный прием АЭП, при необходимости перевод пациентов на внутривенные формы [11]. Выделенные при анализе клинического наблюдения предикторы положительного течения эпилепсии подтверждаются данными проводимых в мире исследований. Молодой возраст относится к факторам благоприятного течения эпилепсии на фоне новой корона-

вирусной инфекции. Возможно, именно преобладание пациентов молодого возраста при эпилепсии является также причиной низкой заболеваемости COVID-19 пациентов с эпилепсией. Fonseca E. et al. (2020) приводят данные о 5 пациентах, заболевших COVID-19, из 255 респондентов, страдающих эпилепсией, что составило 2 % [12].

Отсутствие сопутствующих заболеваний в молодом возрасте является также положительным прогностическим признаком. Safdarian AR, et al. (2021) приводят данные о повышенной заболеваемости, быстром прогрессировании и плохом прогнозе COVID-19 у пациентов с сопутствующими заболеваниями, такими как сахарный диабет [13].

Ремиссию приступов можно отнести к факторам благоприятного течения эпилепсии при заболевании COVID-19. По данным американских авторов, Rosengard JL, et al. (2021), во время пандемии COVID-19 75,1 % не сообщили о значимом изменении контроля над приступами, 7,3 % пациентов сообщили об улучшении, тогда как 17,5 % сообщили, что их контроль над приступами ухудшился [14].

Не менее важным благоприятным прогностическим фактором является применение современных препаратов с отсутствием межлекарственного взаимодействия с антибиотиками и противовирусными средствами, применяемыми при лечении COVID-19. За последние 25 лет появилось 15 новых АЭП, которые по сравнению с предыдущими имеют преимущества переносимости, в том числе в ситуации межлекарственного взаимодействия. Это касается и нежелательных явлений, которые являются наиболее значимыми причинами снижения эффективности лечения при эпилепсии. BRV по сравнению с LEV имеет лучшие показатели растворимости в воде и липофильности, проницаемости через клеточные мембраны и, как результат, лучшую проницаемость через гематоэнцефалический барьер [15]. Данный случай демонстрирует эффективность BRV в достижении клинко-электроэнцефалографической ремиссии при генерализованных приступах.

Однако прогноз у пациентов с неврологическими осложнениями при COVID-19 остается неясным. В долгосрочной перспективе COVID-19 способствует усилению нейродегенеративных изменений, что требует не только особых программ неврологической реабилитации, но и осторожности в плане развития эпилепсии в перспективе [16]. В зоне особого интереса остаются пациенты с фармакорезистентной эпилепсией со структурными изменениями, оперированные по поводу эпилепсии, с эпилептическим статусом в анамнезе с учетом сочетания рисков и прогноза тяжелого те-

чения COVID-19, что требует дальнейших исследований [17–18].

Заключение

Таким образом, предикторами положительно-го течения эпилепсии на фоне COVID-19 можно считать молодой возраст пациентов, отсутствие коморбидной соматической патологии, ремиссию приступов, применение современных препаратов с отсутствием межлекарственного взаимодействия с антибиотиками и противовирусными средствами, применяемыми при лечении COVID-19.

Несмотря на обнадеживающие данные по благоприятному течению эпилепсии при заболевании COVID-19, необходимо продолжение исследований.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Huang S, Wu Ch, Jia Yu, et al. COVID-19 outbreak: The impact of stress on seizures in patients with epilepsy // *Epilepsia*. 2020. T. 61. № 9. С. 1884–1893.
2. Starshinova AA, Kushnareva EA, Kudlay DA, et al. Prospects for a COVID-19 treatment: review. *Translational Medicine*. 2020;7(3):30–37. DOI: 10.18705/2311-4495-2020-7-3-30-37. In Russian [Старшинова А.А., Кушнарева Е.А., Кудлай Д.А. и др. Возможности лечения больных с COVID-19: анализ данных литературы. Трансляционная медицина. 2020;7(3):30–37. DOI: 10.18705/2311-4495-2020-7-3-30-37].
3. Gusev EI, Martynov MYu, Boyko AN, et al. Novel coronavirus infection (COVID-19) and nervous system involvement: pathogenesis, clinical manifestations, organization of neurological care. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2020;120(6):7–16. DOI: 10.17116/jnevro20201200617. In Russian [Гусев Е.И., Мартынов М.Ю., Бойко А.Н. и др. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) и поражение нервной системы: механизмы неврологических расстройств, клинические проявления, организация неврологической помощи. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020;120(6):7–16. DOI: 10.17116/jnevro20201200617].
4. Kutlubayev MA. Clinical and pathogenetic aspects of nervous system impairments in COVID-19. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2020;120(9):130–136. DOI: 10.17116/jnevro2020120091130. In Russian [Кутлубаев М.А. Клинико-патогенетические особенности поражения нервной системы при COVID-19. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020;120(9):130–136. DOI: 10.17116/jnevro2020120091130].
5. Ternovyyh IK, Topuzova MP, Chaykovskaya AD, et al. Neurological manifestations and complications in patients with COVID-19. *Translational Medicine*. 2020;7(3):21–29. DOI: 10.18705/2311-4495-2020-7-3-21-29. In Russian [Терновых И.К., Топузова М.П., Чайковская А.Д. и др.

Неврологические проявления и осложнения у пациентов с COVID-19. Трансляционная медицина. 2020;7(3):21–29. DOI: 10.18705/2311-4495-2020-7-3-21-29].

6. Kholin AA, Zavadenko NN, Nesterovskiy YuE, et al. Features of neurological manifestations of the COVID-19 in children and adults. Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova. 2020;120(9):114–120. DOI: 10.17116/jnevro2020120091114. In Russian [Холин А.А., Заваденко Н.Н., Нестеровский Ю.Е. и др. Особенности неврологических проявлений COVID-19 у детей и взрослых. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020;120(9):114–120. DOI: 10.17116/jnevro2020120091114].
7. Vohora D, Jain S, Tripathi M, et al. COVID-19 and seizures: Is there a link? Epilepsia. 2020;61(9):1840–1853. DOI: 10.1111/epi.16656.
8. Granata T, Bisulli F, Arzimanoglou A, et al. Did the COVID-19 pandemic silence the needs of people with epilepsy? Epileptic Disord. 2020;22(4):439–442. DOI: 10.1684/epd.2020.1175.
9. Mosolov SN. Problems of mental health in the situation of COVID-19 pandemic. Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova. 2020;120(5):7–15. DOI: 10.17116/jnevro20201200517. In Russian [Мосолов С.Н. Проблемы психического здоровья в условиях пандемии COVID-19. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020;120(5):7–15. DOI: 10.17116/jnevro20201200517].
10. Karlov VA, Burd SG, Lebedeva AV, et al. Epilepsy and COVID-19. Tactic and treatment. Recommendations of Russian League against epilepsy. Epilepsy and paroxysmal conditions. 2020;12(1):84–88. DOI: 10.17749/2077-8333.2020.12.1.84-88. In Russian [Карлов В.А., Бурд С.Г., Лебедева А.В. и др. Эпилепсия и COVID-19. Тактика и лечение. Рекомендации Российской противозлепептической лиги. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2020;12(1):84–88. DOI: 10.17749/2077-8333.2020.12.1.84-88].
11. Rider FK, Lebedeva AV, Mkrtchyan VR, et al. Epilepsy and COVID-19: patient management and optimization of antiepileptic therapy during pandemic. Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova. 2020;120(10):100–107. DOI: 10.17116/jnevro2020120101100. In Russian [Ридер Ф.К., Лебедева А.В., Мкртчян В.Р. и др. Эпилепсия и COVID-19: ведение больных и оптимизация противозлепептической терапии в условиях пандемии. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020;120(10):100–107. DOI: 10.17116/jnevro2020120101100].
12. Fonseca E, Quintana M, Lallana S, et al. Epilepsy in time of COVID-19: a survey-based study. Acta Neurol Scand. 2020;142(6):545–554.
13. Safdarian AR, Momenzadeh K, Kahe F, et al. Death due to COVID-19 in a patient with diabetes, epilepsy, and gout comorbidities. Clin Case Reports. 2021;9(1):461–464. DOI: 10.1002/ccr3.3557.
14. Rosengard JL, Donato J, Ferastraoar V, et al. Seizure control, stress, and access to care during the COVID-19 pandemic in New York City: The patient perspective. Epilepsia. 2021;62(1):41–50. DOI: 10.1111/epi.16779.
15. Karlov VA, Vlasov PN, Zhidkova IA, et al. Brivaracetam in the treatment of patients with epilepsy. Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova. 2017;117(9–2):55–62. In Russian [Карлов В.А., Власов П.Н., Жидкова И.А. и др. Бриваракетам в лечении пациентов с эпилепсией. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2017;117(9–2):55–62. DOI: 10.17116/jnevro2017117925562].

П.Н., Жидкова И.А. и др. Бриварацетам в лечении больных эпилепсией. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2017;117(9–2):55–62].

16. Gromova OA, Torshin IYu, Semenov VA, et al. Direct and indirect neurological manifestations of COVID-19. Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova. 2020;120(11):11–21. DOI: 10.17116/jnevro202012011111. In Russian [Громова О.А., Торшин И.Ю., Семенов В.А. и др. О прямых и косвенных неврологических проявлениях COVID-19. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020;120(11):11–21. DOI: 10.17116/jnevro202012011111].

17. Khachatryan RG, Odintsova GV, Don OA, et al. Insular epilepsy etiology: clinical manifestation and management tactics for cerebral cavernous angiomas Kazan medical journal. 2018;99(1):151–157. DOI: 10.17816/KMJ2018-151. In Russian [Хачатрян Р.Г., Одинцова Г.В., Дон О.А. и др. Этиология инсулярной эпилепсии: клиническая картина и тактика ведения при церебральных кавернозных ангиомах. Казанский медицинский журнал. 2018;99(1):151–157. DOI: 10.17816/KMJ2018-151.].

18. Shova NI, Mikhailov VA, Odintsova GV, et al. The modern view on the problem of formation of suicidal behavior in patients with a pharmacoresistance form of epilepsy in the postoperative period (review). Translational Medicine. 2019;6(2):5–11. DOI: 10.18705/2311-4495-2019-6-2-5-11. In Russian [Шова Н.И., Михайлов В.А., Одинцова Г.В. и др. Современный взгляд на проблему формирования суицидального поведения у пациентов с фармакорезистентной формой эпилепсии в послеоперационном периоде (литературный обзор). Трансляционная медицина. 2019;6(2):5–11. DOI: 10.18705/2311-4495-2019-6-2-5-11].

Информация об авторах:

Одинцова Галина Вячеславовна, к.м.н., старший научный сотрудник, руководитель НИЛ эпилептологии РНХИ им. проф. А. Л. Поленова — филиала ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Банникова Валентина Дмитриевна, лаборант-исследователь НИЛ эпилептологии РНХИ им. проф. А.Л. Поленова — филиала ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Odintsova Galina V., PhD, Senior Scientist, Head of the Epileptology Laboratory, Polenov Russian Neurosurgical Research Institute — a branch of the Almazov National Medical Research Centre;

Bannikova Valentina D., research technician, Epileptology Laboratory, Polenov Russian Neurosurgical Research Institute — a branch of the Almazov National Medical Research Center.

ISSN 2311-4495
ISSN 2410-5155 (Online)
УДК 616.073.75-6+618.177

ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ МЕТОДОВ ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ В ПЕРИНАТОЛОГИИ

Штенцель Р. Э., Семенова Е. С., Мащенко И. А., Труфанов Г. Е.,
Первунина Т. М., Комличенко Э. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:
Штенцель Регина Эдуардовна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: reginashtentsel@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 27.03.2021
и принята к печати 08.06.2021.

Резюме

Статья посвящена историческим аспектам возникновения и развития методов лучевой диагностики в перинатологии — науке, изучающей перинатальный период и находящейся на стыке двух дисциплин: акушерства и педиатрии. Официальное признание перинатальной медицины в качестве самостоятельного направления произошло в экономически развитых странах в 1976 году (спустя 8 лет после Первого конгресса по перинатологии), когда было создано Европейское научное общество перинатологов. Одной из важнейших задач перинатологии является оценка состояния плода и экстрафетальных структур, к которым относятся плацента, пуповина, плодные оболочки. В рамках развития перинатологии зародились и продолжают активно развиваться новые направления медицинской науки, в том числе и лучевая диагностика. В настоящее время во время беременности из лучевых методов диагностики безопасными и информативными являются ультразвуковой метод и магнитно-резонансная томография. Отдельно в статье рассматривается возникновение и развитие классической рентгенодиагностики. Обращается внимание на современное состояние методов лучевой диагностики при их применении в перинатологии, очередность назначения, показания и противопоказания, преимущества и недостатки. Изучение истории развития лучевой визуализации в перинатологии дает возможность проследить динамику развития данной отрасли, проанализировать этапы становления инструментальных методов исследования во время беременности. Благодаря постоянному развитию техники, большому количеству накопленного опыта в лучевой визуализации при беременности, созданию международных сообществ по диагностике в перинатологии и формированию междисциплинарных подходов для ведения беременности, стало возможным быстро, безопасно и неинвазивно получать информацию о состоянии беременной женщины и плода.

Ключевые слова: исторические аспекты, МРТ, перинатология, рентген, УЗИ.

Для цитирования: Штенцель Р.Э., Семенова Е.С., Мащенко И.А. и др. Исторические аспекты становления и развития методов лучевой диагностики в перинатологии. Трансляционная медицина. 2021;8(3): 29-36. DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-3-29-36

THE HISTORY OF THE FORMATION AND DEVELOPMENT OF METHODS OF RADIATION DIAGNOSTICS IN PERINATOLOGY

Shtentsel R. E., Semenova E. S., Mashchenko I. A., Trufanov G. E.,
Pervunina T. M., Komlichenko E. V.

Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Shtentsel Regina E.,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str. 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: reginashtentsel@yandex.ru

Received 27 March 2021; accepted 08 June 2021.

Abstract

The article is devoted to the historical aspects of the emergence and development of methods of radiology diagnostics in perinatology — a science that studies the perinatal period and is at the junction of two disciplines: obstetrics and pediatrics. The official recognition of perinatal medicine as an independent direction took place in economically developed countries in 1976 (8 years after the first Congress on Perinatology), when the European Scientific Society of Perinatology was created. One of the most important tasks of perinatology is to assess the condition of the fetus and extrafetal structures, which include the placenta, umbilical cord, fetal membranes. As part of the development of perinatology, new areas of medical science have arisen and continue to actively develop, including radiology diagnostics in perinatology. Currently, during pregnancy, from radiology diagnostic methods, ultrasound and magnetic resonance imaging are safe and informative. The emergence and development of classical X-ray diagnostics is considered separately in the article. Attention is drawn to the current state of the methods of radiology diagnostics when used in perinatology, the order of appointment, indications and contraindications, advantages and disadvantages. The study of the history of the development of radiology imaging in perinatology makes it possible to trace the dynamics of the development of this industry, to analyze the stages of the formation of instrumental research methods during pregnancy. Thanks to the constant development of technology, a large amount of accumulated experience in radiology imaging during pregnancy, the creation of international communities for diagnostics in perinatology and the formation of interdisciplinary approaches for the management of pregnancy, it has become possible to quickly, safely and non-invasively receive information about the condition of a pregnant woman and a fetus.

Key words: historical aspects, MRI, perinatology, ultrasound, X-ray

For citation: Shtentsel RE, Semenova ES, Mashchenko IA, et al. The history of the formation and development of methods of radiation diagnostics in perinatology. Translational Medicine. 2021;8(3): 29-36. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-3-29-36

Список сокращений: АФП — альфа-фетопротеин, МРТ — магнитно-резонансная томография, УЗИ — ультразвуковое исследование.

Введение

Перинатология — одна из самых молодых и перспективных медицинских наук, задачами которой являются изучение внутриутробного развития плода, диагностика нарушений и заболеваний, установление причин, определяющих их возникновение, проведение комплекса профилактических и лечебных мероприятий в ante-, intra- и постнатальном периодах.

Рентгенодиагностика в перинатологии

В первые годы после открытия Рентгеном X-лучей ученые из разных стран начали проводить эксперименты на беременных мышах и морских свинках. Лишь после того, как на рентгенограммах беременных экспериментальных животных стали получаться отчетливые изображения скелетов плодов, исследователи стали переносить свои опыты на анатомические препараты удаленной беременной матки женщины.

В 1897 году Benedikt в Вене на заседании гинекологического общества продемонстрировал рентгенограммы двух удаленных маток по поводу миомы и дермоидной кисты с 5- и 6-месячной беременностями, на которых отчетливо были видны скелеты плодов. В дальнейшем опыты по рентгенографии были перенесены на трупы женщин, в брюшную полость которых помещались трупы новорожденных.

Впервые рентгенологический метод для исследования женщин с целью диагностики беременности был применен американским акушером-гинекологом Edvard Parker Davis (1896) и немецким рентгенологом Max Levy-Dorn (1897). Им удалось получить на рентгенограммах слабые тени отдельных частей скелета плода [1]. В 1899 году Varnier получил отчетливое изображение головки плода [2].

Первая отечественная диссертация, посвященная изучению диагностической ценности рентгеновских лучей для распознавания беременности, была опубликована в 1903 году Н. В. Гржибовским. Автор указал, что отчетливость изображения скелета плода зависит от толщины материнских тканей, расстояния плода от пленки, наличия околоплодных вод [3].

Развитие техники и совершенствование аппаратуры были направлены на получение более жестких лучей, на их фильтрацию, а также на сокращение времени экспозиции и отработку рациональной укладки беременной. И в 1910 году Fabre, Barjau,

Trillat и др. предложили укладывать беременную при исследовании на живот, что давало возможность приблизить плод к пленке и получить более четкое его изображение [4].

В 20-х годах XX века немецкий ученый Warnekros с помощью рентгенографии изучал механизм родового акта, а также процессы отделения и выделения последа. Он же определил типичные изменения отдельных частей плода в процессе родового акта. Работы Warnekros имели большое значение для развития рентгенологии в акушерстве [5].

В 1925 году Carlos Heuser выпускает первую работу по использованию рентгеноконтрастного препарата липиодола (йодолипола) во время беременности с целью ранней диагностики беременности и для оценки проходимости маточных труб при бесплодии [6].

В 1926 году С. А. Рейнберг и О. И. Ариштам проводили гистеросальпингографию с целью дифференциальной диагностики между беременностью ранних сроков и субмукозной миомой матки.

В дальнейшем внимание исследователей было сосредоточено на проблеме определения зрелости плода и новорожденного, для чего рядом исследователей (Д. Г. Рохлин и Р. Г. Лурье, 1933; Е. Я. Ставская, 1949; Nuvoli, Tata, 1935; Sievers, 1959; Schimpf, 1959; Morracki, 1960; Sato, 1961 и др.) были изучены наличие и величины ядер окостенения. Другие исследователи для диагностики зрелости и переносимости внутриутробного плода при помощи рентгенологического метода исследования измеряли различные размеры головки плода, а также его длины в полости матки (Wegrad, 1937; Thoms, 1941; Andrias, 1950; Fagerberg, Roonemaa, 1959).

Многие ученые начала XX века сообщали о пренатальной диагностике врожденных пороков развития плода рентгенологическим методом — выявляли анэнцефалию, гидроцефалию, менингоцеле, врожденные пороки развития конечностей [4, 7, 8].

В середине XX века стали появляться более крупные исследования о влиянии рентгеновского излучения на развитие плода. Russel (1952–1956) выпускает работы, в которых представляет доказательства зависимости времени, дозы облучения и возникновения неблагоприятных последствий для плода: чем раньше на этапе эмбрионального развития произойдет воздействие рентгеновских лучей на плод, тем выше вероятность тератогенного эффекта на ткани плода — он указывает, что период со 2 по 6 неделю гестационного развития является особенно чувствительным ко внешним воздействиям [7].

В 1957 году Международная комиссия по радиационной защите выпускает рекомендации по использованию рентгеновского излучения в период беременности: беременной женщине не рекомендуется подвергаться воздействию рентген-лучей [7]. Также к 1960 году в работах многих авторов стали появляться предложения выполнять рентгенологические исследования женщинам фертильного возраста только в первые 10 дней после регулярных менструаций или только по неотложным медицинским показаниям для предотвращения тератогенного воздействия ионизирующего излучения на плод [7].

В отечественной литературе имеется значительно меньше работ, посвященных рентгенологическому исследованию беременных, плодов и новорожденных. Первые рентгеноанатомические исследования скелета новорожденного были произведены в России В. Н. Тонковым, который на заседании Санкт-Петербургского антропологического общества уже в 1896 году выступил с докладом о применении лучей Рентгена для изучения роста скелета. Значительно позже появились работы, посвященные описанию рентгенологической картины скелета новорожденного в норме и патологии. В 1932 году И. Ч. Скржинская и Е. С. Павлова опубликовали статью о значении ядер окостенения как признака зрелости новорожденного. Д. Г. Рохлин и Р. Г. Лурье в 1933 году описали особенности окостенения голени и стопы у новорожденного. В 1934–1939 годах были опубликованы работы В. О. Маркса и З. И. Шнейдерова, касающиеся рентгенодиагностики врожденного вывиха бедра у новорожденных. Рентгеновая симптоматология врожденного сифилиса у новорожденных была освещена в работах М. М. Райц, Г. П. Назаришвили, В. Г. Панова и Э. И. Раутенштейн. Рентгенологическую картину врожденных аномалий позвоночника у детей первых дней жизни описал В. А. Дьяченко (1949). Рентгенодиагностика заболеваний органов грудной клетки у новорожденных впервые была отражена в работах Ю. И. Аркуского, Л. А. Дашевской, О. Л. Цимбал [3].

Ультразвуковой метод в перинатологии

Начало использования ультразвукового метода в акушерстве и гинекологии было положено в 1955 году с изобретением трансвагинального датчика учеными Wild и Reid.

Первые работы по использованию ультразвука в перинатологии были проведены в 1959 году Яном Дональдом. Он обнаружил, что от головы плода можно получить четкое эхо и впервые применил УЗ-метод для измерения головы плода (бипариетальный размер) для оценки его размеров и роста.

В 1964 году Стюарт Кэмпбелл усовершенствовал методику измерения плода, и цефалометрия плода стала стандартным методом диагностики на многие годы. Параллельно с помощью ультразвука в Англии стали изучать беременность с ранних сроков и до родов, выявлять наличие эмбриона с 5 недель, многоплодную беременность, аномалии плода и предлежание плаценты. Это первое упоминание об исследовании экстрафетальных структур с помощью ультразвукового исследования (УЗИ).

В СССР в начале 60-х годов XX века Н. Д. Селезневой, ученицей известного советского ученого С. Я. Соколова, была опубликована работа по ультразвуковой эхографии в гинекологии, и начиная с 1965 года группа ученых Р. А. Хентов, Р. А. Хестова и И. А. Скорунский выпустили большое количество публикаций по акушерству и гинекологии с использованием А- и В-режимов на отечественных УЗ-аппаратах.

Эффект доплера в акушерстве впервые стал применяться в США. В 1964 году D. A. Callagan применил УЗ-доплер для определения пульсации плода, а в 1965 году описал сердцебиение плода по доплер-сигналам. В 1965 году W. Johnson сообщил о 100 % точности УЗ-доплерографии в обнаружении живого плода на сроке 12 недель на примере 25 клинических наблюдений. В 1966 году E. Bishop сообщил об успешном определении локализации плаценты с помощью доплер-сигналов в третьем триместре беременности. А в 1968 году группа Johnson расширила возможности использования доплера для определения положения плаценты, определив характерный звук «вихря» и «стремительного ветра» плацентарного кровотока. С тех пор доплер стал считаться одним из самых важных инструментов УЗ-диагностики во время беременности.

В 80-х годах XX века наблюдался технический прогресс ультразвуковых диагностических установок: разрабатывались сканеры реального времени различными фирмами с улучшенными акустическими параметрами, более портативные, с новыми преобразователями для улучшения качества изображений, увеличения поля обзора и т. д.

Так как УЗИ стало широкодоступным и популярным методом, оно способствовало реализации программ скрининговых исследований. Первыми из них стали программы скрининга с определением материнского сывороточного альфа-фетопротеина (АФП) для выявления дефектов нервной трубки плода. Это началось в Великобритании в конце 70-х годов XX века. Ученые из Лондона и США в 80-х годах XX века сообщали о связи повышения уровня вначале амниотического, а затем сывороточного АФП у беременных, у которых при УЗИ

были выявлены дефекты нервной трубки плода. К 1984 году скрининг на определение сывороточного АФП стал частью стандартного дородового скрининга в США. Стандартные скрининговые УЗ-исследования во время беременности были введены в Германии в 1980 году, в Норвегии в 1986 году; в Исландии в 1987 году.

Однако появились как сторонники, так и противники рутинных дородовых УЗ-скрининговых программ, в основном из-за сомнений в экономической эффективности и обоснованности улучшения перинатального исхода. В 1997 году были проанализированы два крупных когортных исследования, проведенных в США и Европе, в которых изучалась эффективность рутинной диагностической визуализации с помощью ультразвука. Более 150 ученых и клиницистов пришли к выводу, что рутинное скрининговое УЗ-исследование на сроке 18–22 недели оправдано во всех случаях при условии качественного выполнения.

Скрининг на хромосомные аномалии, особенно синдром Дауна, стал популярен в середине 90-х годов XX века. С 1992 года, благодаря улучшению технических возможностей УЗ-сканнеров, и по настоящее время скрининг на врожденные аномалии плода, в том числе на синдром Дауна, проводится с 11–14 недель беременности.

Во второй половине XX века стала применяться ультразвуковая навигация — при амниоцентезе (1972), фетоскопии (1974), трансабдоминальной биопсии ворсин хориона (1984). В начале 90-х годов во Франции группа ученых сообщила о первом случае гемофилии А, диагностированной внутриутробно с помощью взятия пуповинной крови под контролем ультразвука на 18 неделе беременности. И в 1985 году процедура кордоцентеза прочно вошла в практику.

В 1977 году J. E. Drumm и D. E. Fitz Gerald сообщили о комбинированном использовании непрерывно-волнового доплера и двухмерного статического В-режима сканирования при исследовании пупочной артерии плода. Они предположили, что форма кривых скорости кровотока будет меняться в зависимости от условий, влияющих на эффективность кровоснабжения, и этот метод должен быть полезен при оценке таких состояний, как преэклампсия и задержка внутриутробного развития.

Исследования по использованию доплера в перинатологии позволили к концу 1980-х определить, что кровоток в пупочной вене плода увеличивается с гестационным возрастом, но остается неизменным на килограмм веса плода.

Дальнейшее развитие доплерографии в акушерстве связано с разработкой цветного сканирования

и получением 2D-цветных изображений. В 1983 году K. Namekawa, Ch. Kasai, R. Omoto обозначили ценность цветного сканирования в реальном времени при кардиологическом обследовании. A. Kurjak в 1987 году первым представил применение цветной доплерографии у плода. В этом же году G. Devor включил оценку пороков развития сердца плода методом доплерографии в скрининговое исследование во время беременности. Также к концу 90-х годов цветная доплерография стала упоминаться в диагностике предлежания сосудов пуповины (vasa previa) и определении кровотока в Виллизиевом круге плода.

Трехмерная ультразвуковая диагностика плода впервые была описана K. Vaab в 1989 году. Далее, усовершенствуя методику получения 3D-ультразвуковых изображений, ученым удалось получать объемные снимки, для создания каждого из которых требовалось около 10 минут, что делало исследование непрактичным для рутинной диагностики. Впоследствии стали появляться работы по трехмерному сканированию лица, сердца плода, начали выпускать сканеры с трехмерными трансвагинальными датчиками. В 1995 году E. Merz продемонстрировал преимущества 3D-УЗИ для диагностики расщелины губы и неба плода, сложных множественных пороков развития. В 1996 году K. Vaab опубликовал свой первый опыт обработки трехмерных изображений в реальном времени. С этих пор объемная ультразвуковая диагностика прочно вошла в практику. В 2000 году A. Kurjak опубликовал статью о необходимости использования трехмерной визуализации, которая улучшает оценку сложных анатомических структур, предоставляет возможность объемного измерения органов и скелета плода, трехмерное изучение кровотока и хранение сканированных изображений. Возможность увидеть лицо своего ребенка до рождения привело к развитию коммерциализации 3D-УЗ-исследований.

Подводя итог, можно обозначить следующие важные моменты. До появления оборудования с получением изображений в реальном времени (до 1975 года) в США было всего 5 утвержденных показаний для УЗИ в акушерстве:

1. Измерение бипариетального размера головы плода.
2. Определение объема околоплодных вод.
3. Диагностика невынашивания беременности на ранних сроках.
4. Оценка многоплодия.
5. Локализация плаценты.

С начала 80-х годов XX века показания резко расширились, по крайней мере, до двух десятков,

включая, в первую очередь, точную оценку роста плода и диагностику пороков развития плода.

Наблюдалась постоянная тенденция к увеличению количества различных нормограмм плода при УЗИ: длина бедренной кости, окружности грудной клетки и живота, окружности бедра (1983), длина ключицы (1985), позвоночника (1986), стопы (1987), ширина желудочков головного мозга, камер сердца, размеры почек и их чашечек и т. д., их разработки продолжают до сих пор с исследованием комбинаций параметров.

С момента применения ультразвуковой диагностики имеет место прогрессивное увеличение сообщений о выявлении аномалий плода. Первоначально авторы отмечали, что «простыми» для диагностики аномалиями плода считались анэнцефалия, гидроцефалия, атрезия двенадцатиперстной кишки, водянка плода и дисплазия конечностей. Перед специалистами XX века более «сложными» областями для диагностики пороков развития было лицо и сердце плода. Также начала активно развиваться ультразвуковая диагностика хромосомных аномалий плода.

Доплерография и трехмерная УЗ-визуализация стали стандартными и незаменимыми инструментами в оценке состояния плода. Проведение скрининговых исследований прочно вошли в практику с начала 80-х годов XX века и совершенствуются до сих пор.

Магнитно-резонансная томография в перинатологии

Магнитно-резонансная томография (МРТ) во время беременности была впервые описана в 1983 году в журнале *The Lancet*. F. W. Smith et al. опубликовали короткое сообщение об использовании МРТ у 6 беременных на сроке гестации 12–20 недель, которые поступили в клинику для прерывания беременности. Они оценили межтканевой контраст при МРТ, сопоставили результаты ультразвуковых и МР-исследований этой группы беременных и определили, что ограничением МРТ является невозможность получения срезов в иной плоскости, кроме аксиальной. Авторы также сделали предположение о возможной ценности МРТ для исследования процесса старения плаценты, пельвиметрии и для диагностики преэклампсии [9].

В 1984 году эти же авторы [10] публикуют статью, в которой описывают исследование группы из 15 беременных, которым было выполнена МРТ на аппаратах с напряженностью магнитного поля 0,04 Тл — 6 беременным, и 0,08 Тл — 9 беременным; на последних аппаратах стало возможным получать не только изображения в аксиальной,

но и в сагиттальной и корональной плоскостях. Проводя анализ полученных данных, они оценивают преимущества использования томографа, на котором стало возможным получение изображений в трех плоскостях — это более высокое качество данных и более точное определение размеров и локализации плода и плаценты. Впервые ими также закладываются показания для использования МРТ во время беременности, обсуждается вопрос о том, что МРТ не является «методом замены» УЗИ, а необходимость его использования в акушерстве определяется недостаточностью полученных ультразвуковых данных.

Однако большинство работ по использованию МРТ во время беременности проводилось по материнским показаниям или для исследования плаценты. Так, в статье о МР-пельвиметрии D. Stark et al. (1985) [11] продемонстрировали опыт применения этой методики для оценки соотношения плода и таза беременной и определили ее преимущества перед рентгеновскими методами. Кроме оценки соотношения структур плода и таза матери, авторы параллельно описывают сигнальные характеристики тканей плода, обвитие пуповины вокруг шеи плода в одном случае — это одно из первых упоминаний МР-визуализации пуповины плода.

Исследования плода методом МРТ в 90-х годах XX века ограничивались в основном объемными измерениями, так как качество изображений из-за его движений продолжало оставаться низким и не позволяло детально оценить структуру частей тела и внутренних органов плода [12].

Прогресс в МРТ плода произошел в 1994–1996 годах благодаря появлению высококачественных Т2-быстрых импульсных последовательностей, время сбора данных для получения среза которых составляет менее 1 секунды, что эффективно «замораживает» движение плода [13]. С появлением быстрых последовательностей стали расширяться показания для МРТ во время беременности как для плода, для экстрафетальных структур, так и для будущей матери. Во всем мире ученые стали использовать МРТ для уточнения, подтверждения выявленных на УЗИ патологий плода и плаценты; стали разрабатываться алгоритмы обследования, техника выполнения МРТ в условиях беременности. К концу XX века пренатальная МРТ прочно вошла в акушерскую практику.

С момента первого использования МРТ в перинатологии стали обсуждаться вопросы безопасности метода. Основная часть исследований и результатов о возможных последствиях, которые могут возникнуть после проведения МРТ, были опубликованы в США и Европе. В 1982 году аме-

риканское Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов (англ. Food and Drug Administration, FDA/USFDA) выпустила первое специальное руководство по нормативам оценки риска воздействия электромагнитных волн при испытательных клинических исследованиях с использованием МРТ для всех управлений по клиническим исследованиям при клиниках США.

Было проведено много исследовательских работ о воздействии постоянного магнитного поля на биологические системы и почти все на животных. В 1996 году Pan H. опубликовал результаты исследования, в котором зарегистрировал задержку и снижение скорости вылупления яиц ночной бабочки-совки *Heliothis virescens* при воздействии магнитного поля в 7 Тл [14].

Большинство исследовательских работ с применением МРТ у животных не смогли определить повышение внутриутробной температуры после выполнения ограниченного количества импульсных последовательностей.

В 2002 году и затем в 2004 году Kanal et al. выпускает рекомендации беременным практикующим врачам отделений МРТ: беременным сотрудникам разрешается работать вблизи аппарата МРТ на всех этапах беременности (в том числе укладка пациента в томограф, сканирование, архивирование исследований, введение контрастирующих препаратов, вход в кабинет с работающим томографом при чрезвычайных ситуациях). Однако автор не рекомендует находиться в кабинете с установленным томографом при непосредственном сканировании пациента [15].

С начала 2000-х годов в развитии МРТ как метода произошел переломный момент в виде повышения величины индукции магнитного поля и переноса клинических исследований из низкого (до 1 Тл) в высокое (от 1 до 3 Тл), и в настоящее время — в сверхвысокое магнитное поле (более 3 Тл). Это значительно расширило возможности для клинических МР-исследований за счет улучшения временного разрешения и значительного уменьшения длительности МРТ, а также дало возможности для применения новых МР-методик, таких как МР-перфузия и функциональная МРТ, МР-спектроскопия, МР-трактография и МР-морфометрия.

Заключение

После появления ультразвукового метода для диагностики состояния плода и будущей матери во второй половине XX века, обследование беременных рентгенографическим методом стало прогрессивно сокращаться. Это также было обу-

словлено достаточно большим накопленным опытом исследований воздействия ионизирующего излучения на организм беременной. В настоящее время методы диагностики, при которых используется ионизирующее излучение, в основном применяются при urgentных состояниях беременных.

Появление ультразвукового исследования в акушерстве привело к развитию нового направления в медицине — пренатальная диагностика. Ультразвук значительно расширил, продвинул изучение врожденных аномалий плода. На сегодняшний день УЗИ продолжает активно развиваться и совершенствоваться.

В связи с техническим прогрессом, в конце XX века были сконструированы высокопольные МР-томографы, с помощью которых стало возможно получать изображения в любой плоскости, использовать быстрые импульсные последовательности с минимализацией артефактов от движения плода и матери. Это значительно сократило время сканирования и повысило качество и информативность данных.

Таким образом, благодаря постоянному развитию техники, большому количеству накопленного опыта в лучевой визуализации при беременности, созданию международных сообществ по диагностике в перинатологии и формированию междисциплинарных подходов для ведения беременности, стало возможным быстро, безопасно и неинвазивно получать информацию о состоянии беременной и плода.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Davis E.P. The application of the Röntgen rays III. The study of the infant's body and the pregnant womb by the Roentgen rays. *Ame Jour Med.* 1896, Sci. 3, 263.
2. Varnier H. *Annales de Gynecologie Et d'Obstetrique.* 1899;52:636. French.
3. Tsimbal O.L. *Rentgenologicheskoe issledovanie novorozhdennykh.* M.: Gosudarstvennoe izdatel'stvo meditsinskoi literatury, 1959. 276 p. In Russian [Цимбал О.Л. Рентгенологическое исследование новорожденных. М.: Государственное издательство медицинской литературы, 1959. 276 с.].
4. Elward J.F., Belair J.F. Roentgen Diagnosis of Pregnancy. *Radiology,* 1938;31(6):678–686. DOI: 10.1148/31.6.678.
5. Warnekros: Schwangerschaft und Geburt Im Röntgenbild. *Ztschr. f. Geburtsh. u. Gynäk.* 1917–1918;80:719–741.
6. Heuser C. Lipiodol in the diagnosis of pregnancy. *Lancet.* 1925;206(5335):1111–1112. DOI: 10.1016/s0140-6736(01)16674-2.

7. Hammer-Jacobsen E. Therapeutic abortion on account of X-ray examination during pregnancy. *Dan Med Bull.* 1959;6(4):113–122.
8. Garland LH. X-rays in diagnosis of pregnancy: are they injurious to fetus or ovary? *Cal West Med.* 1931;34(3):150–154.
9. Smith FW, Adam AH, Phillips WD. NMR imaging in pregnancy. *Lancet.* 1983;1(8314–5):61–62. DOI: 10.1016/s0140-6736(83)91588-x.
10. Smith FW, MacLennan F, Abramovich DR, et al. NMR imaging in human pregnancy: a preliminary study. *Magn Reson Imaging.* 1984;2(1):57–64. DOI: 10.1016/0730-725x(84)90126-7.
11. Stark DD, McCarthy SM, Filly RA, et al. Pelvimetry by magnetic resonance imaging. *AJR Am J Roentgenol.* 1985;144(5):947–950. DOI: 10.2214/ajr.144.5.947.
12. Coakley FV, Glenn OA, Qayyum A, et al. Fetal MRI: a developing technique for the developing patient. *AJR Am J Roentgenology.* 2004;182(1): 243–252. DOI: 10.2214/ajr.182.1.1820243.
13. Levine D, Barnes PD, Sher S, et al. Fetal fast MR imaging: reproducibility, technical quality, and conspicuity of anatomy. *Radiology.* 1998;206(2):549–554. DOI: 10.1148/radiology.206.2.9457211
14. Pan H. The effect of a 7 T magnetic field on the egg hatching of *Heliothis virescens*. *Magn Reson Imaging.* 1996;14(6):673–677. DOI: 10.1016/0730-725x(96)00057-4.
15. Kanal E, Borgstede JP, Barkovich AJ, et al. American college of radiology white paper on MR safety. *AJR Am j roentgenology.* 178;6(2002):1335–1347. DOI: 10.2214/ajr.182.5.1821111

Информация об авторах:

Штенцель Регина Эдуардовна, ординатор кафедры лучевой диагностики и медицинской визуализации ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Семенова Елена Сергеевна, врач-рентгенолог рентгенологического отделения ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Мащенко Ирина Александровна, к.м.н., ассистент кафедры лучевой диагностики и медицинской визуализации Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Труфанов Геннадий Евгеньевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой лучевой диагностики и медицинской визуализации Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Первунина Татьяна Михайловна, д.м.н., директор Института перинатологии и педиатрии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Комличенко Эдуард Владимирович, д.м.н., директор клиники ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Shtentsel Regina E., Resident of Radiology Department, Almazov National Medical Research Centre;

Semenova Elena S., Radiologist of the Radiological Department, Almazov National Medical Research Centre;

Mashchenko Irina A., PhD, Assistant of the Department of Radiation Diagnostics and Medical Imaging of the Institute of Medical Education, Almazov National Medical Research Centre;

Trufanov Gennady E., PhD, Professor, Head of Department of Radiology and Medical Imaging of the Institute of Medical Education, Almazov National Medical Research Centre;

Pervunina Tat'yana M., PhD, Director of the Institute of Perinatology and Pediatrics, Almazov National Medical Research Centre;

Komlichenko E'duard V., PhD, Director of the Clinic, Almazov National Medical Research Centre.



КОНСТРУИРОВАНИЕ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ПЦР В ПРОГРАММЕ PRIMER-BLAST

Козырева А. А., Злотина А. М., Головкин А. С., Калинина О. В.,
Костарева А. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация

Козырева Александра Анатольевна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Акkuratова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
Email: fairb@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 02.05.2021
и принята к печати 01.06.2021.



Резюме

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) широко применяется для решения разнообразных задач. Так, в клинико-лабораторной диагностике ПЦР используют для детекции патогенов бактериальной и вирусной природы, при диагностике наследственных заболеваний и для установления отцовства. Существует три модификации метода, которые позволяют проводить качественную, полуколичественную и количественную оценку присутствия молекул нуклеиновых кислот. В основе метода лежит многократное удвоение фрагмента ДНК или РНК, в результате чего синтезируется значительное число копий интересующего участка нуклеиновой кислоты. Необходимыми компонентами реакции являются молекулы ДНК или РНК, которые служат матрицей для синтеза новых молекул; полимеразы — фермент, который синтезирует новые цепи ДНК; и короткие олигонуклеотиды — праймеры, которые необходимы для работы фермента и являются специфичными к фрагменту интереса. На данный момент имеется не так много инструментов для конструирования праймеров, которые были бы одновременно простыми в использовании и общедоступными. Одним из таких инструментов является онлайн-ресурс Primer-BLAST, интегрированный в базу данных NCBI. Его преимуществами являются информативность, наглядность и свободный доступ к актуальной информации баз данных, таких как GenBank, RefSeq, данных о геномах и транскриптах. Но и для этого ресурса отсутствуют подробные инструкции по конструированию праймеров. Данная статья является обновлением для выпущенного ранее учебного пособия и представляет пошаговое руководство по поиску целевых участков ДНК, подбору праймеров, и оценке качества имеющихся праймеров. В тексте отражен личный опыт авторов, призванный помочь исследователям, работающим с ПЦР.

Ключевые слова: базы данных, детекция, полимеразная цепная реакция, праймер, ПЦР, NCBI, primer-BLAST.

Для цитирования: Козырева А. А., Злотина А. М., Головкин А. С. и др. Конструирование праймеров для ПЦР в программе Primer-BLAST. Трансляционная медицина. 2021;8(3): 37-52. DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-3-37-52

PRIMER DESIGNING IN PRIMER-BLAST

Kozyreva A. A., Zlotina A. M., Golovkin A. S., Kalinina O. V., Kostareva A. A.

Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Kozyreva Alexandra A.,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova street, 2, St. Petersburg, Russia,
197341.

E-mail: fairb@yandex.ru

Received 02 May 2021; accepted 01 June 2021.

Abstract

The polymerase chain reaction (PCR) is widely used in different areas. For example, in laboratory diagnostics, PCR is used to detect bacterial and viral pathogens, in the diagnosis of hereditary diseases, and to identify paternity and many other. There are three types of PCR — qualitative, semi-quantitative, and quantitative. The method is based on the ability of DNA polymerase to double the existing DNA strand, thus resulting in multiplication the number of copies of the region of interest. Necessary components of the reaction are DNA or RNA molecules, serving as a template for the of new molecules; polymerase — an enzyme synthesizes new DNA strands; short oligonucleotides — primers that are required for the enzyme work and are specific to the fragment of interest. Currently, there are not many primer designing tools that are easy-to-use and free. One of these tools is the Primer-BLAST online resource, which is integrated with the NCBI database. It is user-friendly and easy-to-use effective tool that is integrated with GenBank and RefSeq, and always is up-to-dated. However, even for this tool, there are no detailed instructions for the primers designing. This work is an update for a previously published tutorial and provides a step-by-step guide to find target DNA regions, primers designing, and performing primer quality control. The paper is largely based on the personal experience of the authors and is intended for researchers working with PCR.

Key words: databases, detection, PCR, polymerase chain reaction, primer, NCBI, primer-BLAST.

For citation: Kozyreva AA, Zlotina AM, Golovkin AS, et al. Primer designing in Primer-BLAST. Translational Medicine. 2021;8(3): 37-52. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-3-37-52

Введение

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) широко применяется для решения разнообразных задач. Так, в медицине ПЦР используют для поиска патогенов бактериальной и вирусной природы, при диагностике наследственных заболеваний и для установления отцовства.

Разработка метода полимеразной цепной реакции стала одним из наиболее значимых открытий 20 века, которое легло в основу современных методов, применяемых в биомедицинских исследованиях в области молекулярной биологии, геномной инженерии, клинической лабораторной диагностики и других. В свою очередь, праймеры, ключевые компоненты полимеразной цепной реакции, явля-

ются важным параметром специфичности и эффективности результатов ПЦР. Нуклеотидный состав праймеров влияет на качество и температурный режим проведения ПЦР. В настоящий момент имеется достаточно много разнообразных программ для подбора праймеров, большинство из которых интегрированы в платные программные пакеты.

Международная база данных NCBI (Национальный центр биотехнологической информации) предоставляет открытый доступ к перекрестно-интегрированным генетическим базам данных и онлайн-ресурсам, в том числе к базе данных Nucleotide, которая включает в себя последовательности из постоянно обновляющихся источников, таких как GenBank, RefSeq, данные о геномах и транскриптомах, что

в совокупности обеспечивает уникальную основу для эффективного конструирования праймеров с использованием онлайн-блока Primer-BLAST [1].

Данная статья является обновлением для выпущенного ранее учебного пособия и представляет пошаговое руководство по поиску целевых участков ДНК, подбору праймеров и оценке качества имеющихся праймеров [2].

Общая характеристика праймеров

Праймерами называют короткие одноцепочечные синтетические фрагменты ДНК (олигонуклеотиды), имеющие длину от 15 до 50 оснований, комплементарные специфичным участкам матричной ДНК. Праймеры — один из ключевых компонентов ПЦР, от которых зависит качество продукта ПЦР. Праймеры выполняют функцию «затравки» для ДНК-полимеразы, которая присоединяет нуклеотиды к дочерней цепи по принципу комплементарности в направлении от 5' к 3' концу матричной ДНК.

Для получения целевого фрагмента в ПЦР используют два праймера, нуклеотидная последовательность каждого из которых комплементарна противоположным концам определенной цепи целевого фрагмента ДНК: прямой (forward) праймер соответствует началу амплифицируемого участка ДНК, обратный (reverse) праймер — концу амплифицируемого участка ДНК. Таким образом, прямой и обратный праймеры комплементарны противоположным цепям ДНК, что позволяет многократно амплифицировать именно целевой фрагмент ДНК, ограниченный этими праймерами.

При выборе праймеров рекомендуется соблюдать следующие правила:

- Нуклеотидная последовательность праймеров должна быть высокоспецифична матрице ДНК, чтобы обеспечить амплификацию чистого монопродукта в результате ПЦР без амплификации неспецифичных фрагментов ДНК.
- Нуклеотидная последовательность праймеров должна быть максимально (в идеале полностью) комплементарна последовательности ДНК, которые в геноме встречаются не чаще одного раза.
- Последние три нуклеотида 3'-конца праймера должны быть обязательно полностью комплементарны матрице ДНК, так как ДНК-полимераза присоединяет новые нуклеотиды к гидроксильным группам 3'-конца растущей цепи, и для успешного присоединения полимеразе требуется полное конформационное совпадение концевых нуклеотидов на 3'-конце.
- Нуклеотидная последовательность праймеров не должна содержать повторяющиеся элемен-

ты и палиндромы, поскольку это может привести к неизбирательному отжигу и, как следствие, к получению неспецифичного продукта.

- Область отжига праймеров должна происходить на консервативном участке матрицы ДНК, т. е. располагаться вне зон точечных мутаций, делеций или инсерций. При попадании праймера на зону с мутациями возможно отсутствие ПЦР-продукта из-за несоответствия нуклеотидной последовательности праймера к области отжига на матрице, синтез неспецифического продукта из-за некорректного отжига праймера в другой области.

- Оптимальная длина праймера от 16 до 25 нуклеотидов, так как более короткие праймеры могут слабо связываться с матрицей из-за малого количества образующихся водородных связей, быть менее специфичными, поскольку чем короче последовательность праймера, тем менее она уникальна и тем чаще она может встречаться в геноме.

- Соотношение АТ и GC нуклеотидов в последовательности праймера должно быть близко к 1:1. Следует учитывать, что большое количество АТ-оснований приводит к снижению температуры плавления праймеров, а большое количество GC-оснований — соответственно, к ее увеличению.

- Разница в температурах отжига прямого и обратного праймеров должна быть в пределах 1-2 градусов, при увеличении разницы в температуре отжига между праймерами на 3 и более градусов оптимальную температуру отжига подбирают экспериментальным путем, при этом повышается вероятность амплификации неспецифических продуктов. Повышение температуры отжига праймеров улучшает качество ПЦР-продукта за счет уменьшения неспецифичного связывания праймера с матрицей, но при этом количество ПЦР-продукта может быть невелико. Понижение температуры отжига праймеров исключает преждевременную диссоциацию праймеров с матрицей на этапе элонгации ДНК, что дает увеличение количества ПЦР-продукта, но при этом есть риск появления неспецифичных ПЦР-продуктов.

- Для улучшения качества отжига праймеров рекомендуется подбирать нуклеотидные последовательности праймеров так, чтобы последние 2-4 нуклеотида на 3'-конце праймера содержали GC-основания. Для праймера с высоким содержанием GC-оснований данное условие становится менее строгим и позволяет допустить наличие 1-2 АТ-оснований на 3'-конце праймера.

- На 3'-конце праймера не должно быть моно- (например, CCCC), ди- (например, GCGCGC) или тринуклеотидных повторов, поскольку такие по-

вторые могут существенно уменьшать специфичность отжига праймеров, так как достаточно часто встречаются в геноме.

- Нуклеотидные последовательности праймеров не должны образовывать стабильные вторичные структуры, быть само- или взаимокomплементарными. Наличие вторичных структур на праймере, в том числе шпильки на 3'-конце праймера, приводит к уменьшению эффективности связывания праймера с матрицей, затруднению присоединения ДНК-полимеразы и, соответственно, отсутствию элонгации. Взаимная комплементарность праймеров между собой (как прямых, так и обратных) и друг с другом особенно на 3'-концах приводит к образованию и амплификации димеров праймеров в ущерб целевому продукту, при этом чем длиннее участки взаимной комплементарности, тем эффективнее проходит амплификация димеров праймеров.

Размер ПЦР-продукта зависит от поставленной задачи. Для клонирования допустим ПЦР-продукт размером до 1500 п.о., для секвенирования по Сэнгеру он может быть до 1000 п.о. При секвенировании больших фрагментов может потребоваться подбор внутреннего праймера.

Общая информация о базе данных NCBI

Сайт Национального центра биотехнологической информации США (NCBI: <https://www.softwarcbi.nlm.nih.gov>) представляет открытый доступ к различным программным ресурсам и международным генетическим базам данных [3]. Одной из таких платформ является BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) [4], которая находит области сходства между нуклеотидными или аминокислотными последовательностями, сравнивает их с базами данных последовательностей и вычисляет статистическую значимость. Онлайн-версия BLAST общедоступна, интегрирована с базами данных NCBI, графически отображает результаты поиска в реальном времени, позволяя синхронно анализировать полученные результаты в различных базах данных NCBI. Имеется возможность загрузить офлайн-версию программы для Windows или Linux, но в этом случае от пользователя требуется умение работать с командной строкой.

Для конструирования праймеров используется онлайн-блок Primer-BLAST (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome), в котором пользователь самостоятельно задает конкретные параметры праймеров, выбирает целевую базу данных, далее программа подключается к базам данных и серверам NCBI,

обрабатывает запрос и отправляет результаты обратно в браузер пользователя в графическом формате. На экране браузера результат выводится в виде списка со всеми найденными совпадениями, включая графическое изображение, что позволяет быстро оценить приемлемость расположения праймеров относительно целевого участка ДНК, который необходимо амплифицировать.

Поиск целевой последовательности ДНК для подбора праймеров с использованием онлайн-ресурса Gene

Онлайн-ресурс Gene (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=>) содержит различную информацию о широком круге видов, включая номенклатуру, референсные (эталонные) последовательности (RefSeqs), генетические вариации, фенотипы и locus-специфичные ресурсы [5].

Для поиска целевой последовательности ДНК в строке поиска необходимо указать название гена (например, *menin 1* или *MEN1*) и нажать Enter. В выпадающем списке результатов, в котором будут даны все варианты данного гена, имеющиеся в базе данных NCBI, необходимо выбрать ген, соответствующий анализируемому виду, например *Homo sapiens*. В браузере откроется страница (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4221>), содержащая подробную информацию о данном гене, в том числе информацию о структуре и хромосомной локализации гена, в случае аннотированных генов — информацию о геномных регионах, транскриптах и продуктах, уровне экспрессии, ссылки на дополнительные и библиографические ресурсы.

В разделе с графическими изображениями геномных регионов и транскриптов (Genomic regions, transcripts, and products), который является составной частью геномного браузера NCBI Graphical Sequence Viewer (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/sviewer/>), в поле Genomic Sequence необходимо выбрать референсную последовательность для хромосомной аннотации или референсный ген. В данном разделе графически отображается не полный ген, а транскрипты мРНК, у которых количество кодирующих участков может различаться в зависимости от изоформы. Каждый вариант сплайсинга мРНК имеет свой уникальный номер.

В случае поиска хромосомной позиции в поле Genomic Sequence нужно выбрать номер релиза аннотации генома («сборки»), например, для человека это NC_000011.9 Chromosome 11 Reference GRCh37.p13 Primary Assemble или NC_000011.10 Chromosome 11 Reference GRCh38.p13 Primary Assemble в зависимости от того, для какой версии аннотации была задана искомая позиция в геноме

(рис. 1). В поле поиска геномного браузера в окне Find указывается хромосомная позиция, полиморфизм (например, rs386134260) или нуклеотидная последовательность, желательно не короче 15 нуклеотидов для повышения специфичности поиска (рис. 1). Для поиска полиморфизмов или нуклеотидных последовательностей номер сборки генома значения не имеет.

В случае поиска определенного экзона, а также если искомая позиция была задана от начала гена, то в качестве референса необходимо выбрать в поле "Genomic Sequence» RefSeqGene (референсный образец гена). Референс не привязан к позиции в геноме, его нуклеотидные последовательности отсчитываются не от начала хромосомы, а от начала самого гена. Он есть, как правило, у генов, по которым накоплено достаточно информации. На рисунке 2 показан тот же участок гена, что и выше. Видны не только номера экзонов, но и эталонная матричная РНК и последовательности белка, соответствующие кодирующим частям мРНК.

В случае, если нужно найти позицию, заданную по мРНК, необходимо знать точный вариант транскрипта, так как из-за сплайсинга варианты транскриптов отличаются по длине, числу экзонов и длине кодирующих последовательностей.

Подробные объяснения по каждому отображаемому элементу геномного браузера: гены, РНК, единичная нуклеотидная замена (SNP) и т. д., можно получить, если нажать знак вопроса в верхнем правом углу интерфейса и выбрать пункт Legends (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/sviewer/legends/>). Чтобы передвинуть влево или вправо видимую часть гена, необходимо навести курсор на графическое изображение транскрипта, нажать и держать левую кнопку мыши в области окна с графикой и смещать картинку в нужную сторону.

Для выделения фрагмента генома нужно подвести курсор к «линейке» в верхней части графического изображения, нажать левую кнопку мыши и смещать до нужного места, чтобы выделить одновременно несколько участков генома, надо удерживать кнопку Ctrl на клавиатуре. Если подвести мышку к выделенной зоне в области «линейки» и подождать, появится всплывающее меню (рис. 3), верхняя строчка которого показывает положение выделенного участка в выбранной нами геномной последовательности (NC или NG) и его размер. В меню Zoom On Range увеличивает масштаб выделенного фрагмента на все окно браузера; Zoom To Sequence дает максимальное увеличение масштаба до нуклеотидной последовательности; Set New Marker On Range позволяет поставить метки, Primer-BLAST (Selection) открывает в новом окне

онлайн-ресурс BLAST ® blastn suite с фиксированными координатами выделенного фрагмента ДНК для поиска праймеров (см. Query subrange); Download FASTA (Selection) позволяет скачать и сохранить нуклеотидную последовательность выделенного фрагмента в формате FASTA.

У поставленных пользователем маркеров есть свое меню, оно появляется, если навести курсор на его заголовок на линейке и немного подождать. Для конструирования праймеров маркеры используются по большей части для того, чтобы отметить какие-то элементы на некоторый срок. Больше информации о маркерах можно найти здесь: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/sviewer/markers/>.

Маркеры могут быть как точечными (проставляются автоматически, при поиске конкретной хромосомной позиции или полиморфизма), а могут захватывать некоторый диапазон — протяженный участок ДНК (в этом случае маркеры ставятся вручную, над выделенным диапазоном).

Маркеры обычно используют, чтобы зафиксировать в геномном браузере точное местоположение цели своего поиска. Особенно это удобно, если цель находится внутри экзона протяженного размера (более 1000 п.о.), в интроне, или, к примеру, захватывает гибридный участок экзон + часть интрона. Если видимый диапазон последовательности ДНК в геномном браузере смещался в ту или иную сторону, то маркер позволяет сразу вернуться к нужной цели.

Если целевых участков в исследуемой ДНК несколько, то можно отметить их все, затем оценить их взаиморасположение. Иногда получается подобрать одну пару праймеров к 2–3 целям, расположенным относительно близко друг к другу.

Также с помощью маркеров можно оценить, как праймеры расположены по отношению к целевому участку ДНК, и оценить характеристики районов ДНК, в которых они находятся. Для этого отмечают целевой участок ДНК, затем вводят в поле поиска геномного браузера последовательности прямого и обратного праймеров, фиксируя каждый раз установкой маркера найденный и выделенный участок ДНК, затем можно уменьшить масштаб (при поиске коротких последовательностей масштаб геномного браузера выставляется по умолчанию на максимальное увеличение) и оценить результат визуально.

Маркеры сохраняются в геномном браузере при изменении конфигурации его содержимого (через меню Tracks, см. ниже), но сбрасываются при обновлении страницы интернет-браузера или смене текущей аннотации генома.

Меню для участков без выделенных диапазонов появляется при наведении курсора в области «ли-

нейки» и нажатием правой кнопки мыши (рис. 4). В этом режиме Select a Range позволяет выбрать нужный диапазон, Set New Marker At Position ставить маркеры, Primer-BLAST (Visible Range) переходить к дизайну праймеров в онлайн-ресурс BLAST® blastn suite, в данном режиме праймеры будут подбираться ко всей области генома, видимой в окне геномного браузера.

Если в процессе поиска области для праймера нужно быстро получить дополнительную информацию о каком-либо элементе, достаточно привести курсор мышки в виде руки на него, и появится справочное окно (рис. 5), компоновка которого меняется в зависимости от типа просматриваемого элемента. Сначала располагается информация о названии, типе, длине, расположении и т. д. просматриваемого элемента, далее о позиции, на которую указывает курсор. При наличии нуклеотидной последовательности данного элемента в формате FASTA будет дана ссылка на загрузку соответствующего файла. Дополнительно в меню имеются ссылки для быстрого перехода на различные базы NCBI и внешние ресурсы, связанные с этим объектом.

После того, как интересующий участок найден, для удобства поиска праймеров необходимо изменить отображаемые данные в геномном браузере, для этого в правой части окна геномного браузера выберите Tracks, далее активируйте Configure Tracks (рис. 6).

В появившемся окне в левой части нужно активировать закладку Search Tracks и отметить следующие пункты (рис. 7), наиболее критичные для оптимального дизайна праймеров:

- G+C content (50bp): позволяет оптимально выбрать места для гибридизации праймеров и корректно соотносить отношение AT/GC нуклеотидов.
- CpG islands (участки ДНК, богатые метилированными GC-парами). Если такие участки входят в состав праймера, то при проведении ПЦР рекомендуется добавлять DMSO, а также немного увеличивать количество олигонуклеотидов для улучшения выхода ПЦР продукта, или же использовать реагенты от различных производителей, предназначенные для амплификации GC-богатых участков генома.
- Repeats identified by WindowMasker, Repeats identified by RepeatMasker (повторяющиеся элементы в геноме): расположение праймеров внутри этих повторов крайне нежелательно.

Если какой-то параметр не удастся быстро найти, можно воспользоваться полем поиска в верхней части окна (рис. 7).

В результате геномный браузер поменяет свой вид: будут отмечены области CpG островков (чер-

ные полосы), повторы и мобильные элементы генома (черные и синие линии) (Рис. 8). Волнистая полоса будет отражать содержание GC-пар в геноме, при этом тонкая линия внутри этого элемента соответствует 50 %-му количеству GC-пар.

Для зарегистрированных на сайте NCBI пользователей имеется возможность сохранить наборы треков в меню Tracks → My NCBI Track Collections. Следует обратить внимание на то, что все коллекции будут привязаны к сборкам и референсам, которые были выбраны при поиске нужного фрагмента генома. Например, если набор треков сохранен для версии геномной аннотации человека GRCh37, а в активном графическом интерфейсе выбрана версия геномной аннотации человека GRCh38, то сохраненный ранее набор треков в списке коллекций будет не виден до тех пор, пока не переключить версию геномной аннотации человека на GRCh37. Подробная информация о коллекциях треков расположена на сайте <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/sviewer/faq/>.

Далее необходимо выбрать потенциальные сайты гибридизации праймеров и геномной ДНК так, чтобы нежелательные элементы генома (описаны выше), в том числе делеции и инсерции, не попали в область потенциальных сайтов связывания. С целью визуального анализа таких сайтов видимый диапазон геномного браузера может быть сдвинут, как описано выше, изменен масштаб (для визуализации делеций и инсерций) пока не будет достигнут желаемый результат. В тех местах, где хотелось бы найти сайты связывания праймеров, содержание GC-пар должно быть от 50 до 65 % максимум. На участках ДНК, где содержание GC-пар приближается к 80–100 %, онлайн-ресурс Primer-BLAST подбирает праймеры только при условии, что указаны специальные требования.

На рисунке 9 показан типичный случай выбора потенциальных мест для связывания с праймерами. Видимый в геномном браузере потенциальный участок поиска праймеров не идеальный, присутствуют нежелательные элементы. В первую очередь исключаются все районы с повторами. Если есть зоны, изобилующие инсерциями/делециями, то стоит избегать этих мест также, как повторов. Далее по возможности исключаются участки с высоким содержанием GC-пар. Иногда приходится оставлять какие-то не совсем подходящие варианты, если в целом результат выбора недостаточно хорош.

На рисунке 10 представлен окончательный результат подбора потенциальных сайтов для поиска праймеров. Выделены три области, к которым можно подобрать пары праймеров (1 и 2, 1 и 3). Первая потенциальная пара (области 1 и 2) опти-

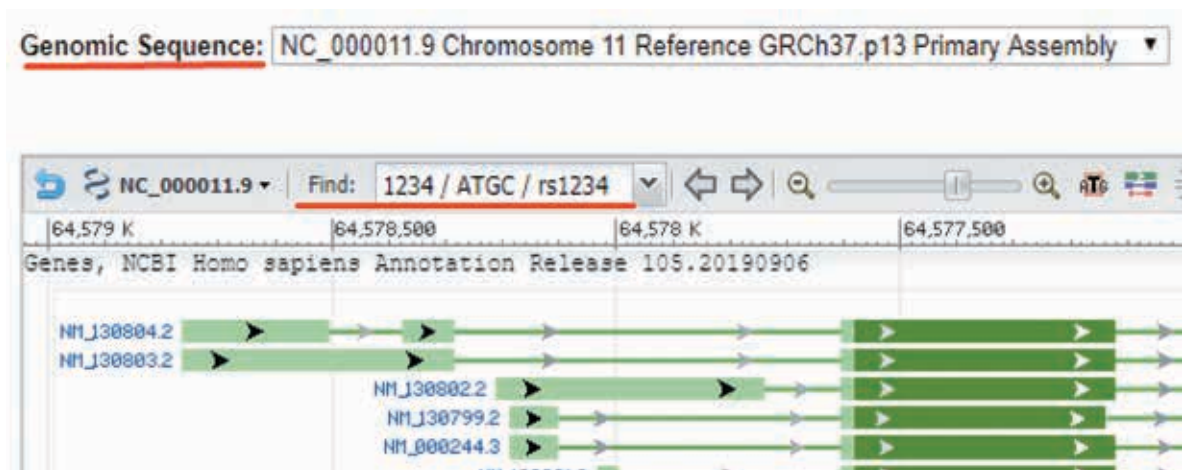


Рис. 1. Вид геномного браузера в режиме хромосомных аннотаций (сборки генома). Хромосомная аннотация имеет префикс NC_, транскрипты мРНК — префикс NM_. Темно-зеленым цветом отмечены кодирующие участки гена, светло-зеленым — некодирующие

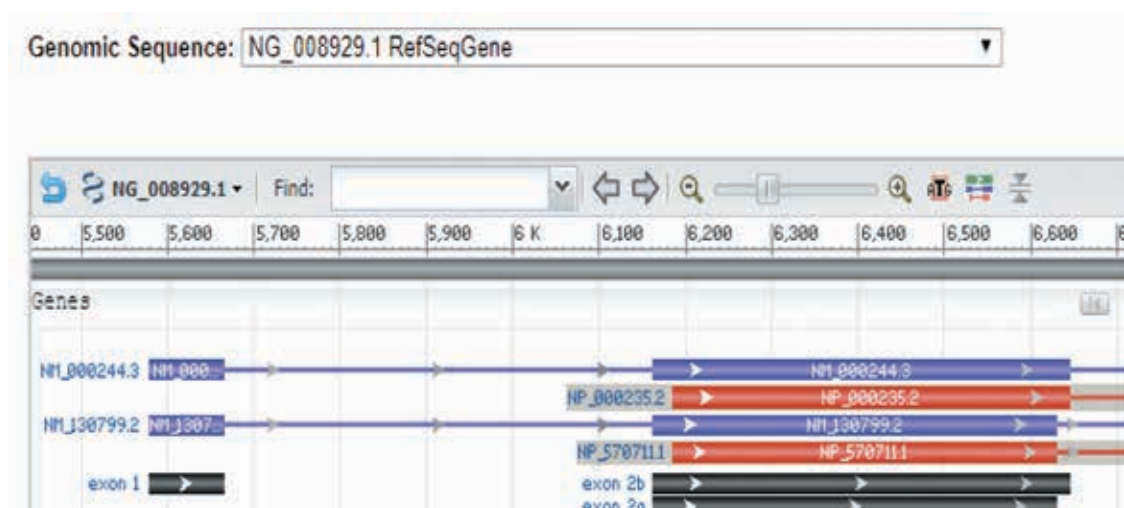


Рис. 2. Вид геномного браузера в режиме референсного образца гена. Референсный ген имеет префикс NG_, белки — NP_

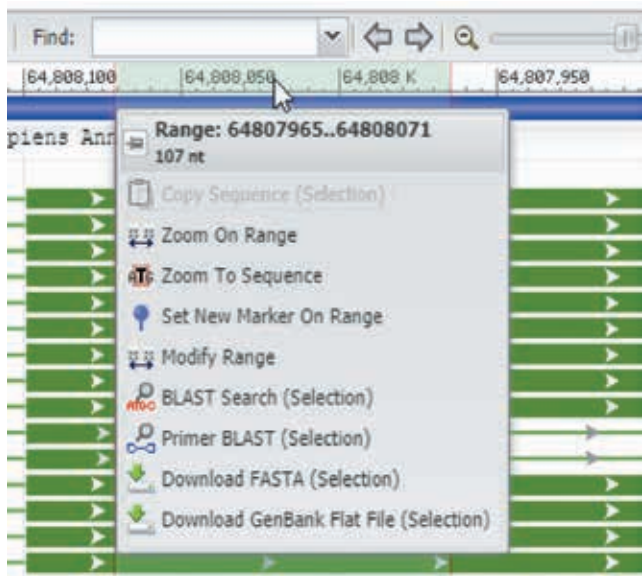


Рис. 3. Меню для выделенного участка ДНК

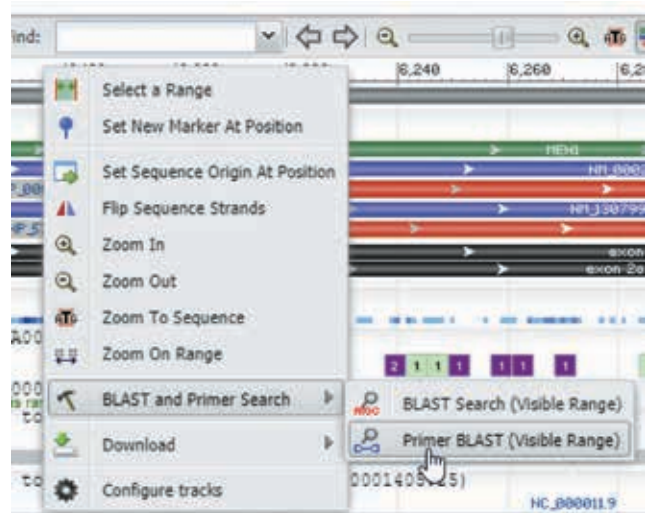


Рис. 4. Меню, открытое щелчком правой кнопки мыши. Показано подменю, связанное с программой BLAST

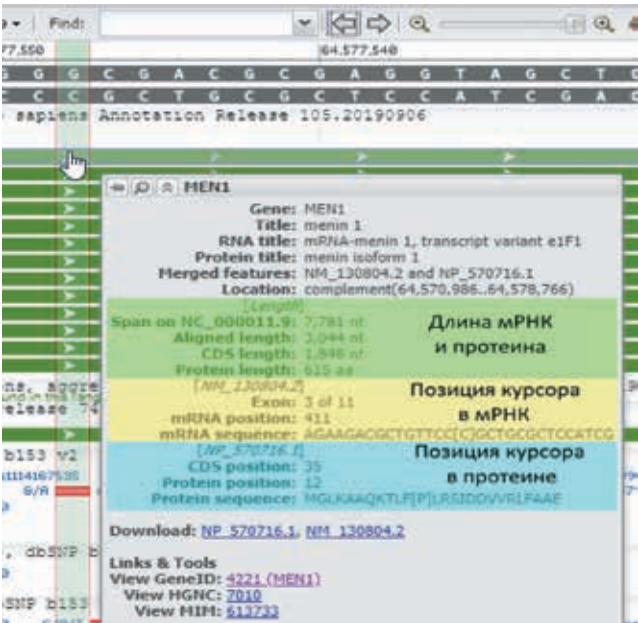


Рис. 5. Пример справочного окна с данными о просматриваемом элементе генома с комментариями авторов

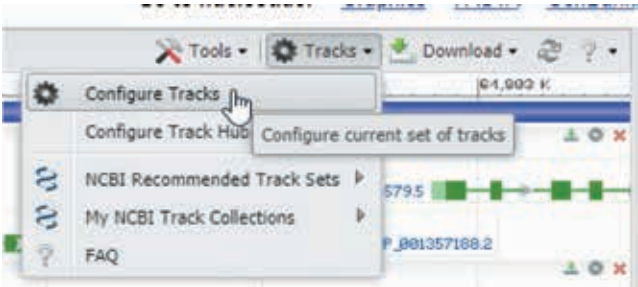


Рис. 6. Меню конфигурации отображаемых элементов геномного браузера.

Справа от меню Tracks есть меню загрузки — в нем можно скачать (целиком или избирательно) последовательность в форматах FASTA и GenBank, а также сохранить содержимое окна браузера в форматах PDF или SVG

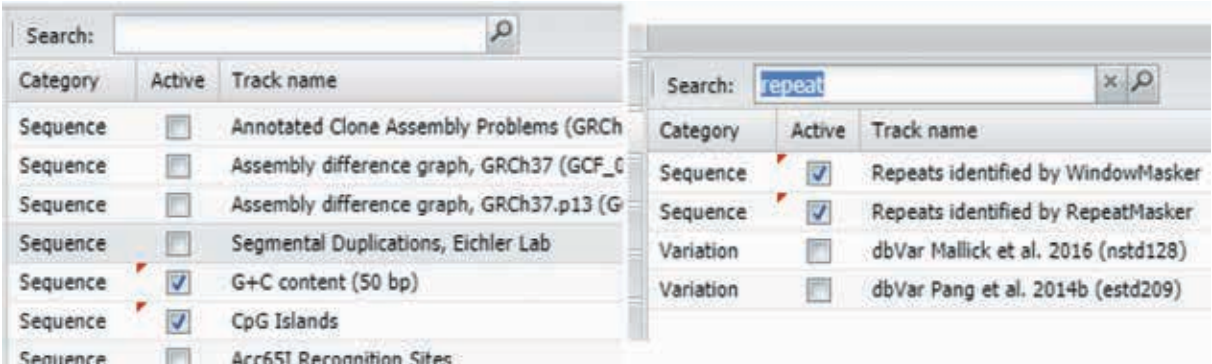


Рис. 7. Фрагменты всплывающего меню Configure Page

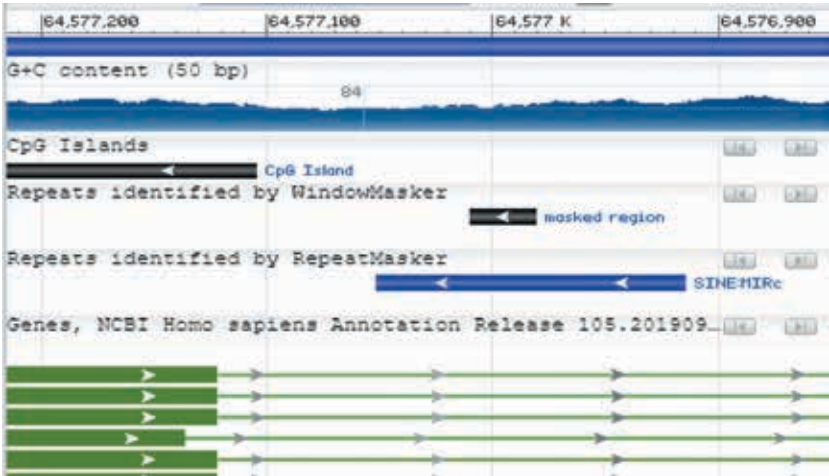


Рис. 8. Вид геномного браузера после активации описанных в тексте элементов (Tracks). Все элементы в геномном браузере подписаны, а при установке курсора над любым из них откроется информация

мальна по количеству GC-пар. Вторая (области 1 и 3) пара теоретически будет больше отличаться по температуре отжига между праймерами, так как область 3 более богата GC-основаниями по сравнению с 1 областью, соответственно у обратного (область 3) праймера температура отжига будет выше, чем у прямого (область 1) праймера.

Для дальнейшего поиска праймеров в видимом диапазоне геномного браузера используется онлайн-ресурс Primer-BLAST (Visible Range). В сложных случаях внутри подобранного фрагмента геномной ДНК можно выделить участки для поиска разных вариантов праймеров с использованием онлайн-ресурса Primer-BLAST (Selection). Например, для поиска праймеров в заданных конкретных участках ДНК (Рис. 10) выделяются диапазоны 1 и 2 или 1 и 3 (при нажатии Ctrl), и далее активируется запуск команды Primer-BLAST (Selection).

Поиск праймеров с использованием Primer-BLAST

Инструмент Primer-BLAST откроется в новом окне, при этом геномный браузер остается открытым. Выбор потенциальных участков матрицы ДНК для поиска праймеров проводился с использованием баз данных NCBI, конструирование праймеров будет проходить с использованием ресурса BLAST. В этом разделе будут рассмотрены только компоненты, которые нужны для дизайна праймеров. В программе BLAST для каждого компонента есть комментарии и объяснения, чтобы их получить, достаточно нажать круглый значок вопроса.

Вкладка Primers for target on the template

Раздел PCR Template

В поле Range будут автоматически проставлены хромосомные позиции — границы диапазона, которые были выбраны ранее для конструирования праймеров. Эти значения являются обязательными, изменять их не следует.

Раздел Primer Parameters (рис. 11).

В поле PCR product size указывается минимальное и максимальное значение ПЦР-продукта.

- Максимальное значение продукта ПЦР ограничено видимым полем геномного браузера, либо крайними положениями выделенных диапазонов в геномном браузере (окно осталось открытым), при необходимости это значение можно уменьшать вручную.

- Обратите внимание, что при подборе праймеров для двух выделенных диапазонов значение минимума не проставляется, так как размер ПЦР-продукта уже принудительно ограничен этими районами.

- При подборе праймеров по всему видимому диапазону геномного браузера можно (и нужно) менять параметр минимального размера ПЦР-продукта, так как «по умолчанию» он равен 70 п.о. Если нужно подбирать праймеры к протяженному участку, то размер ПЦР продукта должен быть длиннее этого участка. Например, для секвенирования по Сэнгеру (в силу технических особенностей) к размеру цели прибавляется 70–100 п.о. с обеих сторон, таким образом ПЦР-продукт будет длиннее цели на 140–200 пар нуклеотидов. Это значение и нужно проставить в качестве минимального размера ПЦР-продукта. BLAST будет подбирать праймеры с длиной в пределах от заданного минимума до максимума, пользователю останется визуально проконтролировать и выбрать варианты, имеющие достаточный запас расстояния от праймеров до цели.

В поле #of primers to return указывается количество праймеров, выдаваемых программой, «по умолчанию» это 10 пар.

В поле Primer melting temperatures (T_m) указываются значения минимума (Min), максимума (Max) и максимальная разница в температурах плавления обоих праймеров (Max T_m difference). «По умолчанию» значение Max T_m difference равно 3 градусам, при дизайне праймеров желательно уменьшить это значение до 1–1,5 градусов. Если в выбранных для праймеров участках генома содержание GC-пар значительно выше 50 %, то максимальную температуру плавления праймеров (Max) иногда рекомендуется увеличивать на 1–2 градуса.

Раздел Exon/intron selection предназначен для работы с матричной РНК, для подбора праймеров не имеет значения.

Раздел Primer Pair Specificity Checking Parameters

В поле Database указывается база данных для поиска праймеров (рис. 12). Если задать Genomes for selected organisms (primary reference assembly only) поиск праймеров будет идти только по сборкам генома человека (GRCh37.p13 или GRCh38.p13). Эти сборки содержат только геномную информацию и не включают альтернативные локусы, митохондриальную ДНК. Остальные базы данных либо не подходят по основному компоненту, либо содержат избыточные записи, которые будут мешать процессу поиска конкретных праймеров.

В поле Organism «по умолчанию» стоит Homo sapiens.

Остальные поля данного раздела отражают нуклеотидный состав 3'-конца праймера и степень

его специфичности, параметры которых, как правило, принимаются «по умолчанию».

Поле Get Primers запускает процесс поиска праймеров. Чтобы результаты поиска открылись в новом окне, необходимо поставить «галочку» в поле Show results in a new window (рис. 13), это позволит при необходимости вернуться к заданным для поиска параметрам праймеров и изменить их, после чего запустить повторный поиск.

Вкладка Advanced parameters (рис. 14)

В данном разделе можно отметить дополнительные параметры для повышения требований к будущим праймерам, особенно на «сложных» участках ДНК-матрицы.

Раздел Primer Pair Specificity Checking Parameters (название повторяется)

Все параметры данного раздела принимаются «по умолчанию», так как изменения могут негативно отразиться на специфичности праймеров или на успешности поиска.

Раздел Primer Parameters

Сначала рассмотрим параметры, которые имеют первостепенное значение для подбора оптимальной пары праймеров.

В поле Primer GC content (%) «по умолчанию» стоит большой разброс значений от 20 до 80 %. Обычно Primer-BLAST конструирует праймеры для участков ДНК с 50 %-м содержанием GC-пар, но иногда по тем или иным причинам дает результаты, заметно отличающиеся от 50 %-го уровня (в пределах значений, стоящих «по умолчанию»). Рекомендуется сразу выставить значение 50 % в поле Max, чтобы повысить «строгость» выбора праймеров по содержанию GC-пар. Если после этого итоговый результат окажется неудовлетворительным, значения в этих полях (Min и Max) можно подвергнуть коррекции, в пределах от 40 до 65 % соответственно.

В поле Max Self Complementarity (For old secondary structure alignment model only) и в поле Max Pair Complementarity (For old secondary structure alignment model only) «по умолчанию» стоят значения комплементарности 8 и 3 для любого участка праймера и для 3'-концов соответственно. Чем ниже значения комплементарности, тем меньше вероятность того, что праймеры будут образовывать димеры. В связи с этим данные значения рекомендуется по возможности снизить до 6 для поля Any и 2 для поля «3'-конец».

Поле SNP handling является обязательным дополнительным параметром, который позволяет

избегать известные районы, содержащие полиморфизмы с высокой частотой встречаемости.

Остальные параметры раздела Primer Parameters используются тогда, когда получить приемлемый результат выбора праймеров с ранее используемыми параметрами не удается.

В поле Primer Size указывается длина праймеров (Min, Opt, Max). Если приходится подбирать праймеры на участках ДНК с однородным составом, например содержащих тандемные или моонуклеотидные повторы, то иногда приходится увеличить длину праймеров для повышения их уникальности (чем длиннее последовательность нуклеотидов, тем реже вероятность ее повтора в геноме). Также данное поле используется для подбора праймеров с заданной длиной.

В поле Max Poly-X указывается максимально возможное количество моонуклеотидных повторов в праймере («по умолчанию» стоит 5). Если в результате поиска праймеров предлагаются пары праймеров, все из которых имеют 5 моонуклеотидов в составе, это значение можно снизить, чтобы попытаться найти альтернативу предложенным вариантам пар праймеров.

В поле Max GC in primer 3' end указывается возможное количество GC-нуклеотидов подряд на 3'-конце («по умолчанию» стоит 5). Снижение этого значения увеличивает вероятность обогащения 3'-конца АТ-парами.

В полях Repeat filter и Low complexity filter указаны параметры фильтрации повторяющихся последовательностей генома. Исключают эти параметры в последнюю очередь, желательно в сочетании с использованием поля Primer Size, когда необходимо подобрать праймеры на участках ДНК, содержащих тандемные или моонуклеотидные повторы. В этом случае в поле Repeat filter выставляется значение None, в поле Low complexity filter снимается «галочка».

Обратите внимание, что поле Low complexity filter также используется для проверки качества праймеров (см. ниже по тексту).

Значения остальных полей, в том числе весь раздел Internal hybridization oligo parameters, вкладки Advanced parameters используются без изменений (выставлены «по умолчанию»).

Поле Get Primers (повторяется после вкладки Advanced parameters) запускает процесс поиска праймеров с учетом дополнительных параметров. Чтобы результаты поиска открылись в новом окне, необходимо также, как и ранее, поставить «галочку» в поле Show results in a new window (рис. 13). Если праймеры подбираются по сборке генома, отличающейся от актуальной (на момент написания —

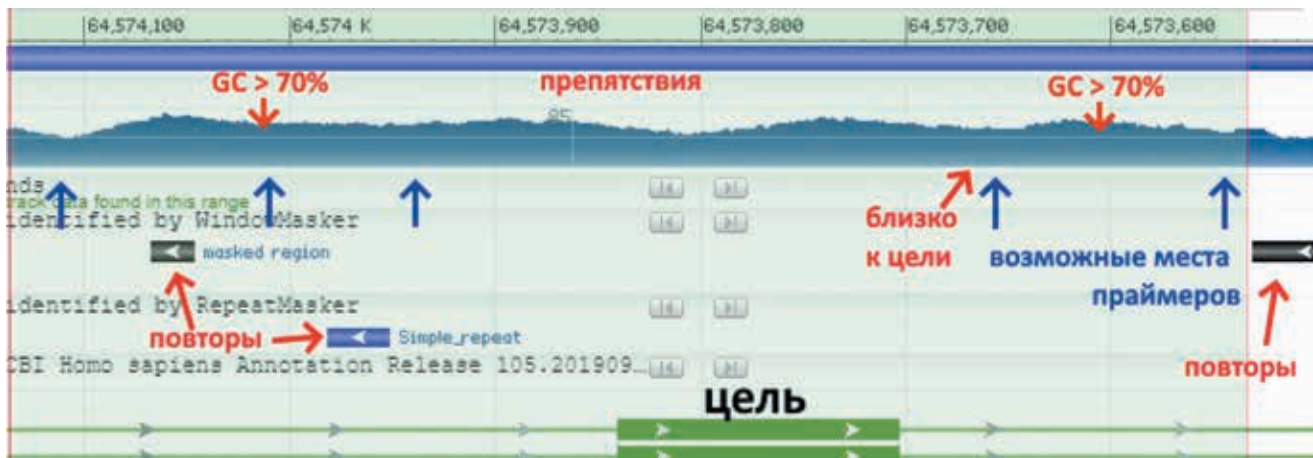


Рис. 9. Типовой случай визуального анализа в окне геномного браузера потенциальных сайтов связывания праймеров с матрицей ДНК

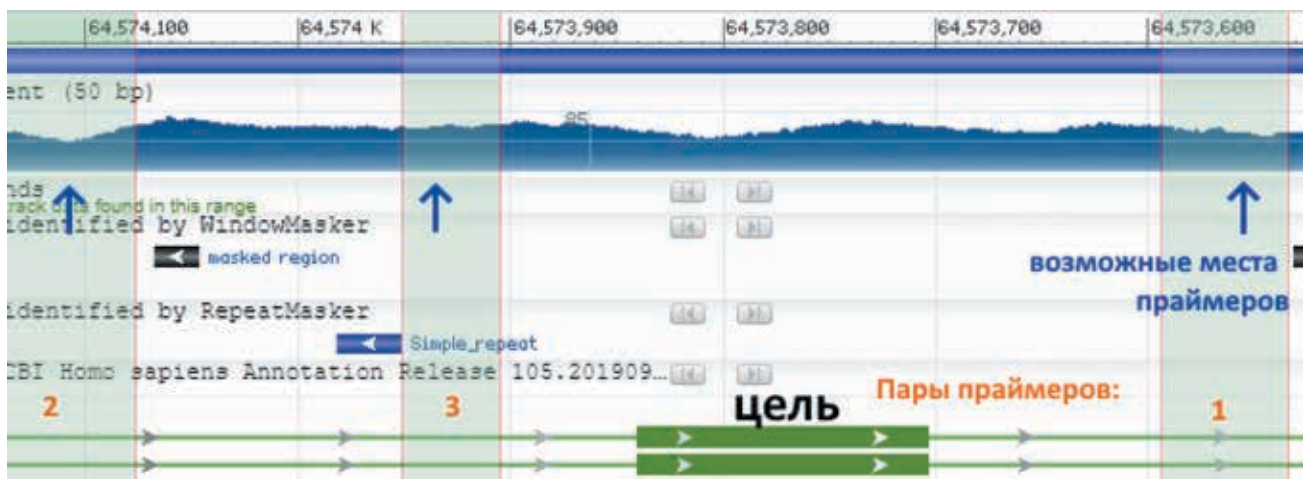


Рис. 10. Итоговый результат подбора потенциальных участков для поиска праймеров

Primer Parameters

Use my own forward primer (5'→3' on plus strand) ? Clear

Use my own reverse primer (5'→3' on minus strand) ? Clear

PCR product size

Min Max

of primers to return

Primer melting temperatures (T_m)

Min Opt Max Max T_m difference ?

Рис. 11. Пункты раздела Primer Parameters. Желтым цветом отмечены измененные параметры

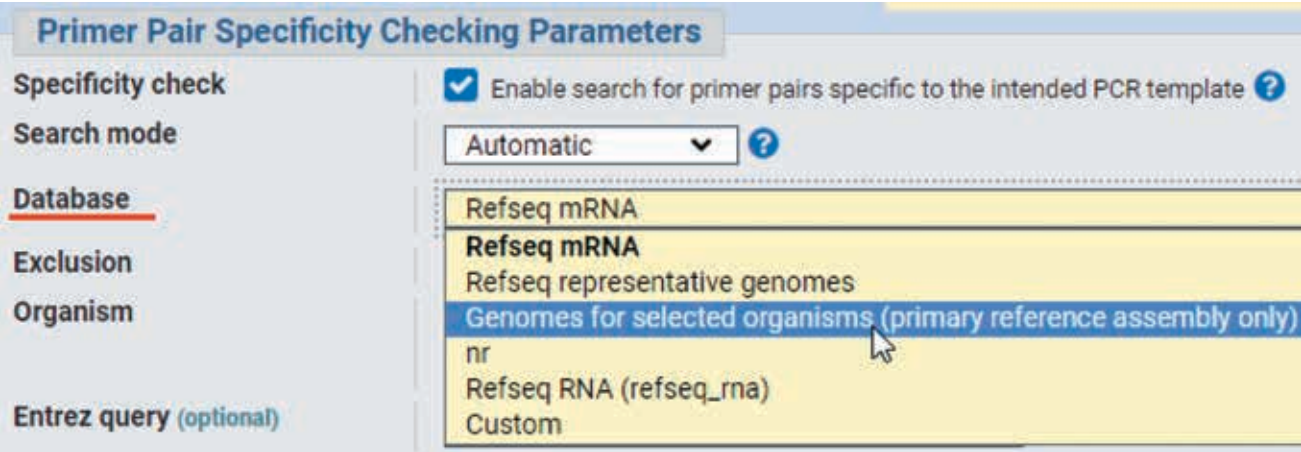


Рис. 12. Выбор базы данных для поиска праймеров



Рис. 13. Поле старта поиска праймеров

Primer Parameters			
	Min	Opt	Max
Primer Size	15	20	25
Primer GC content (%)	20.0	80.0	
Max Poly-X	5	В первую очередь	
Max GC in primer 3' end	5	Второстепенные параметры	
Max Self Complementarity	8.00	3.00	(For old secondary structure alignment model only)
Max Pair Complementarity	8.00	3.00	(For old secondary structure alignment model only)
SNP handling	☐ Primer binding site may not contain known SNP		
Repeat filter	Automatic		
	Avoid repeat region for primer selection by filtering with repeat database		
Low complexity filter	☒ Avoid low complexity region for primer selection		

Рис. 14. Параметры раздела Primer Parameters во вкладке Advanced parameters. Показаны только те пункты, которые обычно используются для дизайна праймеров

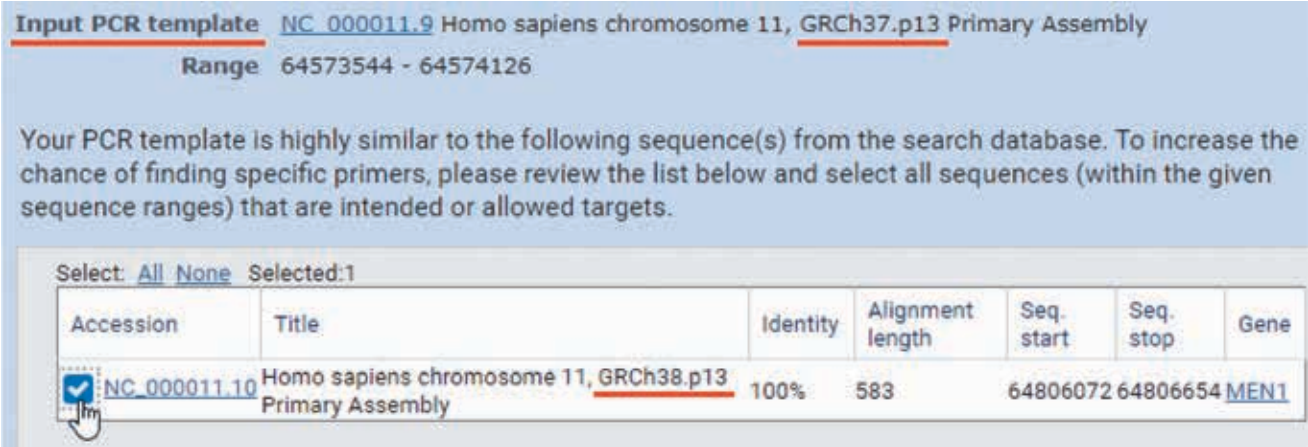


Рис. 15. Дополнительное окно после старта Get Primers, для вовлечения актуальной сборки генома человека (на момент написания — GRCh38.p13) в поиск праймеров

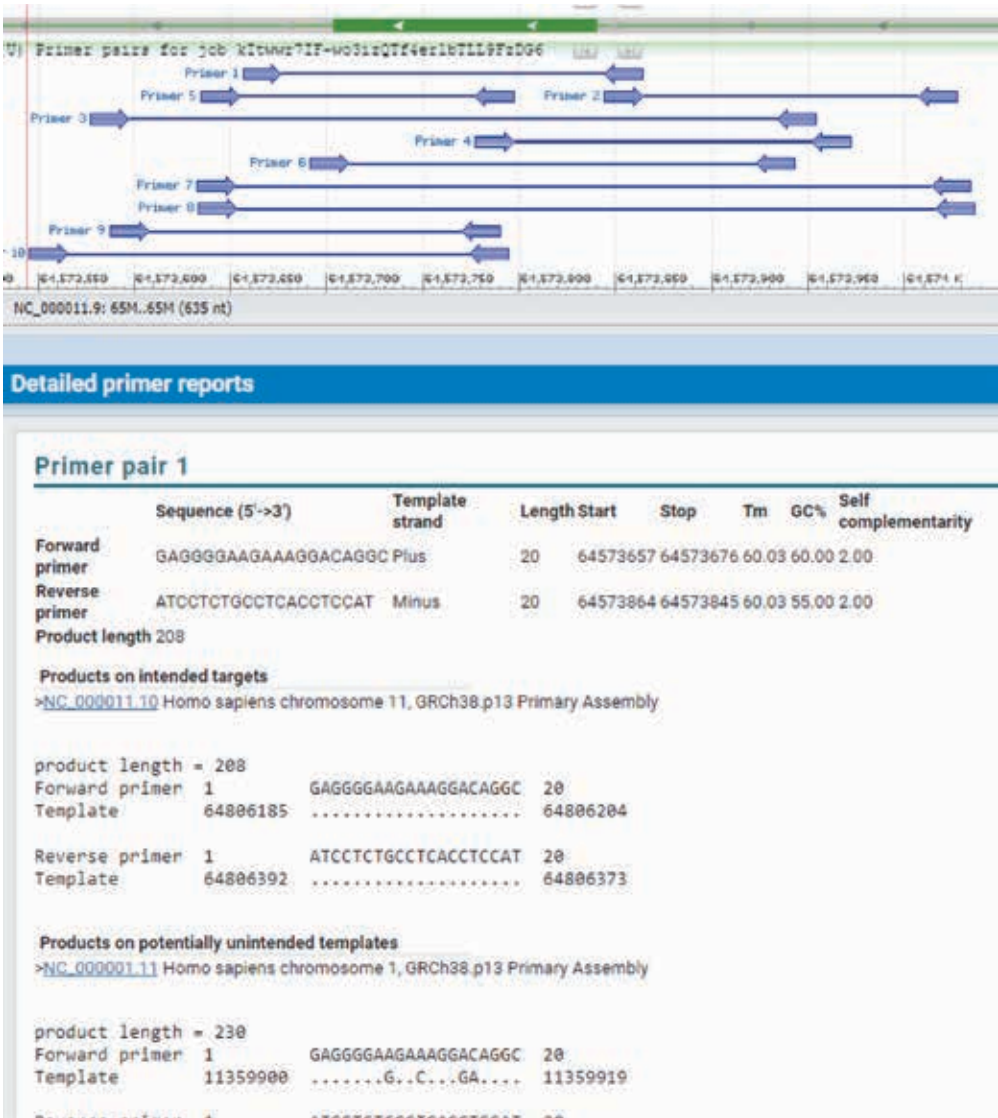


Рис. 16. Результат поиска праймеров, подобранных по видимому диапазону геномного браузера. Относительно расположения цели подходят только пары 1, 3, 6, 7 и 8. Остальные пары праймеров не захватывают цель полностью. В списке показана только первая пара праймеров; присутствует неспецифический продукт длиной 230 п.о.

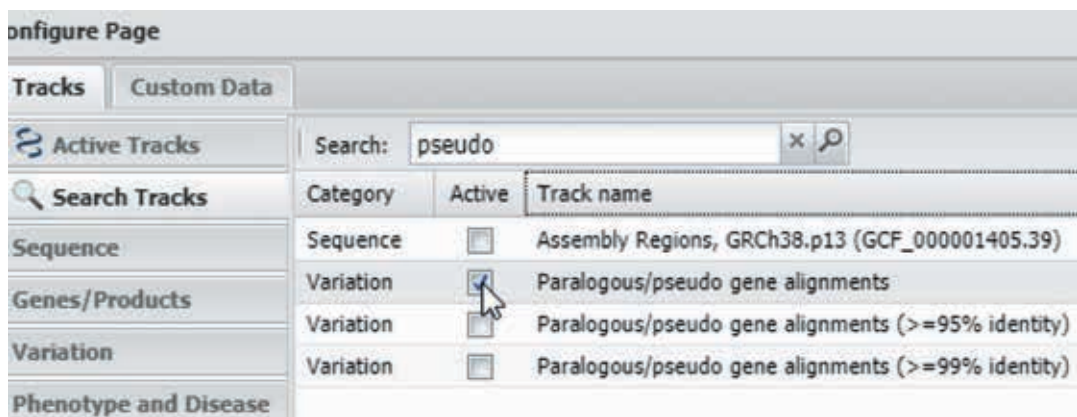


Рис. 17. Окно поиска псевдогенов. Отмечен трек, который отображает все псевдогены независимо от процента сходства с целевым участком ДНК

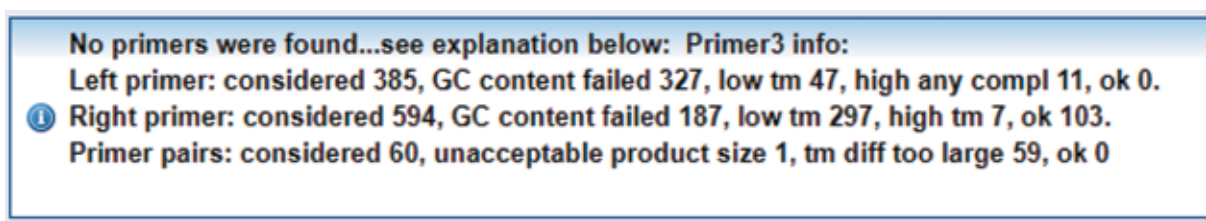


Рис. 18. Пример 1. Отрицательный результат поиска праймеров. Расшифровка сообщения:
 левый праймер: найдено 385 праймеров, содержание GC-пар не соблюдено у 327, слишком низкая Tm у 47, высокая степень димеризации (параметр Any) 11, хороших праймеров нет;
 правый праймер: найдено 594 праймера, содержание GC-пар не соблюдено у 187, слишком низкая Tm у 297, слишком высокая Tm у 7, хороших праймеров 103;
 пары праймеров: найдено 60 пар, недопустимый размер продукта у одной пары, слишком большая разница в температурах плавления праймеров у 59, приемлемых вариантов нет

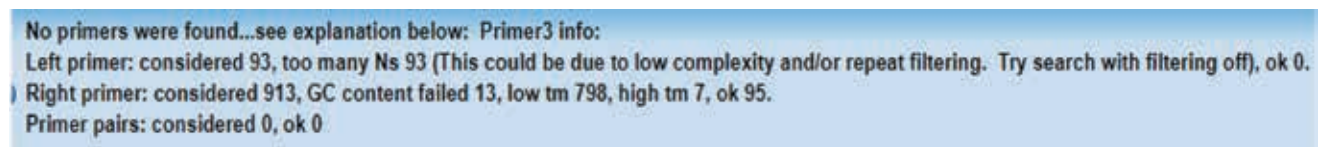


Рис. 19. Пример 2. Отрицательный результат поиска праймеров на участке ДНК, содержащем многочисленные тандемные или мононуклеотидные повторы

GRCh38.p13), например GRCh37.p13, после запуска старта в новом окне появится запрос на дополнительное использование похожих последовательностей из актуальной сборки на момент поиска, чтобы увеличить шансы выбора наиболее специфичных праймеров. Для включения текущей версии сборки в подбор праймеров необходимо поставить «галочку» в соответствующем окне (рис. 15) и нажать Submit, после чего в онлайн-режиме будет запущен процесс подбора праймеров. Обратите внимание, что если изначально в геномном браузере (рис. 1) выбрана актуальная версия сборки генома, то этого запроса после старта Get Primers не будет.

Анализ результатов поиска праймеров

В первую очередь оценивается расположение пары праймеров относительно целевого участка ДНК (рис. 16) и количество ПЦР-продуктов, которые потенциально могут быть амплифицированы с использованием данной пары праймеров (в идеале должна быть амплификация только одного участка матрицы ДНК, содержащего цель). Затем внимание уделяется нуклеотидному составу праймеров (особенно на 3'-концах) и их комплементарности друг другу, проверяется содержание GC-пар. Окончательный выбор делается на основе анализа разницы между температурами плавления прямого

и обратного праймеров, с учетом средней температуры плавления (T_m).

Если изначально по всем разделам (см. выше) были выставлены необходимые требования, то из всех параметров останется проанализировать только нуклеотидную последовательность праймеров. Это единственный параметр, который онлайн-ресурс не оценивает автоматически. Так, для улучшения качества гибридизации праймеры на 3'-конце должны содержать GC-основания, но Primer-BLAST не всегда соблюдает этот параметр. Далее задача пользователя — решить, какая пара праймеров будет наиболее эффективно работать для его целей. Например, пара праймеров с АТ-нуклеотидами на 3'-конце, но амплифицирующая только один целевой участок ДНК (результат — один ПЦР-продукт), или пара праймеров с GC нуклеотидами на 3'-конце, но имеющая сродство к нескольким участкам матрицы ДНК, и, соответственно, будут получены несколько ПЦР-продуктов.

Завершающим этапом проверки праймеров является проверка специфичности гибридизации, так как даже абсолютно уникальные праймеры для целевой ДНК-матрицы могут иногда гибридизоваться с неспецифичными последовательностями. С этой целью в новом окне браузера открывается программа Primer-BLAST; если в ней сохранились ранее установленные параметры, то все настройки сбрасываются с помощью кнопки Reset page, которая расположена справа от заголовка раздела PCR Template. В разделе Primer parameters в поле Use my own forward primer и поле Use my own reverse primer (см. рис. 11) вписываются нуклеотидные последовательности прямого и обратного праймеров соответственно. Выбирается база данных Genomes for selected organisms (primary reference assembly only). Обратите внимание, обязательно нужно снять флажок с фильтра Low complexity в расширенных параметрах, после чего снова запустить процесс поиска праймеров. Ранее во время дизайна праймеров в онлайн-ресурсе Primer-BLAST был задан ряд ограничений, а сейчас ограничения сняты и использование районов с повторами разрешено. Результат поиска праймеров в данном случае покажет все возможные ПЦР-продукты для анализируемой пары праймеров, включая неспецифичные участки, если все-таки есть вероятность гибридизации данной пары на различных участках. Если пары праймеров подобраны идеально — программа выдаст только один целевой ПЦР-продукт, что дополнительно позволит пользователю удостовериться в правильности выбора пары праймеров.

Таким же образом можно проверить любые другие праймеры, например, полученные из какой-либо статьи или от другого человека. Primer-BLAST покажет пользователю температуру плавления обоих праймеров (прямого и обратного), процентное содержание GC-пар, вероятность димеризации, размер ПЦР-продукта и ген, комплементарный последовательностям праймеров.

Возможные проблемы при подборе праймеров и пути их решения

В данном разделе рассматриваются некоторые проблемы, которые могут встретиться при подборе праймеров:

- Праймеры не уникальны — после завершающей проверки с использованием онлайн-ресурса Primer-BLAST определяются несколько разных мест для гибридизации праймеров. Целесообразно вернуться к заданным параметрам поиска и увеличить строгость параметров поиска (см. вкладку Advanced parameters).

- Если после неоднократных изменений параметров поиска так и не удастся получить пару праймеров, которая будет специфично амплифицировать только целевой ПЦР-продукт, то рекомендуется выбирать пару праймеров, которая будет амплифицировать целевой ПЦР-продукт, отличающийся от неспецифичных ПЦР-продуктов не менее чем на 100–200 нуклеотидов, чтобы их можно было легко разделить в агарозном геле-электрофорезе. Дополнительным критерием выбора пары праймеров будет высокая температура отжига.

- Наличие псевдогенов, дублирующих исследуемый участок ДНК. После запуска Get Primers, в случае наличия псевдогенов, появится запрос на использование подобных последовательностей (аналогично рис. 15). В поле Identity будет приведен процент сходства, как правило, меньше 100 %, а в поле Gene — название псевдогена. В этом случае очень велика вероятность того, что ПЦР-продуктов будет два, причем одинаковой длины. Если нет возможности избежать псевдогена, сдвинув район поиска в любую сторону, то решением проблемы будет поиск праймеров для участка ДНК гораздо большего размера, чем планировалось ранее, чтобы перекрыть этот псевдоген. Такой длинноразмерный ПЦР-продукт, в свою очередь, можно использовать как матрицу для последующей ПЦР (nested PCR) с внутренней парой праймеров, которая будет амплифицировать нужный фрагмент ДНК-матрицы, что позволит в результате получить специфический ПЦР-продукт. Для поиска псевдогенов и определения их границ используют закладки Search Tracks (см. рис. 6 и 7) в меню конфигу-

рации треков геномного браузера, в поле Search указывают pseudo (рис. 17). Браузер отобразит псевдогены, соответствующие последовательностям исследуемого гена, даже если они находятся на другой хромосоме.

- Результат поиска праймеров отрицательный, онлайн-ресурс Primer-BLAST выдает сообщение со списком проблем, препятствующих поиску праймеров. Необходимо проанализировать полученную информацию и отредактировать заданные критерии поиска праймеров (рис. 18 и 19).

В этом случае можно сначала повысить допустимое содержание GC-пар (температура плавления связана с нуклеотидным составом, при повышении количества GC-пар температура повысится автоматически) и провести поиск праймеров заново. При сохранении информации о большой разнице в температурах плавления праймеров, придется расширить допуск максимума до значения «по умолчанию». Если проблема с димеризацией продолжает возникать, то остается ослабить это требование (но не более чем до значения «по умолчанию») или изменить участок потенциального поиска праймера, так как при прочих решенных проблемах, вопрос димеризации праймеров оказывается связан с нуклеотидным составом зоны поиска.

В этом примере кроме проблем, описанных выше, один из праймеров попал на участок ДНК со слишком низкой сложностью нуклеотидного состава. Для получения результата необходимо отключить фильтрацию повторов. При этом целесообразно расширить, сузить или сдвинуть район поиска праймеров.

Заключение

Онлайн-ресурс Primer-BLAST является одним из лучших инструментов для конструирования и поиска праймеров. Рекомендуются помимо основной пары праймеров сохранять несколько дополнительных вариантов до тех пор, пока подобранные праймеры не будут проверены на практике. Не следует забывать, что любые биоинформатические ресурсы работают на депонированных на данный момент нуклеотидных последовательностях, а с учетом непрерывного мутационного процесса не удивительно, что иногда все же случается так, что теоретически идеальные праймеры на практике оказываются не слишком хороши, а не слишком хорошие — отлично работают.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, et al. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. BMC Bioinformatics. 2012;13:134. DOI: 10.1186/1471-2105-13-134.
2. Kozyreva AA, Kalinina OV, Zlotina AM, et al. Dizain praimerov s ispol'zovaniem baz dannykh NCBI: uchebnoe posobie dlya aspirantov i magistrantov k prakticheskim zanyatiyam. SPb.: Izd-vo SPBGENTU «LENTI», 2021. 31 p. [Козырева А.А., Калинина О.В., Злотина А.М. и др. Дизайн праймеров с использованием баз данных NCBI: учебное пособие для аспирантов и магистрантов к практическим занятиям. СПб.: Изд-во СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2021. 31 с.].
3. NCBI. National Center for Biotechnology Information Search database. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (01 May 2021).
4. Primer-BLAST. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi> (01 May 2021).
5. Gene <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=> (01 May 2021).

Информация об авторах:

Козырева Александра Анатольевна, к.б.н., старший научный сотрудник Института молекулярной биологии и генетики, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Злотина Анна Михайловна, к.б.н., научный сотрудник Института молекулярной биологии и генетики, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Головкин Алексей Сергеевич, д.м.н., ведущий научный сотрудник Института молекулярной биологии и генетики, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Калинина Ольга Викторовна, д.б.н., декан факультета биомедицинских наук Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Костарева Анна Александровна, д.м.н., директор Института молекулярной биологии и генетики, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Kozyreva Alexandra A., PhD, Senior Research Fellow, Institute of Molecular Biology and Genetics, Almazov National Medical Research Centre;

Zlotina Anna M., PhD, Research Fellow, Institute of Molecular Biology and Genetics, Almazov National Medical Research Centre;

Golovkin Alexey S., Dr. Sci., MD, Leading Researcher, Institute of Molecular Biology and Genetics, Almazov National Medical Research Centre;

Kalinina Olga V., Dr. Sci., Dean of the Faculty of Biomedical Sciences, Institute of Medical Education, Almazov National Medical Research Centre;

Kostareva Anna A., Dr. Sci., MD, Director of the Institute of Molecular Biology and Genetics, Almazov National Medical Research Centre.