



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

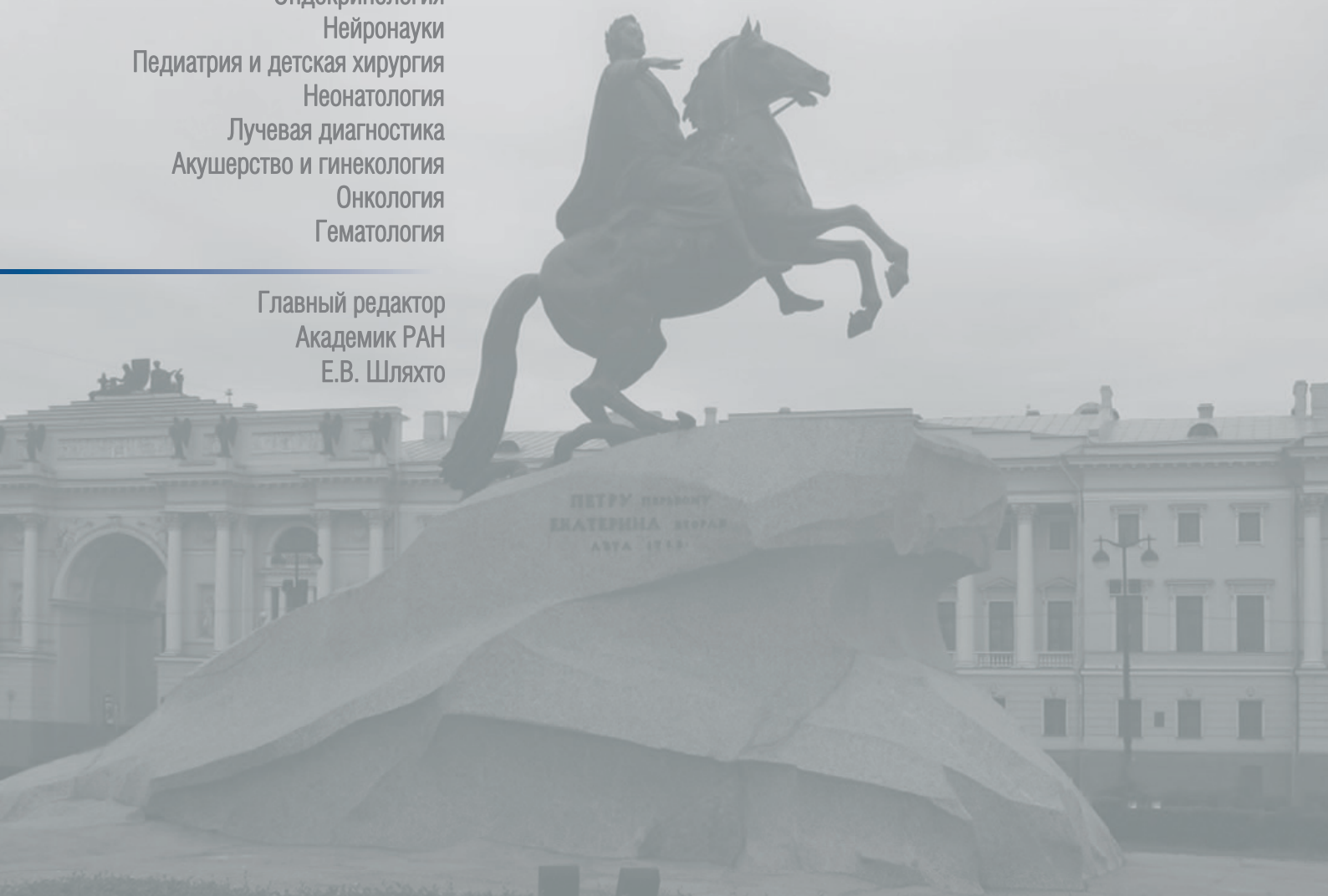
Трансляционная Медицина Translational Medicine

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал

том 9 № 5 / 2022

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 9 № 5 / 2022

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

Шляхто Е. В.

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Конради А. О.

Галагудза М. М.

ISSN 2311–4495 (печатная версия)
ISSN 2410–5155 (электронная версия)

ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР

Докшин П. М.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Беленков Ю. Н. (Москва)
Вавилова Т. В. (Санкт-Петербург)
Вебер В. Р. (Великий Новгород)
Волкова Н. И. (Ростов-на-Дону)
Галявич А. С. (Казань)
Гринева (Санкт-Петербург)
Гринштейн Ю. И. (Красноярск)
Даренская М. А. (Иркутск)
Ефремушкина А. А. (Барнаул)
Захарова И. Н. (Москва)
Зенин С. А. (Новосибирск)
Королев Д. В. (Санкт-Петербург)
Кашталап В. В. (Кемерово)
Климонтов В. В. (Новосибирск)
Костарева А. А. (Санкт-Петербург)
Лебедев Д. С. (Санкт-Петербург)
Лопатин Ю. М. (Волгоград)

Макаров С. А. (Кемерово)
Малашичева А. Б. (Санкт-Петербург)
Меликян М. А. (Москва)
Моисеева О. М. (Санкт-Петербург)
Неймарк М. И. (Барнаул)
Никитина И. Л. (Санкт-Петербург)
Протасов К. В. (Иркутск)
Рыжкова Д. В. (Санкт-Петербург)
Рябов В. В. (Томск)
Савченко А. А. (Красноярск)
Садыкова Д. И. (Казань)
Самородов А. В. (Уфа)
Сироткина О. В. (Санкт-Петербург)
Троян В. Н. (Москва)
Усов В. Ю. (Томск)
Чесникова А. И. (Ростов-на-Дону)
Шаповалов К. Г. (Чита)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Ольшанский Б. (США)
Ханссон Г. (Швеция)
Сёберг Г. (Швеция)
Керр Д. (США)
Бакс Ж. (Нидерланды)
Массард Ж. (Франция)
Орлов М. (США)
Содер О. (Швеция)
Феррари Р. (Италия)
Хельманн Р. (Германия)
Сили-Торок Т. (Нидерланды)
Сейерсен Т. (Швеция)
Вааге Я. (Норвегия)
Беркович О. А. (Санкт-Петербург)
Виллеальде С. В. (Санкт-Петербург)
Головкин А. С. (Санкт-Петербург)
Голухова Е. З. (Москва)
Гудкова А. Я. (Санкт-Петербург)
Гурьева И. В. (Москва)
Дземешкевич С. Л. (Москва)
Жлоба А. А. (Санкт-Петербург)
Зазерская И. Е. (Санкт-Петербург)
Заклязьменская Е. В. (Москва)
Звартау Н. Э. (Санкт-Петербург)
Калуев А. В. (Санкт-Петербург)
Карпенко М. А. (Санкт-Петербург)
Карпов Р. С. (Томск)
Козырев С. В. (Санкт-Петербург)
Кухарчик Г. А. (Санкт-Петербург)
Лишманов Ю. Б. (Томск)
Ломиворотов В. В. (Новосибирск)
Мазурок В. А. (Санкт-Петербург)
Маслов Л. Н. (Томск)
Мельниченко Г. А. (Москва)
Михайлов Е. Н. (Санкт-Петербург)
Мосоян М. С. (Санкт-Петербург)
Недошивин А. О. (Санкт-Петербург)
Неймарк А. Е. (Санкт-Петербург)
Поддубный И. В. (Москва)
Пузырев В. П. (Томск)
Салогуб Г. Н. (Санкт-Петербург)
Самочерных К. А. (Санкт-Петербург)
Сидоркевич С. В. (Санкт-Петербург)
Ткачук В. А. (Москва)
Труфанов Г. Е. (Санкт-Петербург)
Фадеев В. В. (Москва)
Чернявский М. А. (Санкт-Петербург)
Шевцов М. А. (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. Корректура — А. В. Медведева

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: bulleten@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. © 2022.

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

Evgeny Shlyakhto

DEPUTY EDITORS:

Alexandra Konradi

Mikhail Galagudza

ISSN 2311-4495 (printed)

ISSN 2410-5155 (online)

TECHNICAL EDITOR

Pavel Docshin

EDITORIAL BOARD:

Yu. Belenkov (Moscow)	M. Neimark (Barnaul)
A. Chesnikova (Rostov-on-Don)	I. Nikitina (St. Petersburg)
M. Darenskaya (Irkutsk)	K. Protasov (Irkutsk)
A. Efremushkina (Barnaul)	V. Ryabov (Tomsk)
A. Galyavich A. S. (Kazan)	D. Ryzhkova (St. Petersburg)
E. Grineva (St. Petersburg)	D. Sadykova (Kazan)
Yu. Grinshtein (Krasnoyarsk)	A. Samorodov (Ufa)
V. Kashtalap (Kemerovo)	A. Savchenko (Krasnoyarsk)
V. Klimontov (Novosibirsk)	K. Shapovalov (Chita)
D. Korolev (St. Petersburg)	O. Sirotkina (St. Petersburg)
A. Kostareva (St. Petersburg)	V. Troyan (Moscow)
D. Lebedev (St. Petersburg)	V. Usov (Tomsk)
Yu. Lopatin (Volgograd)	T. Vavilova (St. Petersburg)
S. Makarov (Kemerovo)	N. Volkova (Rostov-on-Don)
A. Malashicheva (St. Petersburg)	V. Weber (Veliky Novgorod)
M. Melikyan (Moscow)	I. Zakharova (Moscow)
O. Moiseeva (St. Petersburg)	S. Zenin (Novosibirsk)

**INTERNATIONAL EDITORIAL
COUNCIL:**

J. Bax (Netherlands)
R. Ferrari (Italy)
G. Hansson (Sweden)
R. Hehlmann (Germany)
D. Kerr (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)
O. Berkovich (St. Petersburg)
M. Chernyavsky (St. Petersburg)
S. Dzemeshevich (Moscow)
V. Fadeev (Moscow)
A. Golovkin (St. Petersburg)
E. Golukhova (Moscow)
A. Gudkova (St. Petersburg)
I. Guryeva (Moscow)
A. Kaluev (St. Petersburg)
M. Karpenko (St. Petersburg)
R. Karpov (Tomsk)
S. Kozyrev (St. Petersburg)
G. Kukharchik (St. Petersburg)
Yu. Lishmanov (Tomsk)
V. Lomivorotov (Novosibirsk)
L. Maslov (Tomsk)
V. Mazurok (St. Petersburg)
G. Melnichenko (Moscow)
E. Mikhailov (St. Petersburg)
M. Mosoyan (St. Petersburg)
A. Nedoshvin (St. Petersburg)
A. Neumark (St. Petersburg)
I. Poddubny (Moscow)
V. Puzyrev (Tomsk)
G. Salogub (St. Petersburg)
K. Samochernykh (St. Petersburg)
M. Shevtsov (St. Petersburg)
S. Sidorkevich (St. Petersburg)
V. Tkachuk (Moscow)
G. Trufanov (St. Petersburg)
S. Villevalde (St. Petersburg)
E. Zaklyazmenskaya (Moscow)
I. Zazerskaya (St. Petersburg)
A. Zhloba (St. Petersburg)
N. Zvartau (St. 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.

18+

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

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: bulleten@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. © 2022.

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.

СОДЕРЖАНИЕ

СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

5 Берген Т. А., Труфанов Г. Е., Александрова С. А., Сеницын В. Е., Шумилина М. В., Рычина И. Е., Таркова А. Р., Фокин В. А., Скрипник А. Ю., Дорофеев А. В., Чернявский М. А., Чернявский А. М., Голухова Е. З., Шляхто Е. В.
ЭКСПЕРТНЫЙ КОНСЕНСУС НАЦИОНАЛЬНЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ЦЕНТРОВ ПО ПРОФИЛЮ «СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ ХИРУРГИЯ» И РОССИЙСКОГО ОБЩЕСТВА РЕНТГЕНОЛОГОВ И РАДИОЛОГОВ: ПРИНЦИПЫ И ТЕХНОЛОГИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОВ ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ПАТОЛОГИИ БРАХИОЦЕФАЛЬНЫХ СОСУДОВ

20 Мирзоев Н. Т., Шуленин К. С., Кутелев Г. Г., Черкашин Д. В., Иванов В. В., Меньков И. А.
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ МИОКАРДИАЛЬНЫХ «МОСТИКОВ»

33 Галимова Л. Ф., Садыкова Д. И., Макарова Т. П., Камалова А. А., Мельникова Ю. С., Слостникова Е. С., Рахмаева Р. Ф., Петрова М. А., Мустафаева А. А., Семенова Г. Г.
ОЦЕНКА ГЛОБАЛЬНОЙ, СЕГМЕНТАРНОЙ ПРОДОЛЬНОЙ ДЕФОРМАЦИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА И ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У ДЕТЕЙ С СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ

ОБЗОРЫ

44 Мирошников М. В., Султанова К. Т., Макарова М. Н., Макаров В. Г.
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ОБЗОР АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P450 ЧЕЛОВЕКА И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ. ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ ДОКЛИНИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ IN VIVO

МЕТОДОЛОГИЧЕСКАЯ СТАТЬЯ

78 Золотова Е. А., Мельничникова О. С., Симакова М. А., Жиленкова Ю. И., Сироткина О. В., Вавилова Т. В.
АНАЛИЗ МЕЖИНДИВИДУАЛЬНОЙ ВАРИАЦИИ И РЕФЕРЕНТНЫЕ ИНТЕРВАЛЫ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТЕСТА ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

87 Гришук И. В., Свиридов Э. Е., Кузнецов С. И., Сорокин Д. В., Знаменский В. А., Абдуллина Л. У., Чубарова М. Р., Киселева А. Д., Минасян С. М., Постнов В. Н., Буркова Н. В.
ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ УГЛЕРОДНЫЕ НАНОТРУБКИ КАК АКТИВАТОРЫ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ ПРИ КОНТАКТНОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА

96 Чистякова И. В., Бакаленко Н. И., Малашичева А. Б., Атюков М. А., Петров А. С.
РОЛЬ NOTCH-ЗАВИСИМОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ РЕЗИДЕНТНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ В РАЗВИТИИ ЛЕГОЧНОГО ФИБРОЗА

CONTENT

CARDIOVASCULAR MEDICINE

5 Tatyana A. Bergen, Gennady E. Trufanov, Svetlana A. Alekxandrova, Valentin E. Sinitsyn, Margarita V. Shumilina, Inna E. Rychina, Alexandra R. Tarkova, Vladimir A. Fokin, Aleksey Yu. Skripnik, Aleksey V. Dorofeev, Mikhail A. Chernyavskiy, Alexandr M. Chernyavskiy, Elena Z. Golukhova, Evgeny V. Schlyakhto
EXPERT CONSENSUS OF NATIONAL MEDICAL RESEARCH CENTERS IN THE FIELD OF CARDIOVASCULAR SURGERY AND THE RUSSIAN SOCIETY OF RADIOLOGISTS: PRINCIPLES AND TECHNOLOGY FOR USING RADIOLOGY METHODS IN PATHOLOGY OF BRACHIOCEPHALIC VESSELS

20 Nikita T. Mirzoev, Konstantin S. Shulenin, Gennady G. Kutelev, Dmitry V. Cherkashin, Vladimir V. Ivanov, Igor A. Menkov
THE CURRENT STATE OF THE PROBLEM OF MYOCARDIAL BRIDGES

33 Liliya F. Galimova, Dinara I. Sadykova, Tamara P. Makarova, Aelita A. Kamalova, Yulia S. Melnikova, Evgenia S. Slastnikova, Razilya F. Rakhmaeva, Maria A. Petrova, Almira A. Mustafaeva, Gulnur G. Semenova
ASSESSMENT OF GLOBAL, SEGMENTAL LONGITUDINAL DEFORMATION OF THE LEFT VENTRICLE AND ENDOTHELIAL FUNCTION IN CHILDREN WITH FAMILY HYPERCHOLESTEROLEMIA

REVIEWS

44 Mikhail V. Miroshnikov, Kira T. Sultanova, Marina N. Makarova, Valery G. Makarov
A COMPARATIVE REVIEW OF THE ACTIVITY OF ENZYMES OF THE CYTOCHROME P450 SYSTEM IN HUMANS AND LABORATORY ANIMALS. PROGNOSTIC VALUE OF PRECLINICAL MODELS IN VIVO

METHODOLOGICAL ARTICLE

78 Ekaterina A. Zolotova, Olga S. Melnichnikova, Maria A. Simakova, Yulia I. Zhilenkova, Olga V. Sirotkina, Tatiana V. Vavilova
ANALYSIS OF INTER-INDIVIDUAL VARIATION AND REFERENCE INTERVALS OF THROMBIN GENERATION TEST PARAMETERS USING DIFFERENT TECHNOLOGIES

EXPERIMENTAL STUDIES

87 Ivan V. Grischuk, Erik E. Sviridov, Sergei I. Kuznetsov, Dmitry V. Sorokin, Victor A. Znamensky, Laysan U. Abdullina, Mariya R. Chubarova, Anastasia D. Kiseleva, Sarkis M. Minasyan, Victor N. Postnov, Natalya V. Burkova
IMMOBILIZED CARBON NANOTUBES AS ACTIVATORS OF CELLULAR ELEMENTS OF BLOOD IN CONTACT INTERACTION

REGENERATIVE MEDICINE

96 Irena V. Chistyakova, Nadezhda I. Bakalenko, Anna B. Malashicheva, Mikhail A. Atyukov, Andrey S. Petrov
THE ROLE OF NOTCH-DEPENDENT DIFFERENTIATION OF RESIDENT FIBROBLASTS IN THE DEVELOPMENT OF PULMONARY FIBROSIS

ЭКСПЕРТНЫЙ КОНСЕНСУС НАЦИОНАЛЬНЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ЦЕНТРОВ ПО ПРОФИЛЮ «СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ ХИРУРГИЯ» И РОССИЙСКОГО ОБЩЕСТВА РЕНТГЕНОЛОГОВ И РАДИОЛОГОВ: ПРИНЦИПЫ И ТЕХНОЛОГИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОВ ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ПАТОЛОГИИ БРАХИОЦЕФАЛЬНЫХ СОСУДОВ

Берген Т. А.¹, Труфанов Г. Е.², Александрова С. А.³,
Синицын В. Е.⁴, Шумилина М. В.³, Рычина И. Е.³, Таркова А. Р.¹,
Фокин В. А.², Скрипник А. Ю.², Дорофеев А. В.³,
Чернявский М. А.², Чернявский А. М.¹, Голухова Е. З.³,
Шляхто Е. В.²

Контактная информация:

Берген Татьяна Андреевна,
ФГБУ «НМИЦ им. акад.
Е. Н. Мешалкина» Минздрава России,
ул. Речкуновская, д. 15, Новосибирск,
Россия, 630055.
E-mail: bergen_t@meshalkin.ru

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
академика Е. Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-
сосудистой хирургии имени А. Н. Бакулева» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Московский государственный
университет имени М. В. Ломоносова»

Статья поступила в редакцию 11.10.2022
и принята к печати 27.10.2022.

Резюме

В ежедневной клинической практике методы лучевой диагностики широко применяют при оказании медицинской помощи пациентам с часто встречающимися заболеваниями брахиоцефальных сосудов (БЦС). В работе приведены рекомендации по методикам выполнения трудоемких и дорогостоящих лучевых методов исследований (ультразвуковое исследование (УЗИ), компьютерная томография (КТ), компьютерно-томографическая ангиография (КТА) артерий, КТА вен, магнитно-резонансная томография (МРТ)) у пациентов с заболеваниями брахиоцефальных сосудов. В их основу легли рекомендации экспертов, литературные источники и практический опыт применения методов лучевой диагностики.

Статья содержит структурированные сведения, касающиеся технологии проведения УЗИ, КТА артерий, КТА вен и МРТ у пациентов при стенозе артерий, расслоении (диссекции) артерий, сосудистой мальформации, синус-тромбозе, атеросклерозе. Данные рекомендации являются универсальными и подходят для большинства медицинских учреждений, выполняющих УЗИ, КТ и МРТ брахиоцефальных сосудов.

Соблюдение этих правил позволит повысить клинико-экономическую эффективность при диагностике, лечении и реабилитации пациентов с заболеваниями брахиоцефальных сосудов путем стандартизации процедур УЗИ, КТ, МРТ, эффективно использовать ресурсы учреждений здравоохранения всех уровней при выполнении лучевых методов исследований.

Работа предназначена для всех категорий медицинских работников, выполняющих лучевые методы исследования при заболеваниях брахиоцефальных сосудов (врачей ультразвуковой диагностики, врачей функциональной диагностики, врачей-рентгенологов, рентгенолаборантов) и использующих их результаты в клинической практике (врачей-кардиологов, сердечно-сосудистых хирургов, неврологов, нейрохирургов, анестезиологов-реаниматологов, терапевтов).

Ключевые слова: аневризма, диссекция, КТА, МРТ, расслоение, стеноз, томография, УЗИ.

Для цитирования: Берген Т.А., Труфанов Г.Е., Александрова С.А., Синицын В.Е., Шумилина М.В., Рычина И.Е., Таркова А.Р., Фокин В.А., Скрипник А.Ю., Дорофеев А.В., Чернявский М.А., Чернявский А.М., Голухова Е.З., Шляхто Е.В. Экспертный консенсус национальных медицинских исследовательских центров по профилю «сердечно-сосудистая хирургия» и Российского общества рентгенологов и радиологов: принципы и технология использования методов лучевой диагностики при патологии брахиоцефальных сосудов. Трансляционная медицина. 2022;9(5):5-19. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-5-19.

EXPERT CONSENSUS OF NATIONAL MEDICAL RESEARCH CENTERS IN THE FIELD OF CARDIOVASCULAR SURGERY AND THE RUSSIAN SOCIETY OF RADIOLOGISTS: PRINCIPLES AND TECHNOLOGY FOR USING RADIOLOGY METHODS IN PATHOLOGY OF BRACHIOCEPHALIC VESSELS

Tatyana A. Bergen¹, Gennady E. Trufanov²,
Svetlana A. Alekxandrova³, Valentin E. Sinitsyn⁴,
Margarita V. Shumilina³, Inna E. Rychina³, Alexandra R. Tarkova¹,
Vladimir A. Fokin², Aleksey Yu. Skripnik², Aleksey V. Dorofeev³,
Mikhail A. Chernyavskiy², Alexandr M. Chernyavskiy¹,
Elena Z. Golukhova³, Evgeny V. Schlyakhto²

Corresponding author:
Tatyana A. Bergen,
Meshalkin National Medical Research
Center,
Rechkunovskaya str., 15, Novosibirsk,
Russia, 630055.
E-mail: bergen_t@meshalkin.ru

Received 11 October 2022; accepted
27 October 2022.

¹ Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russia

² Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

³ A. N. Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery, Moscow, Russia

⁴ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Abstract

In routine clinical practice, methods of radiation diagnostics are widely used in the provision of medical care to patients with common diseases of the brachiocephalic vessels (BCV). This article provides recommendations on methods for performing time-consuming and expensive radiological methods (ultrasound (US), computed tomography (CT), computed tomography angiography (CTA) arteries, CTA veins, magnetic resonance imaging (MRI)) in patients with diseases of the brachiocephalic vessels. Based on the recommendations of experts, literature sources and practical experience in the application of radiology methods.

This guide contains structured information regarding the technology of US, CTA and MRI in patients with artery stenosis, artery dissection, vascular malformation, venous sinus thrombosis, and atherosclerosis. These recommendations are universal and are suitable for most medical institutions that perform US, CT and MRI of brachiocephalic vessels.

Compliance with these rules will improve clinical and economic efficiency in the diagnosis, treatment and rehabilitation of patients with diseases of the brachiocephalic vessels by standardizing procedures of US, CT, MRI, and effectively use the resources of a Healthcare at all levels when performing radiological methods.

The manual is intended for all categories of medical staff performing radiological methods in diseases of brachiocephalic vessels (US doctors, functional diagnostics doctors, radiologists) and using their results in clinical practice (cardiologists, cardiovascular surgeons, neurologists, neurosurgeons, anesthesiologists, therapists).

Key words: aneurysm, CTA, dissection, MRI, stenosis, tomography, ultrasound.

For citation: Bergen TA, Trufanov GE, Alekxandrova SA, Sinitsyn VE, Shumilina MV, Rychina IE, Tarkova AR, Fokin VA, Skripnik AY, Dorofeev AV, Chernyavskiy MA, Chernyavskiy AM, Golukhova EZ, Schlyakheto EV. Expert consensus of national medical research centers in the field of cardiovascular surgery and the Russian society of radiologists: principles and technology for using radiology methods in pathology of brachiocephalic vessels. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022;9(5):5-19. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-5-19.

Список сокращений: БЦА — брахиоцефальные артерии, БЦС — брахиоцефальные сосуды, ВСА — внутренняя сонная артерия, КВ — контрастное вещество, КТ — компьютерная томография, КТА — компьютерно-томографическая ангиография, КТВ — компьютерная томография вен, ЛСК — линейная скорость кровотока, МРТ — магнитно-резонансная томография, ОСА — общая сонная артерия, ПЭТ — позитронная эмиссионная томография, УЗД — ультразвуковая диагностика, УЗИ — ультразвуковое исследование, ЭКГ — электрокардиограмма.

В ежедневной клинической практике методы лучевой диагностики широко применяют при оказании медицинской помощи пациентам с часто встречающимися заболеваниями брахиоцефальных сосудов. Лучевые методы необходимы для выявления и оценки характера патологических изменений, как средство контроля после открытых и эндоваскулярных вмешательств.

К наиболее часто применяемым, трудоемким и технически сложно исполнимым методам диагностики патологии БЦС относят УЗИ, КТ и МРТ. Многочисленные технологические сложности и отсутствие единых стандартов при выполнении этих дорогостоящих методов создали острую потребность в данной публикации.

УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ

УЗИ, КТ, МРТ выполняют при всех видах и формах медицинской помощи в амбулаторных условиях, условиях дневного стационара, стационарно

по направлению лечащего врача с обязательным указанием на наличие или отсутствие у пациента противопоказаний к проведению такого вида исследований. Содержание направления регламентируется приказами (приказ Минздрава России № 557н «Об утверждении Правил проведения ультразвуковых исследований» от 8 июня 2020 г. [12] и приказ № 560н Минздрава России «Об утверждении Правил проведения рентгенологических исследований» от 9 июня 2020 г. [13]).

Перед исследованием рекомендуется проводить измерение артериального давления. Синхронизации с электрокардиограммой (ЭКГ) не требуется.

По результатам проведения исследования оформляется протокол, обязательные пункты протокола регламентированы вышеуказанными приказами.

УЗИ БЦС

УЗИ может проводиться в условиях кабинета ультразвуковой диагностики (УЗД), у постели больного, в реанимации и палате интенсивной терапии с использованием цветовой ультразвуковой диагностической медицинской системы для проведения экспертных УЗИ сосудов взрослых и детей с многоплановой визуализацией в режиме реального времени.

Специалисты, выполняющие УЗИ сосудов: врач ультразвуковой диагностики, врач функциональной диагностики, врач-кардиолог.

УЗИ проводится по назначению лечащего врача или непосредственно лечащим врачом в случае врача-кардиолога (согласно профессиональному стандарту специалиста).

Требуемые технические параметры**Дуплексное сканирование экстракраниальных отделов брахиоцефальных артерий (БЦА):**

- линейный датчик, 3–12 МГц,
- конвексный датчик, 1–5 МГц,
- секторный датчик, 1–5 МГц,
- удовлетворительное акустическое окно,
- использование цветового доплеровского картирования.

Дуплексное сканирование интракраниальных отделов БЦА:

- секторный датчик, 1–5 МГц,
- удовлетворительное акустическое окно,
- использование цветового доплеровского картирования.

Противопоказания: нет.

КТА БЦА, КТА вен

КТ выполняют в условиях кабинета КТ с использованием автоматического инжектора для введения контрастного вещества (КВ).

Специалисты, выполняющие КТ: врач-рентгенолог, рентгенолаборант.

Требуемые технические параметры

- компьютерный томограф с числом рядов детекторов 64 и более (технически возможно проведение исследования на аппарате с числом рядов детекторов 16–32); предпочтительны аппараты с широкими детекторами, двухэнергетические (двухтрубчатые, с 2 рядами детекторов и т. п.) компьютерные томографы,

- автоматический инжектор для введения КВ.

Перед проведением КТА:

- установка периферического венозного катетера (желательно 18–20 G),
- исключение противопоказаний к введению КВ (аллергия, выраженное нарушение функции почек, прием метформин-содержащих препаратов при сахарном диабете и т. д. (при обследовании не по жизненным показаниям)),
- предпочтительно проведение исследования натощак (спустя как минимум 3 часа после приема пищи),
- наличие данных предыдущих исследований:
 - патология брахиоцефальных артерий: УЗД брахиоцефальных артерий (обязательно),
 - расслоение артерий: результат магнитно-резонансной томографии (при наличии), УЗД обязательно (УЗИ может не выполняться как первоочередной метод только при проведении обследования по жизненным показаниям),
 - сосудистые мальформации (например, аневризма артерии, артериовенозная мальформация): результат магнитно-резонансной томографии (при наличии).

Укладка пациента: лежа на спине с опущенным вдоль тела руками, головой по направлению к гентри.

Направление сканирования — снизу вверх.

Внутривенное контрастирование

КТА БЦА, артерий и вен головного мозга: используется двух- или трехфазный протокол введения контрастного вещества (КВ), предполагающий введение: 1) 10 мл физиологического раствора в качестве первой фазы (тест-болюс), 2) КВ в качестве второй фазы, 3) физиологического раствора (30–50 мл) в качестве третьей фазы. Возможно также использование более сложных протоколов введения КВ.

Применяется КВ с концентрацией йода 300–400 мг/мл.

При проведении КТА артерий: рекомендуемые скорости введения контрастного препарата и физиологического раствора варьируются в диапазоне 4,0–4,5 мл/сек. На более современных аппаратах оптимальные параметры рекомендуется уточнять у производителя оборудования.

Объем вводимого КВ должен рассчитываться непосредственно в момент исследования (после определения зоны и получения данных о продолжительности сканирования).

Средний объем КВ для взрослых: 50–60 мл — для КТА артерий головного мозга, 60–70 — для БЦА.

При выполнении КТ вен (КТВ) объем контрастного вещества рекомендуется увеличить до 100 мл.

Объем вводимого КВ для детей не должен превышать допустимых доз, согласно инструкции по применению КВ.

Порог отслеживания на тестовом срезе (BolusTracking, SureStart, SmartPrep) — выше 120 HU.

Требуется построение тонкосрезовой многоплоскостной реконструкции изображений, рекомендуется построение 3D реконструкций.

МРТ БЦС

Желательная опция: использование автоматического инжектора для введения контрастного вещества (КВ). Синхронизации с электрокардиограммой (ЭКГ) не требуется.

Специалисты, выполняющие МРТ: врач-рентгенолог, рентгенолаборант.

Требуемые технические параметры

- магнитно-резонансный томограф с силой индукции магнитного поля не менее 1,5 Тл.

Перед проведением МРТ БЦС:

- исключение абсолютных и относительных противопоказаний к исследованию,
- при использовании контрастного вещества:

- установка периферического венозного катетера (желательно 18–20 G),
- отсутствие противопоказаний к введению КВ (выраженное нарушение функции почек и т. д.),
- предпочтительно проведение исследования натощак (спустя как минимум 3 часа после приема пищи),
- наличие предыдущих данных рентгенологических или инструментальных исследований:
- результат УЗД (обязательно) и КТА (при наличии) при патологии брахиоцефальных артерий.

Информация для пациента

- Подготовка к УЗИ сосудов, МРТ без использования контрастного вещества не требуется.
- Подготовка к КТ и МРТ с контрастированием: в течение 3–6 часов перед исследованием не рекомендуется принимать пищу, пить воду и курить. Перед выполнением КТА необходимо сообщить врачу о заболеваниях щитовидной железы, сахарном диабете, аллергии на йод.

Алгоритм использования лучевых и инструментальных методов диагностики при подозрении на патологию БЦА

Алгоритм использования лучевых и инструментальных методов диагностики при подозрении на стеноз брахиоцефальных (наиболее часто сон-

ных) артерий (рис. 1), сосудистую мальформацию (в том числе аневризму артерий головного мозга) (рис. 2), расслоение артерий (рис. 3) и синус-тромбоз (рис. 4) представлен на рисунках 1–4.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ОКАЗАНИИ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ В ЭКСТРЕННОЙ ФОРМЕ

Интракраниальное кровоизлияние (разрыв аневризмы)

КТ головного мозга и оболочек: используется как первый метод диагностики в экстренной ситуации (первые минуты — первые сутки после свершившейся сосудистой катастрофы) для выявления признаков интракраниального кровоизлияния.

Проведение КТ:

Область исследования: от свода черепа до 1 шейного позвонка с многоплоскостной тонкосрезовой костной и мягкотканной реконструкцией.

Важные показатели при анализе и интерпретации полученных изображений:

- дислокация структур головного мозга (латеральная, аксиальная),
- гиперденсные линейные и очаговые изменения в веществе головного мозга и/или субарахноидальном пространстве базальных отделов головного мозга,

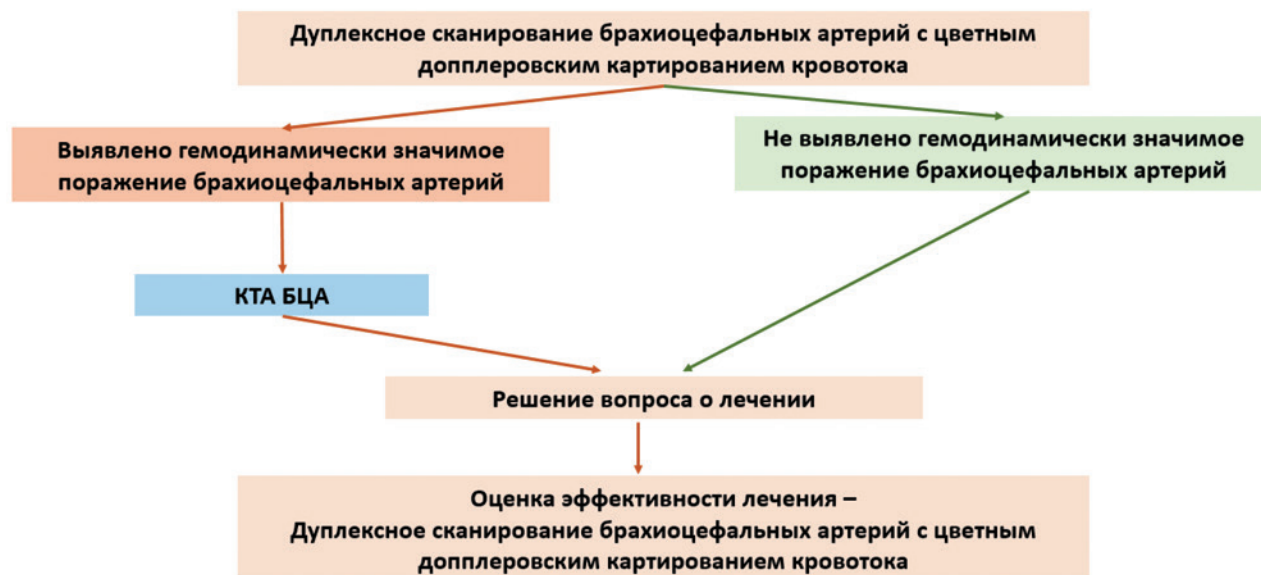


Рис. 1. Схема использования лучевых и инструментальных методов диагностики при подозрении на стеноз брахиоцефальных артерий

Figure 1. Scheme of the use of radiation and instrumental diagnostic methods for suspected stenosis of the brachiocephalic arteries

- признаки отека вещества головного мозга вокруг данных гипертензивных очагов.

Следует обращать особое внимание на:

- очаговые гипертензивные участки в оболочках,

- линейные гипертензивные участки в оболочках толщиной более 1 мм,

- распространенные линейные гипертензивные участки в оболочках.

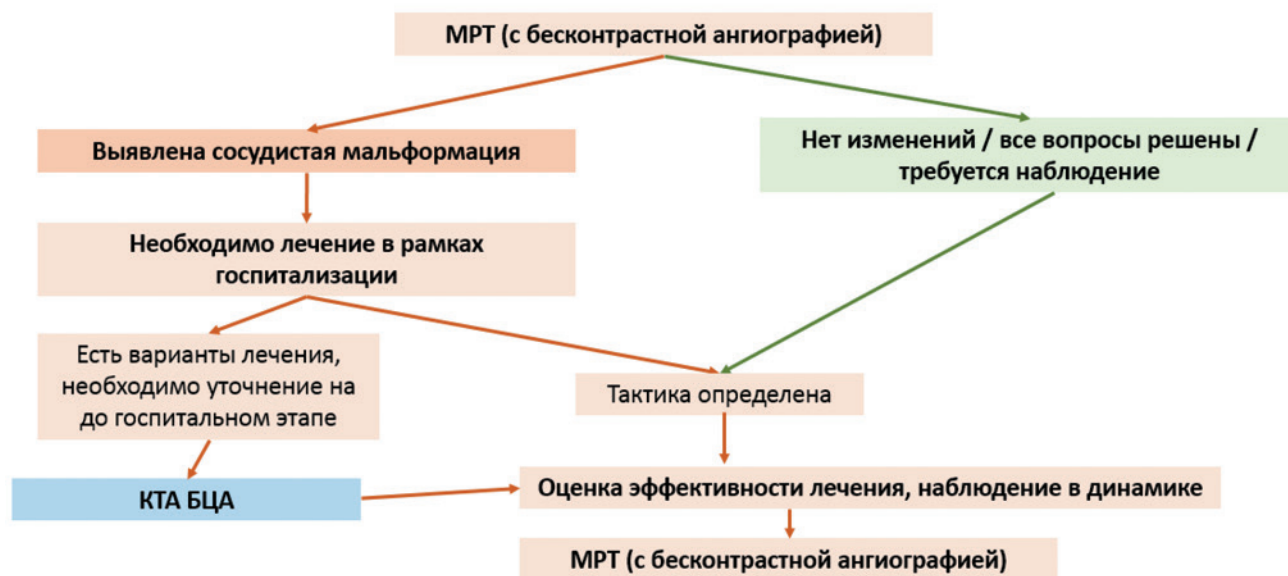


Рис. 2. Схема использования лучевых и инструментальных методов диагностики при подозрении на сосудистую мальформацию головного мозга

Figure 2. Scheme of the use of radiation and instrumental diagnostic methods for suspected vascular malformation of the brain

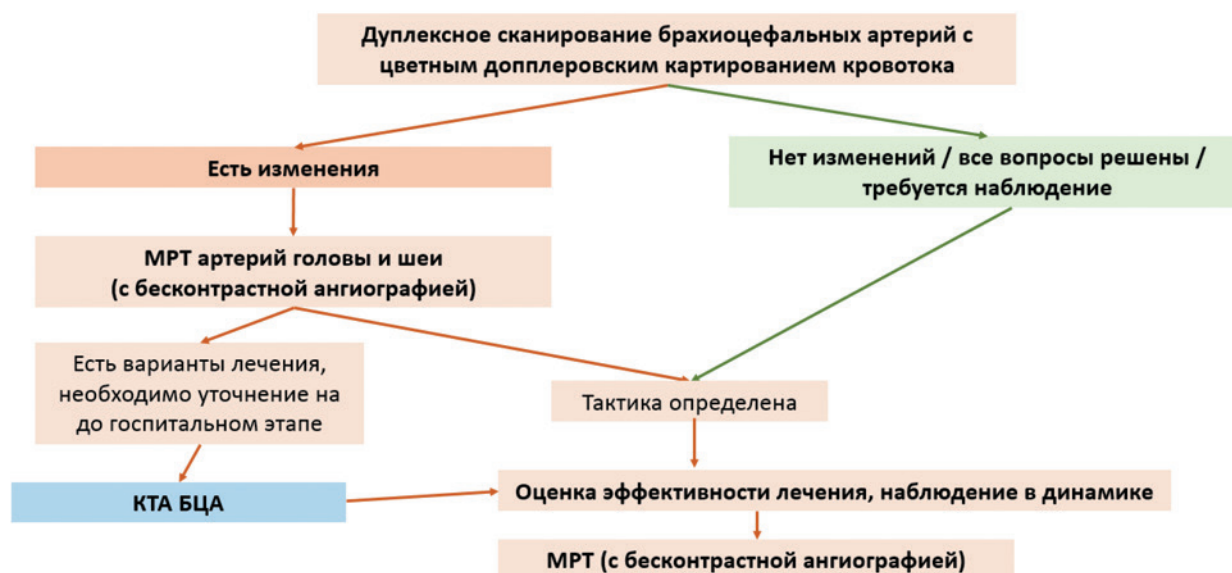


Рис. 3. Схема использования лучевых и инструментальных методов диагностики при подозрении на расслоение артерий

Figure 3. Scheme of the use of radiation and instrumental diagnostic methods for suspected arterial dissection

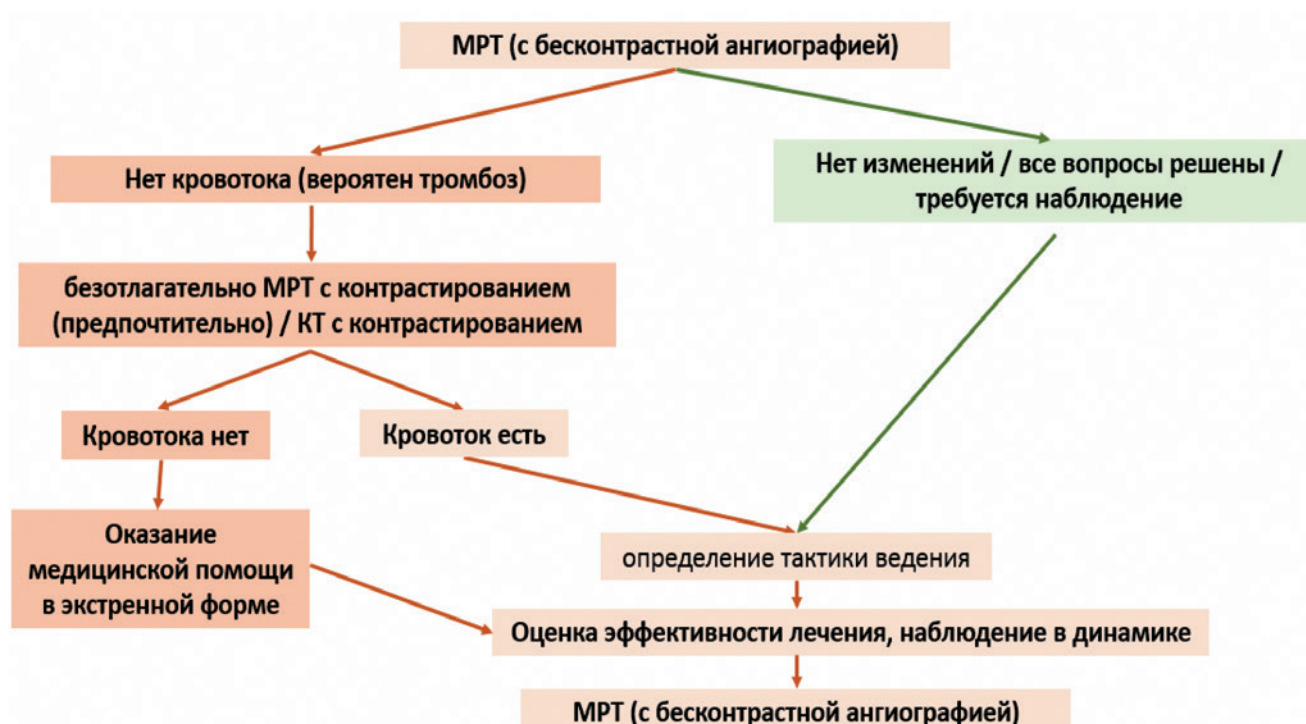


Рис. 4. Схема использования лучевых и инструментальных методов диагностики при подозрении на тромбоз венных синусов головы

Figure 4. Scheme of the use of radiation and instrumental methods of diagnosis in case of suspected thrombosis of the venous sinuses of the head

Тромбоз венных синусов

КТ головного мозга и оболочек с контрастированием: используется как первый метод диагностики при оказании медицинской помощи в экстренной форме (первые минуты — первые сутки после свершившейся сосудистой катастрофы) для выявления признаков тромбоза венных синусов.

Проведение КТ: Область исследования — как при КТ головного мозга и оболочек. Сначала нативное КТ (до введения КВ). Далее — введение КВ и отсроченное сканирование (1 минута от введения КВ).

Важные показатели при анализе и интерпретации полученных изображений:

- гиперденсный сигнал на нативной томограмме от венных синусов,
- отек (вазогенный) прилежащих отделов мозга,
- гипер- и гиподенсные очаги в веществе головного мозга,
- дефект наполнения синуса при контрастировании.

Следует обращать особое внимание на:

- признаки отека мозга (аксиальная дислокация, сглаженность извилин, сужение желудочковой системы).

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ОКАЗАНИИ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ В НЕОТЛОЖНОЙ И ПЛАНОВОЙ ФОРМАХ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ДИАГНОЗА

Сосудистая мальформация сосудов головного мозга (в том числе аневризма сосудов головного мозга)

Дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий с цветным доплеровским картированием кровотока — для установления диагноза может быть использовано только в специализированных центрах.

КТА — использование КТА для установления диагноза (в большинстве случаев при диагнозе «аневризма») обосновано только в специализированных центрах, осуществляющих хирургическое лечение этой патологии.

Сканирование артерий головного мозга:

Область исследования: аналогично как головной мозг и оболочки без контрастирования. Контрастирование предполагает два варианта исполнения:

- 1) ручной режим начала сканирования (при визуальном подтверждении КВ в просвете артерий),

тестовый срез устанавливается на уровне субкраниального сегмента сонных артерий;

2) автоматический режим начала сканирования: тестовый срез устанавливается на уровне дуги аорты.

Важные показатели при анализе и интерпретации полученных изображений:

- локализация аневризмы (90 % передние отделы Виллизиева круга, М1–М2 сегменты средних мозговых артерий),
- обращенность аневризмы (на лицевую или затылочную область, внизу или вверх от артерии и т. п.),
- размеры аневризмы (протяженность и максимальные размеры при веретеновидной форме и размеры аневризматического мешка при мешотчатой форме),
- размеры (площадь) шейки аневризмы (при мешотчатой форме)/шеек аневризмы (при веретеновидной форме).

Следует обращать особое внимание на:

- количество аневризм,
- размеры мешка и шейки аневризмы,
- тромбоз аневризматического мешка (тотальный или частичный),
- экстравазацию КВ (признак разрыва аневризмы),
- внутримозговое и/или субарахноидальное кровоизлияние.

МРТ — является ведущим методом при подозрении на сосудистую мальформацию головного мозга по клиническим данным, особенно на амбулаторном этапе.

Ограничения: абсолютные противопоказания.

Минимальный набор последовательностей (протокол сканирования) МРТ указан в таблице 1.

Важные показатели при анализе и интерпретации полученных изображений:

- локализация аневризмы (90 % — передние отделы Виллизиева круга и М1–М2 сегменты средних мозговых артерий),
- обращенность аневризмы (на лицевую или затылочную область, книзу или вверх от артерии и т. п.),
- размеры аневризмы (протяженность и максимальные размеры при веретеновидной форме и размеры аневризматического мешка при мешотчатой форме),
- размеры (площадь) шейки аневризмы (при мешотчатой форме)/шеек аневризмы (при веретеновидной форме),
- изменения прилежащего мозгового вещества.

Следует обращать особое внимание на:

- количество аневризм,

- размеры мешка и шейки аневризмы,
- внутримозговое или субарахноидальное кровоизлияние,
- атрофию мозгового вещества в прилежащих к аневризме отделах.

Расслоение брахиоцефальных артерий

Дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий с цветным доплеровским картированием кровотока является первым методом при подозрении на расслоение артерий.

Ограничения: нет.

Позиция датчика: в области грудино-ключично-сосцевидной мышцы в проекции общей сонной артерии (ОСА) под углом 90° к горизонтальной оси либо непосредственно над поперечными отростками в горизонтальной плоскости.

Важные показатели при анализе и интерпретации полученных изображений:

- локализация (90 % экстракраниальные отделы после травмы в анамнезе),
- локальная асимметрия кровотока (1 сегмент или менее).

Следует обращать особое внимание на:

- локальное утолщение стенки позвоночной артерии,
- двустороннее локальное сужение позвоночных артерий за счет утолщения стенки.

КТА — используется при установленном диагнозе в специализированных центрах, осуществляющих хирургическое лечение этой патологии.

Проведение КТА:

Перед исследованием: анализ результатов УЗИ (не обязательно, только если исследование проводится по жизненным показаниям).

Методика сканирования КТА БЦА:

Нативное сканирование: не требуется.

КТА: Рекомендуется использование методики автоматического отслеживания болюса КВ в просвете дуги аорты. Зона сканирования: от нижней границы дуги аорты до свода черепа.

Важные показатели при анализе и интерпретации полученных изображений:

- наличие внутрисосудистого дефекта контрастирования,
- протяженность расслоения (диссекции),
- окклюзия (тромбоз) артерии выше уровня расслоения (диссекции).

Следует обращать особое внимание на:

- соотношение размеров просветов (истинного к ложному, ложный равен или преобладает над истинным),
- отставание в контрастировании одного из просветов (чаще — истинного),

Таблица 1. Протокол сканирования МРТ при сосудистой мальформации головного мозга

	Последовательность	Плоскость	Толщина среза (мм)	Межсрезовый интервал (мм)	Объем сканирования
1	T2 TSE	аксиальная	4-5	0.4-0.5	От мягких тканей теменной области до нижнего края большого затылочного отверстия
2	T1 TSE/SE	сагиттальная	4-5	0.4-0.5	Включает оболочки височных областей
3	FLAIR	коронарная	4-5	0.4-0.5	От оболочек затылочной области до передних отделов лобных долей
4	DWI (max b-фактор 1000 с/мм ² , мин. 2 фактора, построение карт ИКД)	аксиальная	4-5	0.4-0.5	Как в п. 1
5	T2* GRE /SWI	аксиальная	3-5	0.5-1	Как в п. 1
6	Времяпролетная (предпочтительно) или фазово-контрастная ангиография	аксиальная	не более 1.4	-	От нижнего края мозолистого тела до нижнего контура С2-позвонка
7	Времяпролетная (предпочтительно) или фазово-контрастная венография	коронарная	определяется задачами	определяется задачами	От мягких тканей затылочной области до передних отделов лобных долей (локализация синусов)

- наличие и размеры фенестр (отверстия в отслоившейся интиме),

- наличие псевдоаневризм.

МРТ — является основным методом диагностики для установления диагноза «расслоение брахиоцефальных артерий» на всех этапах оказания медицинской помощи.

Минимальный набор последовательностей (протокол сканирования) МРТ

Протокол сканирования соответствует протоколу, указанному в таблице 1, кроме зоны сканирования п. 1 — в данном случае требуется покрытие зоны голова–шея. Дополнительно в протоколе необходимо использовать T1 TSE/SE с подавлением липидного спектра (селективное жироподавление или гибридная техника у ряда производителей) в аксиальной плоскости

с толщиной среза 3 мм, межсрезовым интервалом 0,3 мм, зона сканирования: зона сужения сосуда на ангиографии (определение интрамуральной гематомы).

Важные показатели при анализе и интерпретации полученных изображений:

- утолщение стенки за счет интрамурального кровоизлияния,

- локализация (90 % экстракраниальные отделы позвоночной или внутренней сонной артерии после травмы в анамнезе),

- локальная асимметрия кровотока (1 сегмент или менее).

Следует обращать особое внимание на:

- признаки кровоизлияния в стенке позвоночной артерии,

- двустороннее локальное сужение артерий за счет интрамурального кровоизлияния.

Патология брахиоцефальных артерий (в том числе стеноз сонных артерий)

Дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий с цветным доплеровским картированием кровотока — является первым методом при подозрении на стеноз, скрининговым методом при установленном диагнозе I70 (атеросклероз) по МКБ-10.

Ограничения: нет.

Важные показатели при анализе и интерпретации полученных изображений:

1. **Локализация поражения:** чаще: общие сонные артерии (проксимальный отдел, средний отдел, бифуркация), луковица внутренней сонной артерии, доступные для осмотра отделы внутренней сонной артерии; позвоночные артерии; реже: брахиоцефальный ствол, подключичные артерии.

2. **Распространение при поперечном сканировании:** локальное (до полуокружности), эксцентрическое (занимает 2/3 окружности), циркулярное.

3. **Протяженность:** локальная (до 15 мм) или пролонгированная (более 15 мм).

4. **Характер поверхности:** гладкий, неровный, с распадом, с изъязвлением, комбинированный, подрытый.

5. **Наличие внутривагеточного кровоизлияния:** с деструкцией покрышки, без деструкции покрышки.

6. **Ультразвуковая структура:** эхогенность (эхогенная, гипоэхогенная, мезоэхогенная, эхопозитивная, гиперэхогенная с акустической тенью, с экранирующим эффектом); однородность (гомогенная, гетерогенная, смешанная).

7. **Степень стеноза** с обязательным указанием метода измерения (отношение диаметра максимального сужения к диаметру референтного участка). Для **внутренней сонной артерии (ВСА)** «референтными» участками определены: ВСА выше уровня ее луковицы (**NASCET**); наружный диаметр ВСА на уровне максимального сужения (**ECST**); на 1 см проксимальнее уровня бифуркации (**индекс CCA**); на 3–4 см проксимальнее уровня бифуркации (**индекс CSI**).

Для оценки степени стеноза сонных артерий при УЗИ рекомендовано **измерение диаметра остаточного просвета в зоне максимального сужения к наружному диаметру при поперечном сканировании (рис. 5).**

При наличии гемодинамически значимого стеноза ВСА необходимо указать:

- диаметр луковицы ВСА;
- диаметр дистального отдела ВСА;
- тип бифуркации ОСА (рис. 6).

При указании протяженности поражения ВСА для определения типа хирургического доступа важно указать уровень расположения поражения по отношению к бифуркации ОСА, которая принята за нулевую точку (рис. 7).

При наличии патологии подключичных артерий или брахиоцефального ствола важно определить градиент артериального давления между верхними конечностями, при стенозе более 50 % провести пробу с реактивной гиперемией с указанием результата; при наличии синдрома обкрадывания (позвоночно-подключичного, сонно-подключичного или др.) указать его форму: латентная, переходная или постоянная.

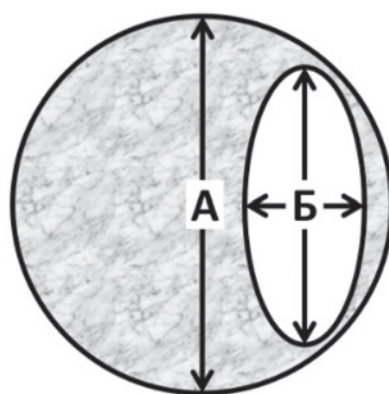


Рис. 5. Схема измерения степени стеноза при поперечном сканировании артерии: А — наружный диаметр артерии в зоне максимального стеноза, Б — диаметры остаточного просвета артерии

Figure 5. Scheme for measuring the degree of stenosis during transverse scanning of the artery: А — outer diameter of the artery in the zone of maximum stenosis, Б — diameters of the residual lumen of the artery

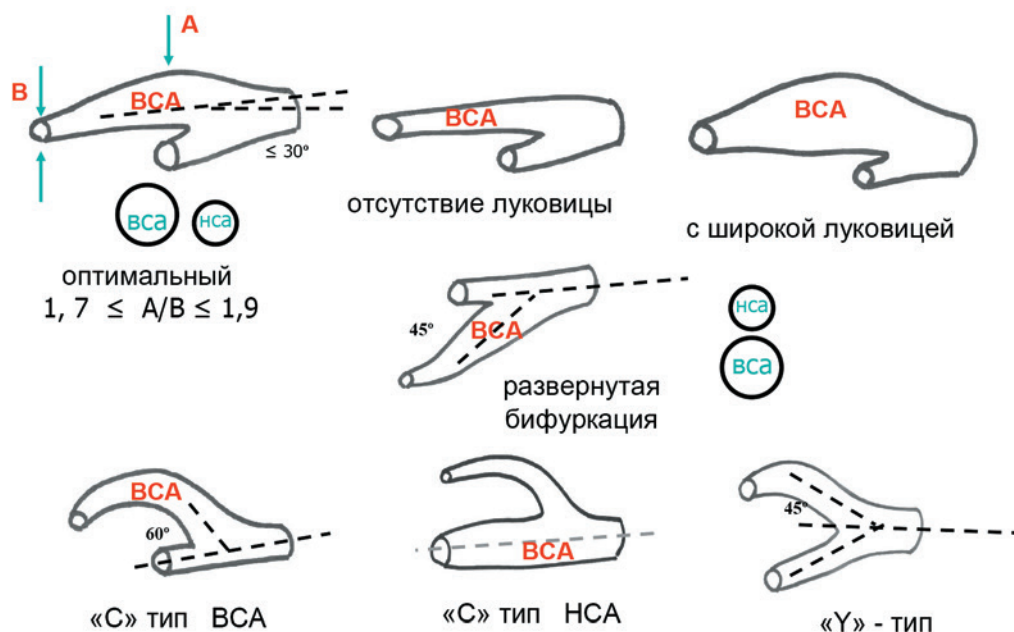


Рис. 6. Основные типы бифуркаций ОСА по данным УЗИ

Figure 6. The main types of CCA bifurcations according to ultrasound data

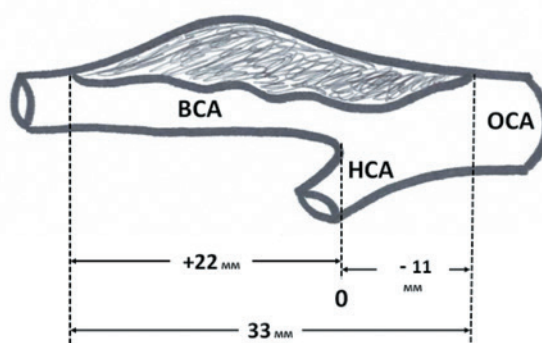


Рис. 7. Схема измерения длины атеросклеротической бляшки. Длина атеромы 33 мм (+ 22 мм, - 11 мм)

Figure 7. Scheme for measuring the length of an atherosclerotic plaque. Atheroma length 33 mm (+ 22 mm, - 11 mm)

При необходимости детализации тандемного поражения и при пограничных значениях стеноза: системное артериальное давление, линейная скорость кровотока (ЛСК) систолическая и диастолическая, градиент артериального давления.

Важные показатели при локализации позвоночной артерии:

- диаметры;
- аномалии отхождения (например, отдельным стволом от аорты);
- аномалии вхождения в канал поперечных отростков (в норме — С6);

- наличие извитостей, септальных стенозов, компрессий;

- реакция кровотока при ротационной пробе.

Важные показатели при расслоении стенки артерии:

- локализация;
- состояние ложного и истинного просвета (проходимы, тромбированы);
- наличие фенестраций.

Сроки выполнения УЗИ: ежегодно при установлении диагноза «атеросклероз», при клиническом ухудшении.

КТА брахиоцефальных артерий

При предполагаемом или установленном диагнозе необходимо предварительно провести анализ результатов предыдущих исследований.

Проведение КТА:

Перед исследованием: анализ результатов УЗД (обязательно).

Сканирование КТА БЦА

Нативное сканирование: не требуется.

КТА: Использование методики автоматического отслеживания болюса КВ в просвете дуги аорты. Зона сканирования: от нижней границы дуги аорты до свода черепа.

Важные показатели при анализе и интерпретации полученных изображений: Оценка стеноза: аналогично как при УЗИ. Рекомендуется использование NASCET.

Следует обращать особое внимание на:

- двустороннее выраженное сужение сонных артерий,
- стеноз 70 % и более по NASCET или 80 % и более по ECST,
- неровность внутреннего контура дуги аорты (при рассмотрении эндоваскулярного лечения),
- в заключении необходимо указывать применяемый вариант подсчета стеноза.

МРТ — использование МРТ для установления степени стеноза сонных артерий и определения показаний к оперативному лечению обосновано только в специализированных центрах, осуществляющих хирургическое лечение этой патологии.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ОКАЗАНИИ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ В НЕОТЛОЖНОЙ И ПЛАНОВОЙ ФОРМАХ В ПЕРИОД ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО НАБЛЮДЕНИЯ

Сосудистая мальформация сосудов головного мозга (в том числе аневризма артерий головного мозга)

Дуплексное сканирование транскраниальное артерий и вен — только в специализированных центрах, осуществляющих хирургическое лечение этой патологии.

КТА — использование обосновано только в специализированных центрах, осуществляющих хирургическое лечение этой патологии. Опорные моменты сканирования и интерпретации аналогичны оказанию медицинской помощи в неотложной и плановой форме для установления диагноза.

МРТ — является наиболее предпочтительным методом, особенно на амбулаторном этапе.

Минимальный набор последовательностей (протокол сканирования) МРТ: Таблица 1.

Ограничения при МРТ:

- абсолютные и относительные противопоказания,
- наличие артефактов от зубных имплантов.

Важные показатели при анализе и интерпретации полученных изображений МРТ:

- исключение инфаркта в острой стадии и интракраниального кровоизлияния,
- атрофические очаги мозгового вещества в зоне оперативного вмешательства,
- кровоток в артериях головного мозга.

Следует обращать особое внимание на очаги инфаркта в острой стадии и интракраниальное кровоизлияние.

Сроки выполнения МРТ: в ранний послеоперационный период, через 6 месяцев и 12 месяцев, далее ежегодно или при клиническом ухудшении.

После реконструкций брахиоцефальных артерий

Дуплексное сканирование экстракраниальных отделов брахиоцефальных артерий — является наиболее безопасным и простым в использовании методом после операции для оценки кровотока.

Ограничения: нет.

Важные показатели при анализе и интерпретации полученных изображений:

- восстановление кровотока и скоростных характеристик кровотока;
- полнота раскрытия стента, наличие/отсутствие рестеноза (при стентировании).

Следует обращать особое внимание на:

- локальное утолщение стенки артерии.

Сроки выполнения УЗД:

- в ранний послеоперационный период, через 6 месяцев и 12 месяцев, далее ежегодно или при клиническом ухудшении.

КТА брахиоцефальных артерий

Показания ограничены (при рестенозе, оказании медицинской помощи в неотложной форме). Протокол сканирования и интерпретация — как при неотложной и плановой формах. Выполнение вне жизненных показаний обосновано только в специализированных центрах, выполняющих оперативное лечение стеноза.

МРТ брахиоцефальных артерий

Предпочтительно выполнение в специализированном центре. Целесообразно использование в ранний послеоперационный период совместно

с оценкой восстановления кровотока и исключения очагов острого инфаркта в мозговом веществе.

Минимальный набор последовательностей (протокол сканирования) МРТ:

Как в таблице 1, кроме п. 6 и п. 7, поскольку в этом случае сканирование сосудов выполняется не в аксиальной, а в коронарной плоскости от середины мозолистого тела до дуги аорты.

Важные показатели при анализе и интерпретации полученных изображений:

- исключение инфаркта головного мозга,
- увеличение количества очагов в головном мозге,
- кровотоков в брахиоцефальных артериях.

Следует обращать особое внимание на очаги инфаркта головного мозга в острой стадии и интракраниальное кровоизлияние.

Сроки выполнения МРТ: в ранний послеоперационный период, через 6 месяцев и 12 месяцев (только по направлению специализированных центров, выполняющих хирургическое лечение).

Другие методы лучевой и инструментальной диагностики

Цифровая субтракционная ангиография — используется вместо КТА по экстренным показаниям.

ПЭТ — может быть рекомендована к проведению по решению специализированных центров для уточняющей диагностики патологии сосудистой стенки в сложных диагностических случаях (например, диагностика васкулита).

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Финансирование / Funding

Работа не имела спонсорской поддержки. / The work had no sponsorship.

Список литературы / References

1. Bonati LH, Kakkos S, Berkefeld J, et al. European Stroke Organisation guideline on endarterectomy and stenting for carotid artery stenosis. *Eur Stroke J*. 2021; 6(2):I-XLVII. DOI: 10.1177/23969873211012121.
2. Clark M, Unnam S, Ghosh S. A review of carotid and vertebral artery dissection. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2022; 83(4):1–11. DOI: 10.12968/hmed.2021.0421
3. Hemingway JF, Singh N. Atherosclerotic Disease of the Carotid Artery Guidelines. <https://emedicine.medscape.com/article/463147-guidelines> (29 September 2021).
4. Jeong HW, Seo JH, Kim ST, et al. Clinical practice guideline for the management of intracranial aneurysms.

Neurointervention. 2014; 9(2):63–71. DOI: 10.5469/neuroint.2014.9.2.63.

5. Kuo AH, Nagpal P, Ghoshhajra BB, et al. Vascular magnetic resonance angiography techniques. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2019;9(Suppl 1):S28–S36. DOI: 10.21037/cdt.2019.06.07.

6. Lancellotti P, Płowska-Gościński E, Garbi M, et al. Cardiovascular imaging practice in Europe: a report from the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015; 16(7):697–702. DOI: 10.1093/ehjci/jev116.

7. Steiner T, Juvela S, Unterberg A, et al. European Stroke Organization. European Stroke Organization guidelines for the management of intracranial aneurysms and subarachnoid haemorrhage. *Cerebrovasc Dis*. 2013; 35(2):93–112. DOI: 10.1159/000346087.

8. Thompson BG, Brown RD Jr, Amin-Hanjani S, et al. Guidelines for the Management of Patients With Unruptured Intracranial Aneurysms: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2015; 46(8):2368–400. DOI: 10.1161/STR.0000000000000070.

9. Aboyans V, Ricco JB, Bartelink MEL, et al. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO) The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Eur Heart J*. 2018; 39(9):763–816. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx095.

10. Vishnyakova MV (Jr). Occlusive carotid disease assessment: history and new diagnostic technologies. *Kreativnaya Kardiologiya=Creative Cardiology*. 2017; 11 (3): 247–261. In Russian [Вишнякова М.В., мл. Оценка окклюзирующего поражения сонных артерий: история, тенденции развития диагностических технологий. Креативная кардиология. 2017; 11 (3): 247–261.] DOI: 10.24022/1997-3187-2017-11-3-247-261.

11. Pak NT, Kobelev E, Usov WYu, et al. Evaluation of the severity of atherosclerotic degeneration of the aortic arch wall using computed tomographic angiography to predict the risk of stroke in patients with carotid stenosis in the early postoperative period. *Creative Cardiology*. 2022; 16(1): 77–91. In Russian [Пак Н.Т., Кобелев Е., Усов В.Ю. и др. Оценка выраженности атеросклеротической дегенерации стенки дуги аорты методом компьютерно-томографической ангиографии для прогнозирования риска острых сосудистых событий у пациентов со стенозами сонных артерий в раннем послеоперационном периоде. Креативная кардиология. 2022; 16(1): 77–91.] DOI: 10.24022/1997-3187-2022-16-1-77-91.

12. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 557н от 8 июня 2020 г. «Об утверждении Правил проведения ультразвуковых исследований». <https://minjust.consultant.ru/documents/23536> (14 September 2020)

13. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 560н от 9 июня 2020 г. «Об утверждении Правил проведения рентгенологических исследований». <https://minjust.consultant.ru/documents/23525> (14 September 2020)

14. Fokin VA. Standardization of MRI Studies Using an Automatic Magnetic Resonance Contrast Agent Injector. *Journal of radiology and nuclear medicine*. 2020; 101(4):235–243. In Russian [Фокин В.А. К вопросу о стандартизации МРТ-исследований с использованием автоматического иньектора для введения магнитно-резонансных контрастных средств. Вестник рентгенологии и радиологии. 2020; 101(4):235–243.] DOI: 10.20862/0042-4676-2020-101-4-235-243.

15. Shumilina MV. Angiological bases of complex ultrasonic diagnostics of a pathology of vessels. *Klinicheskaya Fiziologiya Kровообrascheniya=Clinical Physiology of Circulation*. 2016; 13(1): 5–36. In Russian [Шумилина М.В. Ангиологические основы комплексной ультразвуковой диагностики патологии сосудов. Клиническая физиология кровообращения. 2016; 13(1): 5–36.]

16. Shumilina MV, Mukaseeva AV. Standardization of ultrasound examinations of brachiocephalic vessels. Necessary and sufficient indicators of stenosis of the internal carotid arteries for cardiovascular surgery. *Klinicheskaya Fiziologiya Kровообrascheniya=Clinical Physiology of Circulation*. 2012; 4:51–59. In Russian [Шумилина М.В., Мукасеева А.В. Стандартизация ультразвуковых обследований брахиоцефальных сосудов. Необходимые и достаточные показатели стенозов внутренних сонных артерий для кардиоваскулярных операций. Клиническая физиология кровообращения. 2012; 4:51–59.]

Информация об авторах:

Берген Татьяна Андреевна, д.м.н., профессор, отдел высшего и дополнительного профессионального образования, заведующий научно-исследовательским отделом лучевой и инструментальной диагностики, врач-рентгенолог, ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России;

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

Александрова Светлана Александровна, к.м.н., доцент кафедры кардиологии, функциональной и ульт-

развуковой диагностики с курсом детской кардиологии, старший научный сотрудник, заведующий отделением магнитно-резонансной томографии, врач-рентгенолог, ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А. Н. Бакулева» Минздрава России;

Синицын Валентин Евгеньевич, д.м.н., профессор кафедры многопрофильной клинической подготовки, заведующий курсом лучевой диагностики и лучевой терапии, ФГБОУ ВО «МГУ им. М. В. Ломоносова»;

Шумилина Маргарита Владимировна, д.м.н., профессор кафедры кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики с курсом детской кардиологии Института подготовки кадров высшей квалификации и профессионального образования, заведующий группой ультразвуковой диагностики сердечно-сосудистой и органной патологии, ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А. Н. Бакулева» Минздрава России;

Рычина Инна Евгеньевна, к.м.н., заведующий отделением компьютерной томографии, врач-рентгенолог, ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А. Н. Бакулева» Минздрава России;

Таркова Александра Романовна, к.м.н., врач функциональной диагностики, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела лучевой и инструментальной диагностики, ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России;

Фокин Владимир Александрович, д.м.н., профессор кафедры лучевой диагностики и медицинской визуализации Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Скрипник Алексей Юрьевич, заведующий отделением лучевой диагностики № 3, врач-рентгенолог ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Дорофеев Алексей Владимирович, к.м.н., заведующий отделом рентгенодиагностики, КТ, МРТ, ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А. Н. Бакулева» Минздрава России;

Чернявский Михаил Александрович, д.м.н., заведующий научно-исследовательским отделом сосудистой и интервенционной хирургии, главный научный сотрудник, врач — сердечно-сосудистый хирург, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Чернявский Александр Михайлович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России;

Голухова Елена Зеликовна, д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А. Н. Бакулева» Минздрава России;

Шляхто Евгений Владимирович, д.м.н., профессор, академик РАН, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Tatyana A. Bergen, M.D., Professor of the Department of Higher and Additional Professional Education, Head of

the Research Department of Radiology and Instrumental Diagnostics, radiologist, Meshalkin National Medical Research Center;

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

Svetlana A. Alexandrova, M.D., Head of the MRI Department, Docent of the Department of Cardiology, Functional and Ultrasound Diagnostics with Course in pediatric cardiology of the Institute for Training Higher Qualifications and Professional Education, Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery;

Valentin E. Sinitsyn, M.D., Professor of the Department of Multidisciplinary Clinical Training, Head of the Course of Radiology and Radiation Therapy, Lomonosov Moscow State University;

Margarita V. Shumilina, M.D., Professor of the Department of Cardiology, Functional and Ultrasound Diagnostics with Course in pediatric cardiology of the Institute for Training Higher Qualifications and Professional Education, Head of the Group of Ultrasound Diagnostics of Cardiovascular and Organ Pathology, Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery;

Inna E. Rychina, M.D., Head of the CT Department, Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery;

Alexandra R. Tarkova, M.D., Functional Diagnostics Doctor, Leading Researcher, Research Department of Radiology and Instrumental Diagnostics, Meshalkin National Medical Research Center;

Vladimir A. Fokin, M.D., Professor of the Department of Radiology and Medical Imaging, Institute of Medical Education, Almazov National Medical Research Centre;

Aleksey Yu. Skripnik, Head of the Radiology Department, Almazov National Medical Research Centre;

Aleksey V. Dorofeev, M.D., Head of the Department of X-ray Diagnostics, CT, MRI, Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery;

Mikhail A. Chernyavsky, M.D., Head of the Research Department of Vascular and Interventional Surgery, Chief Researcher, Cardiovascular Surgeon, Almazov National Medical Research Centre;

Alexandr M. Chernyavsky, M.D., Professor, correspondent member of the Russian Academy of Sciences, General Director, Meshalkin National Medical Research Center;

Elena Z. Golukhova, M.D., Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director, Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery;

Evgeny V. Shlyakhto, M.D., Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, General Director, Almazov National Medical Research Centre.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ МИОКАРДИАЛЬНЫХ «МОСТИКОВ»

Мирзоев Н. Т., Шуленин К. С., Кутелев Г. Г., Черкашин Д. В.,
Иванов В. В., Меньков И. А.

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

Контактная информация:

Мирзоев Никита Тагирович,
ФГБВОУ ВО «ВМедА им. С. М. Кирова»
Минобороны России,
ул. Академика Лебедева, д. 6,
Санкт-Петербург, Россия, 194044.
E-mail: mirsoev@mail.ru

Статья поступила в редакцию 28.10.2022
и принята к печати 07.12.2022.

Резюме

Миокардиальный «мостик» (ММ) — врожденная аномалия развития коронарных артерий (КА), при которой эпикардиальный сегмент сосуда проходит в толще миокарда. При данной аномалии могут поражаться любые КА, однако наиболее часто она затрагивает переднюю межжелудочковую артерию. Большинство ММ ассоциировано с бессимптомным течением, однако в доступной научной литературе, посвященной проблеме ММ, имеется большое число публикаций, описывающих и доказывающих связь между ММ и симптомами ишемии миокарда, включая случаи развития острого коронарного синдрома и внезапной сердечной смерти.

В настоящем обзоре авторами обобщены и представлены современные данные о частоте распространения, патофизиологических механизмах, анатомо-функциональной и клинической оценке, а также лечению ММ. У пациентов с симптомными ММ медикаментозное лечение обычно является эффективной терапией. При ее неэффективности должна проводиться комплексная анатомическая и функциональная оценка ММ для выбора наиболее безопасной и эффективной методики реваскуляризации. Чрескожное коронарное вмешательство с помощью стентов нового поколения в настоящее время рассматривается как стратегия лечения ММ. Аортокоронарное шунтирование проводится при глубоком залегании туннельного сегмента КА под миокардом или при осложнениях, связанных со стентированием. Миотомия является высокоэффективным методом лечения пациентов с ММ при поверхностном залегании интрамиокардиального сегмента КА и выполнении операции в условиях специализированных кардиохирургических центров.

Отсутствие общепринятых рекомендаций, очевидно, делает необходимым проведение дальнейших исследований в области рассматриваемой проблемы для разработки и валидации единых алгоритмов по диагностике и лечению пациентов с ММ.

Ключевые слова: аномалия развития, аортокоронарное шунтирование, компьютерная томографическая коронарография, коронарография, миокардиальный «мостик», супраартериальная миотомия.

Для цитирования: Мирзоев Н.Т., Шуленин К.С., Кутелев Г.Г., Черкашин Д.В., Иванов В.В., Меньков И.А. Современное состояние проблемы миокардиальных «мостиков». Трансляционная медицина. 2022;9(5):20-32. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-20-32.

THE CURRENT STATE OF THE PROBLEM OF MYOCARDIAL BRIDGES

Nikita T. Mirzoev, Konstantin S. Shulenin, Gennady G. Kutelev,
Dmitry V. Cherkashin, Vladimir V. Ivanov, Igor A. Menkov

S. M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Nikita T. Mirzoev,
S. M. Kirov Military Medical Academy,
Akademik Lebedev str., 6, Saint Petersburg,
Russia, 194044.
E-mail: mirzoev@mail.ru

Received 28 October 2022; accepted
07 December 2022.

Abstract

Myocardial bridge (MB) a congenital developmental anomaly of the coronary arteries (CA), in which the epicardial segment of the vessel passes under the myocardium. With this anomaly, any CA can be affected, but most often it is located in the left anterior descending artery. Most MB is associated with an asymptomatic course, however, in the available scientific literature about the problem of MB, there are a lot of publications describing and proving the relationship between MB and symptoms of myocardial ischemia, including cases of acute coronary syndrome and sudden cardiac death.

In this review the authors summarize and present modern data of the frequency, pathophysiological mechanisms, anatomical, functional and clinical evaluation, as well as treatment of MB. Medical treatment is usually an effective therapy in patients with symptomatic MB. If it is ineffective, a comprehensive anatomical and functional assessment of the MB should be carried out to select the safest and most effective revascularization technique. Percutaneous coronary intervention with new generation stent, coronary artery bypass grafting and myotomy are currently being considered as a treatment strategy for MB.

The lack of generally accepted recommendations obviously makes it necessary to conduct further research in the field of the problem under consideration in order to develop and validate unified algorithms for the diagnosis and treatment of patients with MB.

Key words: coronary angiography, coronary artery bypass grafting, coronary computed tomography angiography, developmental anomaly, myocardial bridge, supraarterial myotomy.

For citation: Mirzoev NT, Shulenin KS, Kutelev GG, Cherkashin DV, Ivanov VV, Menkov IA. The current state of the problem of myocardial bridges. *Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine*. 2022;9(5):20-32. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-20-32.

Список сокращений: АКШ — аортокоронарное шунтирование, БА — бета-адреноблокаторы, БКК — блокаторы кальциевых каналов, ВДИ — внутрикороонарное доплерографическое исследование, ВСУЗИ — внутрисосудистое ультразвуковое исследование, КА — коронарная артерия, КГ — коронарография, КТ-коронарография — компьютерная томографическая коронарография, ЛЖ — левый желудочек, ММ — миокардальный «мостик», МРК — моментальный резерв

кровотока, ОКС — острый коронарный синдром, ОКТ — оптическая когерентная томография, ОФЭКТ — однофотонная эмиссионная компьютерная томография, ПМЖА — передняя межжелудочковая артерия, ПЭТ — позитронно-эмиссионная томография, СНС — симпатическая нервная система, ФРК — фракционный резерв кровотока, ЧКВ — чрескожное коронарное вмешательство, ЧСС — частота сердечных сокращений, ЭхоКГ — эхокардиография.

Введение

Коронарные артерии (КА) обычно располагаются между перикардом и эпикардом. Миокардиальные волокна, покрывающие участок КА, называются миокардиальным «мостиком» (ММ), а ее внутримышечная часть — туннельным сегментом [1]. Несмотря на то что большинство случаев ММ относятся к доброкачественной аномалии развития, их наличие продолжает оставаться диагностической и терапевтической проблемой у части пациентов с симптомами ишемии миокарда. Предполагается, что ММ присутствуют примерно у каждого третьего человека в мире [2]. При этом частота выявления ММ значительно варьируется в зависимости от метода визуализации. С этой целью применяются коронарография (КГ), обладающая наиболее низкой чувствительностью в диагностике ММ, аутопсия, являющаяся самым чувствительным методом в подтверждении ММ, и компьютерная томографическая коронарография (КТ-коронарография), занимающая промежуточное положение между КГ и аутопсией [2]. По имеющимся на сегодня данным, частота выявления ММ при выполнении КГ составляет 2-6 % и 19-23 % — при КТ-коронарографии [3]. Аутопсия считается «золотым стандартом» визуализации ММ, дости-

гая частоты выявления аномалии в 42 % случаев [2, 4]. Исследования анатомического расположения ММ показывают, что наиболее часто данная аномалия располагается в области передней межжелудочковой артерии (ПМЖА) с частотой до 98 % с преимущественной локализацией аномалии в ее проксимальном и среднем сегментах. Имеются данные о наличии ММ в левой огибающей и правой КА, однако частота их выявления существенно ниже в сравнении с ПМЖА [5].

Патофизиология миокардиальных «мостиков»

Практически весь коронарный кровоток (~ 85 %) осуществляется во время диастолы, в то время как для ММ наиболее характерна компрессия КА в течение систолы, из чего следует, что лишь небольшая часть (~ 15 %) перфузии по венечным артериям подвержена нарушению [6]. Однако патофизиологические механизмы при ММ являются более сложными и зависят от анатомических и физиологических факторов. Глубина и длина туннельного сегмента играют важную роль в возникновении симптомов ишемии миокарда. Чем глубже залегает КА под ММ (поверхностное расположение до 2 мм, глубокое — более

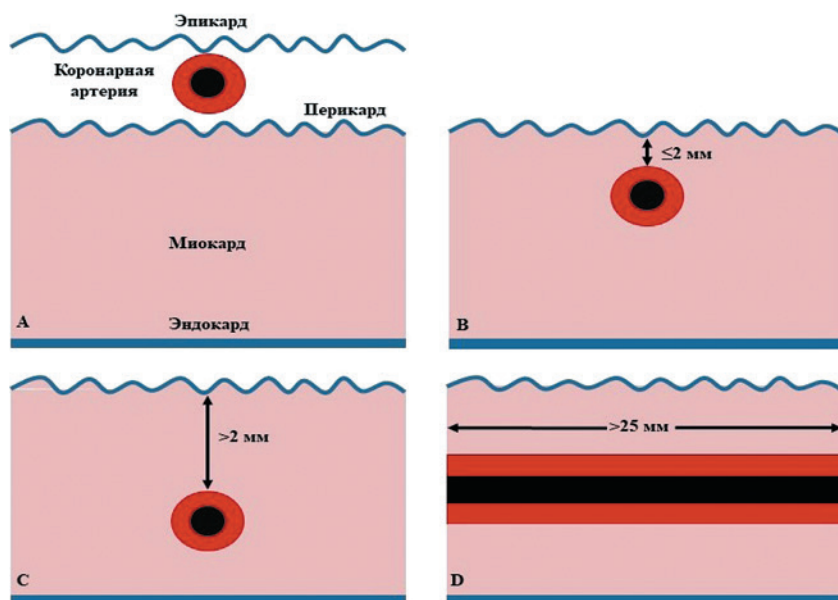


Рис. 1. Варианты анатомического расположения коронарной артерии:
 А — нормальное (между эпикардом и перикардом); В — поверхностное интрамиокардиальное;
 С — глубокое интрамиокардиальное; D — длинный туннельный сегмент

Figure 1. Variants of the anatomical location of the coronary artery:
 А — normal (between the epicardium and pericardium); В — superficial intramyocardial;
 С — deep intramyocardial; D — long tunnel segment

2 мм), тем сильнее происходит компрессия просвета интрамиокардиального сосуда во время систолы [7]. Определение длины туннельного сегмента КА, которая может быть короткой (до 25 мм) и длинной (более 25 мм), необходимо, в первую очередь, для прогнозирования количества вовлеченных в ММ ветвей ПМЖА (рис. 1). Это особенно важно в клинической практике, поскольку ММ ПМЖА может затрагивать как септальные ветви, кровоснабжающие переднюю часть межжелудочковой перегородки и проводящую систему сердца, так и диагональные ветви с развитием нарушений перфузии передней стенки левого желудочка (ЛЖ) и верхушки сердца.

В отличие от атеросклеротической бляшки, вызывающей фиксированное сужение КА, стеноз при ММ носит динамический характер, зависящий от сердечного цикла, частоты сердечных сокращений (ЧСС) и тонуса симпатической нервной системы (СНС). Было показано, что компрессия КА в систолу сопровождается задержкой восстановления диаметра туннельного сегмента во время диастолы, усугубляясь локальным спазмом вследствие сокращения ММ [8]. Данная задержка препятствует быстрому (раннему) диастолическому кровенаполнению интрамиокардиального сегмента КА [9]. Патологические аспекты ММ резко усугубляются при высокой активности СНС, приводящей к увеличению ЧСС, и, соответственно, уменьшению времени диастолической перфузии КА, а также усилению коронарной вазоконстрикции.

Таким образом, замедление быстрого (раннего) диастолического коронарного кровотока на фоне сопутствующей тахикардии является важным фактором в снижении сердечной перфузии при ММ, что может инициировать процессы развития несоответствия потребности миокарда в кислороде и его доставке [10].

Миокардиальный «мостик» и атеросклероз

В физиологических условиях КА подвергаются множественным механическим воздействиям, включая стресс-воздействие (shear-stress), стресс-напряжение (tensile-stress) и движение сосудистой стенки [11]. Стресс-воздействие, или сила трения, возникающая под действием пульсовой волны на сосудистый эндотелий, принимает непосредственное участие в формировании эндотелиальной дисфункции, инициируя процессы атеросклерозирования в проксимальном от ММ сегменте КА [12]. Имеются данные, которые показывают, что систолическая компрессия туннельного сегмента КА предрасполагает к появлению ретроградного кровотока в ее проксимальной от ММ области [13]. Это приводит к резкому замедлению распространения антеградной систолической волны, что создает область низкого стресс-воздействия, которая является одним из звеньев в процессе развития атеросклероза в проксимальном сегменте, и, наоборот, нормальное стресс-воздействие в туннельном сегменте КА обеспечивает атеропротективное действие



Рис. 2. Механизмы атеросклерозирования в проксимальном сегменте и атеропroteкции туннельного сегмента коронарной артерии

Figure 2. Mechanisms of atherosclerosis in the proximal segment and atheroprotection of the tunnel segment of the coronary artery

(рис. 2) [14]. Стресс-напряжение, или стресс по окружности, подчиняется закону Лапласа, согласно которому сосуд с небольшим размером просвета будет иметь низкое стресс-напряжение, что соответствует туннельному сегменту КА, и, наоборот, высокое стресс-напряжение, свойственное проксимальному сегменту. Данный механизм дополнительно усиливает процессы повреждения эндотелия с созданием условий для образования атеросклеротических бляшек [12, 13]. Движение сосудистой стенки является другим важным механизмом, защищающим туннельный сегмент КА от атеросклероза. Мышечные волокна, покрывающие интрамуральную часть КА, ограничивают движение ее сосудистой стенки. В проксимальном сегменте КА, наоборот, отмечается максимальное колебание сосудистой стенки, что, безусловно, создает условия для формирования высокого стресс-напряжения и стресс-воздействия, тем самым замыкая порочный круг в механизме атеросклероза [15].

Также дополнительно выделяются несколько факторов, предупреждающих развитие атеросклероза в туннельном сегменте КА. ММ приводит к отделению интрамуральной части КА от периваскулярной эпикардиальной жировой ткани, имеющей провоспалительные сигнальные пути [16]. Кроме того, в туннельном сегменте КА отсутствует адвентиций у вазо-вазурум, который может являться каналом для распространения провоспалитель-

ных клеток и цитокинов из периваскулярной жировой ткани [17].

Клинические проявления миокардиальных «мостиков»

Большинство ММ ассоциировано с бессимптомным течением. Однако, несмотря на это, имеется большое число публикаций, описывающих и демонстрирующих связь между ММ с симптомами ишемии миокарда [18-21]. У пациентов с ММ внезапно могут возникать признаки стабильной или вазоспастической стенокардии, а также острого коронарного синдрома (ОКС) [22, 23]. Масштабное исследование, включающее 298 558 пациентов с ишемией миокарда, которым была проведена КГ, продемонстрировало, что пациенты с ММ являлись моложе, чаще курили и имели более низкий уровень сердечно-сосудистых факторов риска, таких как сахарный диабет, хроническая болезнь почек, предшествующий инфаркт миокарда. В подгруппе пациентов с ОКС и ММ чаще наблюдалась нестабильная стенокардия, а не инфаркт миокарда с подъемом или без подъема сегмента ST [24]. Менее распространенные клинические состояния, связанные с ММ, включают желудочковые нарушения ритма, индуцированные физической нагрузкой; разрыв левого желудочка; внезапную сердечную смерть; кардиомиопатию Такоцубо; диастолическую дисфункцию ЛЖ и синдром Велленса, который связан с критическим проксимальным стенозом ПМЖА [25, 26].

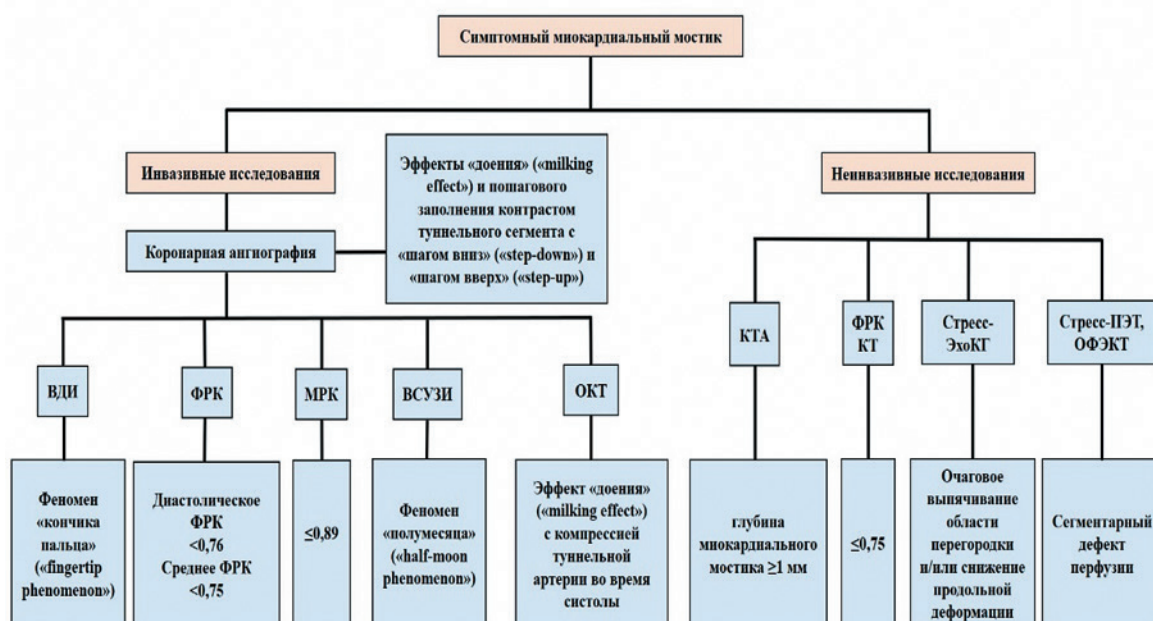


Рис. 3. Методы инвазивной и неинвазивной диагностики миокардиальных «мостиков» [7]

Figure 3. Methods of invasive and noninvasive diagnostics of myocardial bridges [7]

Диагностика миокардиальных «мостиков»

Для диагностики ММ применяются инвазивные и неинвазивные методы визуализации (рис. 3). Инвазивные методы включают КГ, внутрисосудистое ультразвуковое исследование (ВСУЗИ), оптическую когерентную томографию (ОКТ), внутрикоронарное доплерографическое исследование (ВДИ), а также определение фракционного резерва кровотока (ФРК) и моментального резерва кровотока (МРК) [7].

Классическими ангиографическими признаками ММ являются сужение или эффект «доения» (*milking effect*), а также пошаговое или «ступенчатое» (*step-up — step-down*) заполнение контрастом туннельного сегмента КА, наблюдаемое во время систолы (рис. 4). Яркий выраженный эффект «доения» присутствует только при сужении диаметра

просвета туннельного сегмента КА на $\geq 70\%$ во время систолы и на $\geq 35\%$ в середине и поздней диастоле [27]. Рутинная КГ обладает низкой чувствительностью в визуализации ММ. По этой причине только в 6 % случаев удается обнаружить классический эффект «доения» [3]. Применение вазодилататоров, например, нитроглицерина, значительно повышает чувствительность КГ за счет увеличения степени компрессии туннельного сегмента КА, они вводятся непосредственно перед процедурой, если это позволяет состояние гемодинамики пациента [28].

Визуализация туннельного сегмента КА с помощью ВСУЗИ позволяет точно измерить диаметр просвета и морфологические особенности стенки сосуда. Характерным для ММ является определение феномена «полумесяца» (*half-moon*

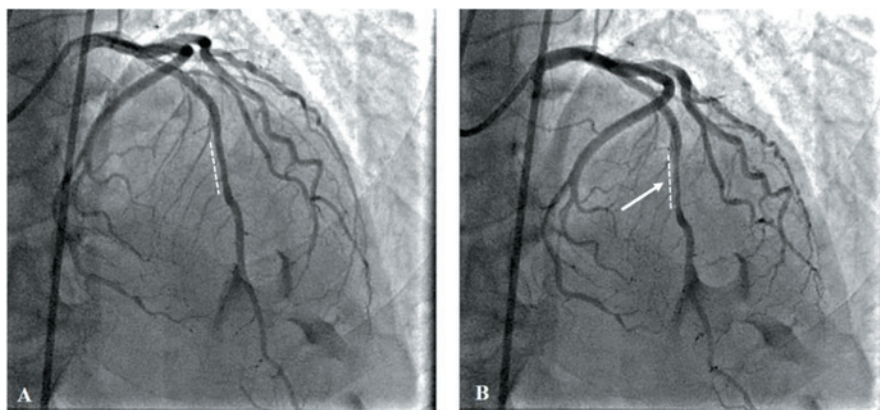


Рис. 4. Коронарография: А — во время диастолы, В — во время систолы: эффект «доения» (*milking effect*) указан стрелкой [29]

Figure 4. Coronary angiography: A — during diastole, В — during systole: the milking effect is indicated by the arrow [29]

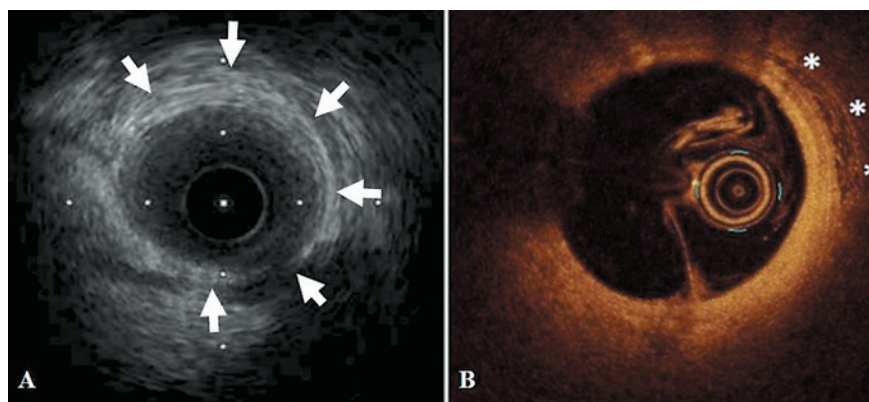


Рис. 5. Внутрисосудистое УЗИ (А) и оптическая когерентная томография (В) при миокардиальном «мостике». Феномен «полумесяца» (*half-moon phenomenon*) указан стрелками [7]

Figure 5. Intravascular ultrasound (A) and optical coherence tomography (B) with the myocardial bridge. The half-moon phenomenon is indicated by arrows [7]

phenomenon) — эхопрозрачной области (миокардиальные волокна), примыкающей к сосуду, которая сохраняется на протяжении всего сердечного цикла (рис. 5А) [30]. Ограничением в применении ВСУЗИ является отсутствие возможности функциональной оценки коронарного кровотока.

ОКТ основана на регистрации излучения, генерируемого с помощью внутрисосудистого датчика, которое отражается от сосудистой стенки (рис. 5В). Разрешающая способность ОКТ составляет 10-15 μm , что примерно в 10 раз больше, чем у ВСУЗИ, и, тем самым, позволяет более детально оценить атеросклеротические изменения и морфологию КА. Для ОКТ при наличии ММ также характерен эффект «доения», наблюдаемый во время систолы [31].

ВДИ проводится в процессе селективной катеризации участка КА при КГ. Выявление характерного паттерна скорости кровотока в туннельном сегменте КА в ранней диастоле — феномена «кончика пальца» (*fingertip phenomenon*), является важным маркером ММ. Данный феномен формируется в результате действия трех фаз: 1) быстрого (раннего) диастолического ускорения коронарного потока крови; 2) резкого замедления кровотока в середине диастолы; 3) плато от середины до поздней диастолы (рис. 6) [32]. Кроме этого, в проксимальной части КА определяется ретроградный поток крови в конце систолы, усиливающийся после инъекции нитроглицерина, и его отсутствие в ММ. Для повышения диагностической ценности ВДИ на практике применяются фармакологические препараты, индуцирующие спазм КА, — добутамин, аденозин или ацетилхолин [7].

ФРК — показатель, отражающий связь давления крови в КА со степенью стеноза, нашел применение в функциональной оценке ММ. ФРК считается «золотым стандартом» диагностики фиксированных стенозов КА, в том числе атеросклеротическими бляшками, однако его применение в общепринятом виде в условиях динамических стенозов при ММ считается не совсем объективным [33]. В связи с этим наиболее приемлемым видится определение диастолического ФРК (ФРКд), поскольку исключение измерения кровотока до диастолы позволяет избежать влияния отрицательных интракоронарных градиентов на общее давление, что дает возможность более точно идентифицировать и оценить ММ. Пороговым значением для определения ММ принято считать ФРКд $\leq 0,76$ [34]. К сожалению, несмотря на то, что ФРК является повсеместным инструментом в оценке фиксированных стенозов, использование ФРКд остается трудоемким и в большинстве случаев в клинической практике не применяется.

МРК позволяет проводить оценку давления проксимальнее и дистальнее стеноза в безволновый период диастолы [35]. В исследовании М. Götberg и соавторов (2017 г.) [36], сравнивающим ФРК и МРК, в том числе и для оценки ММ, применение последнего было связано со значительно более высокой частотой выявления ММ. Пороговым значением МРК для диагностики ММ считается $\leq 0,89$ [37].

Среди неинвазивных методов диагностики ММ ведущее место занимает КТ-коронарография, преимуществом которой является высокое пространственное разрешение и наличие возможно-

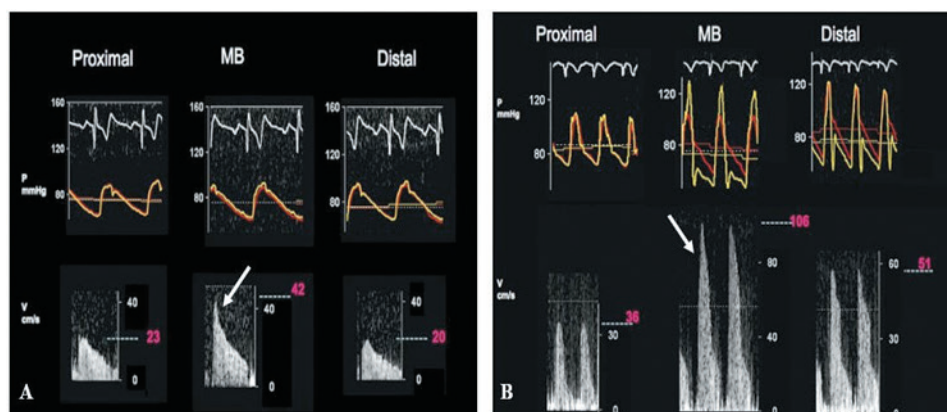


Рис. 6. Внутрикоронарное доплерографическое исследование:
А — без фармакологической стимуляции; В — со стимуляцией. Феномен «кончика пальца»
(*fingertip phenomenon*) указан стрелкой [32]

Figure 6. Intracoronary Doppler: A — without pharmacological stimulation;
B — with stimulation. The fingertip phenomenon is indicated by arrows [32]

сти оценки как КА, так и всех окружающих анатомических структур в трехмерном изображении [38]. Сообщается, что при использовании КТ-коронарографии частота диагностирования ММ может достигать 23 % [23]. КТ-коронарография позволяет получить данные анатомии туннельного сегмента КА, а именно, его глубины залегания и протяженности (рис. 7). На сегодняшний день доступна возможность вычисления ФРК при проведении КТ-коронарографии, диагностическое значение которого при ММ считается $\leq 0,75$. Однако необходимы дополнительные исследования для подтверждения диагностической ценности данной методики определения ФРК у пациентов с ММ [33].

Другим неинвазивным методом диагностики ММ является оценка перфузии миокарда, которая позволяет выявлять зоны дефектов кровоснабжения в бассейнах КА, вовлеченных в ММ. Для этой цели могут применяться однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) и позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) с выполнением различных стресс-протоколов (физическая нагрузка, введение добутина, аденозина или дипиридамола). Стоит отметить, что ПЭТ и ОФЭКТ являются хорошими методами визуализации зон гипоперфузии миокарда, однако в выявлении непосредственно ММ они обладают низкой чувствительностью и эффективностью, в связи с чем оценка перфузии миокарда рассматривается в качестве дополнительного метода исследования [39].

Стресс-эхокардиография (стресс-ЭхоКГ) является весьма полезной в диагностике ММ. Недавно у пациентов с ММ ПМЖА по данным стресс-Э-

хоКГ был обнаружен новый паттерн, заключающийся в аномальном движении перегородочной области в момент между концом систолы и ранней диастолой без изменения апикальной области ЛЖ (*septal buckling with apical sparing*) [32, 40]. Другим подходом диагностики ММ при ЭхоКГ является оценка продольной деформации с помощью методики *speckle-tracking*, согласно которой перегородочная область ЛЖ при наличии ММ ПМЖА имеет более низкую продольную деформацию в сравнении с таковой у лиц без ММ [41].

Лечение миокардиальных «мостиков»

Лечение симптомных ММ продолжает оставаться клинической проблемой, причем до сих пор не существует общепринятых рекомендаций по диагностике и лечению данной аномалии КА. Несмотря на это, согласно имеющимся данным, считается, что коррекция факторов риска и медикаментозное лечение должны рассматриваться в качестве стартовой стратегии при лечении пациентов с симптомными ММ. В тех случаях, когда симптомы не прекращаются на фоне адекватной и максимально переносимой медикаментозной терапии, следует рассмотреть вопрос о реваскуляризации с помощью чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) или проведения хирургического вмешательства: аортокоронарного шунтирования (АКШ) или супраартериальной миотомии (рис. 8) [7].

Для большинства пациентов с симптомными ММ фармакологическое лечение остается основным. Бета-адреноблокаторы (ББ) считаются препаратами первой линии вследствие их отрицательного хронотропного и инотропного действия,

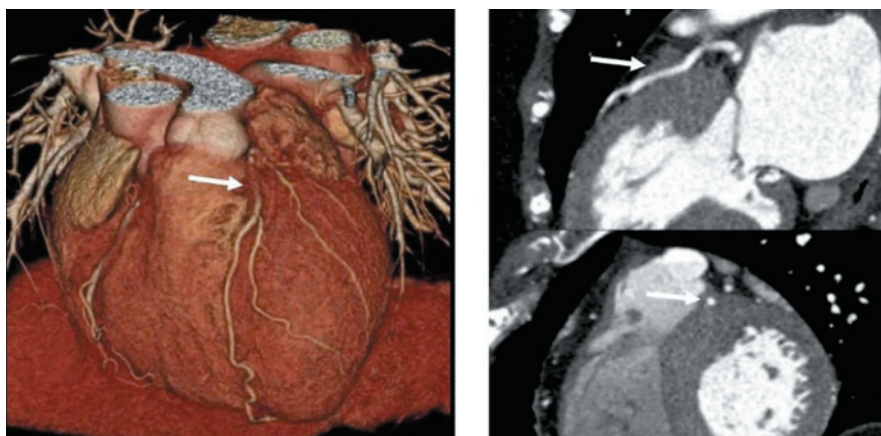


Рис. 7. КТ-коронарография с визуализацией миокардиального «мостика» в передней межжелудочковой артерии (указано стрелкой) [23]

Figure 7. CT coronary angiography with visualization of the myocardial bridge in the left anterior descending artery (is indicated by arrows) [23]

снижая ЧСС и, тем самым, увеличивая время диастолического наполнения, что способствует декомпрессии интрамиокардиального сегмента КА. Эффективность ББ продемонстрирована в работе E. Schwarz и коллег (2009 г.) [21], в которой применение данной группы препаратов (эсмолола) купировало симптомы и признаки ишемии у пациентов с симптомными ММ. В другом исследовании [42] было предложено использование небиволола в качестве предпочтительной терапии из-за его высокой селективности в отношении β_1 -адренорецепторов и сопутствующего благоприятного

воздействия на сосудистый эндотелий вследствие увеличения образования оксида азота.

Блокаторы кальциевых каналов (БКК) недигипиридинового ряда предпочтительны у пациентов с симптомными ММ при наличии противопоказаний к применению ББ, в первую очередь, в виде бронхообструктивного синдрома. Кроме этого, оказывая вазодилатирующее действие, данная группа препаратов может иметь дополнительное преимущество у пациентов с сопутствующим вазоспазмом [23, 42].

Ивабрадин — селективный ингибитор If-каналов синоатриального узла, является препаратом третьей

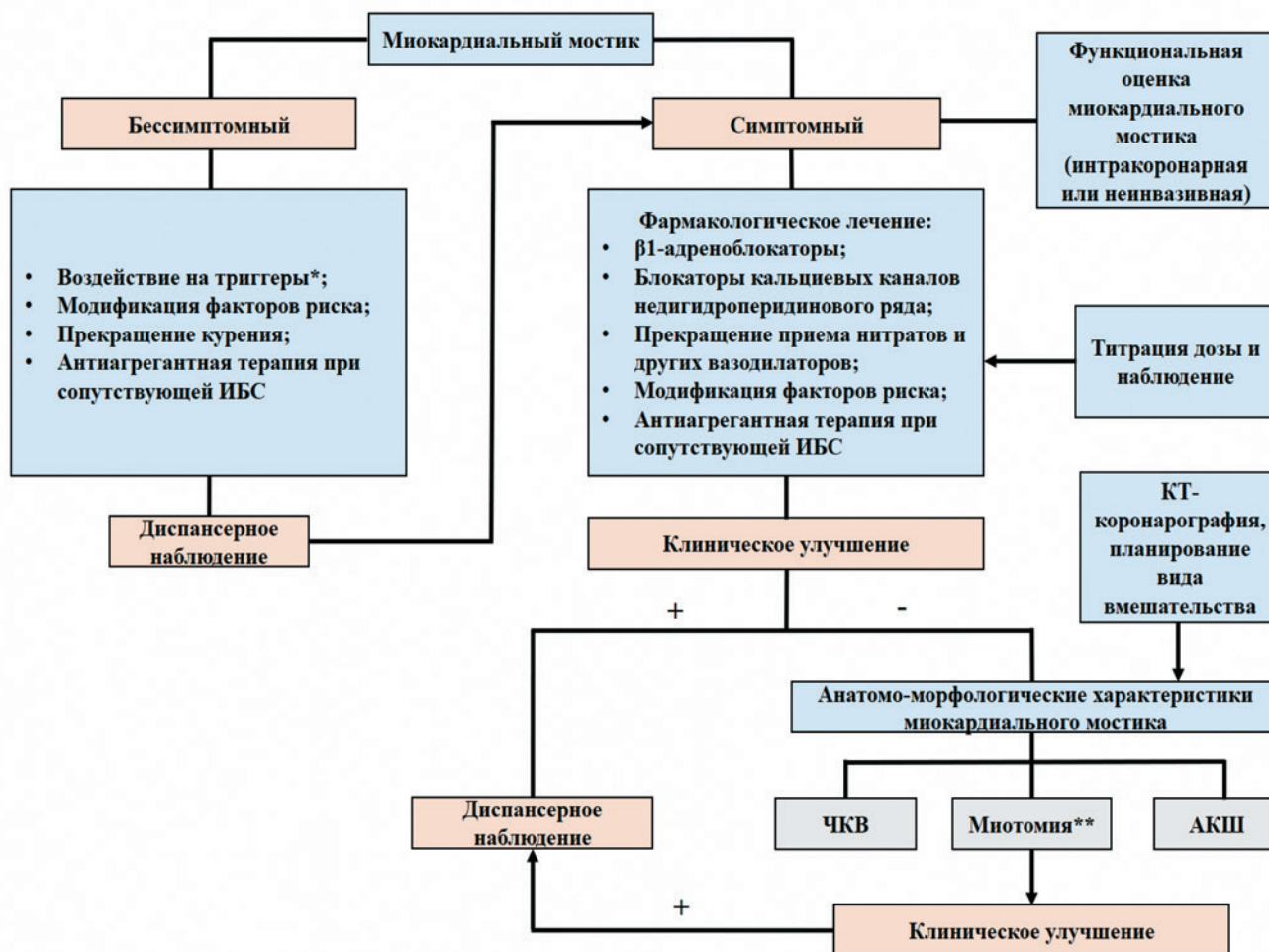


Рис. 8. Алгоритм лечения симптомных и бессимптомных миокардиальных «мостиков» [7]

*Триггерами являются коронарный вазоспазм, курение, физиологический стресс, слабая толерантность к физическим нагрузкам.

**Хирургическая супраартериальная миотомия может быть рассмотрена в качестве терапии 1 линии при поверхностном залегании миокардиального «мостика» и при условии проведения операции в специализированном кардиохирургическом центре.

Figure 8. Algorithm of the treatment of symptomatic and asymptomatic myocardial bridges [7]

*Triggers include coronary vasospasm, smoking, physiological stress, poor functional exercise reserve.

**Surgical supraarterial myotomy should be considered as a first-line therapy in case of superficial occurrence of the myocardial bridge and if the operation is performed in a specialized heart surgery center.

линии при непереносимости ББ и БКК, или у тех пациентов с симптомными ММ, у которых не достигаются целевые уровни ЧСС, несмотря на максимально переносимую терапию ББ или БКК. Важно отметить, что применение ивабрадина при ММ является *off-label*, в связи с чем назначение данного препарата, в основном, стоит рассматривать у пациентов с симптомными ММ и сопутствующей хронической сердечной недостаточностью со сниженной фракцией выброса ($\leq 35\%$) и выраженными симптомами по классификации Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA) при отсутствии эффекта на фоне приема ББ [43].

Высокий риск образования атеросклеротических бляшек в проксимальном от ММ сегменте КА и развития ишемической болезни сердца требует назначения антиагрегантной и гиполипидемической терапии сразу после диагностирования атеросклеротического поражения сосудов, включая КА [7, 23, 44].

Сосудорасширяющие средства, например, нитроглицерин, должны применяться с особой осторожностью у пациентов с ММ. Было показано, что нитраты усиливают систолическое сужение туннельного сегмента КА, что усугубляет клиническое течение заболевания [28]. Кроме этого, нитраты могут вызывать рефлекторную тахикардию, что также является одним из факторов усиления и декомпенсации симптомов, ассоциированных с ММ [45].

Патогенетическое обоснование применения ЧКВ у пациентов с ММ основывается на протекции стентированного туннельного сегмента КА от систолической компрессии, тем самым корригируя нарушения процессов гемодинамики и приводя к купированию симптомов, связанных с ММ [29]. Несмотря на то что ряд ретроспективных исследований продемонстрировали эффективность данного метода, особенно в начале его применения, имеются обоснованные опасения по поводу долгосрочных результатов и безопасности применения стратегии ЧКВ у пациентов с ММ [46]. Например, данные зарубежного регистра продемонстрировали высокую частоту рестенозов в области стентов спустя ≥ 12 месяцев, достигая 75 % для стентов без лекарственного покрытия и 25 % — с лекарственным покрытием [47]. Таким образом, авторы делают вывод, что установка стента для лечения рефрактерного к медикаментозной терапии симптомного ММ не рекомендуется к применению в рутинной клинической практике. Кроме этого, имеются данные, описывающие случаи перфорации, переломов и тромбозов стентов после ЧКВ, проведенного в группе лиц с симптомными ММ [48]. На сегодняшний день предполагается, что наиболее подходящими при ММ могут являться

конструкции с высокой радиальной прочностью, например, платино-хромовые эверолимус-выделяющие стенты нового поколения [49].

Хирургические методы, включающие АКШ и супраартериальную миотомию, нашли широкое распространение в лечении симптомных ММ. При АКШ ММ ПМЖА шунтируют с помощью левой внутренней грудной артерии (ЛВГА) или трансплантата из подкожной вены (ПВ), и данный метод хирургического лечения предпочтителен при глубоком залегании ММ [50]. Основным осложнением АКШ является развитие обструкции установленного шунта, что наиболее характерно для кондуита из ЛВГА, развивающегося, в первую очередь, вследствие наличия высокого конкурентного кровотока. Вопрос выбора оптимального кондуита для АКШ у пациентов с ММ по сей день остается неразрешенным, хотя считается более безопасным и эффективным шунтирование с помощью ПВ [1, 51].

Супраартериальная миотомия, в целом, является безопасным и эффективным методом лечения симптомных ММ [52, 53]. Миотомия туннельного сегмента КА предпочтительна при наличии короткого и поверхностного интрамиокардиального хода, особенно при выполнении данной операции в специализированных кардиохирургических центрах. Потенциальными осложнениями при супраартериальной миотомии являются перфорация стенки правого желудочка (при локализации ММ в ПМЖА), повреждение КА, неполное удаление миокардиальных волокон и послеоперационное кровотечение [54].

Заключение

ММ является распространенной в популяции врожденной аномалией развития КА, все чаще встречающейся в клинической практике. У пациентов с симптомными ММ медикаментозное лечение обычно является эффективным вариантом стартовой терапии. При ее неэффективности должна проводиться комплексная анатомическая и функциональная оценка ММ для выбора наиболее безопасной и эффективной методики реваскуляризации. ЧКВ с помощью стентов нового поколения в настоящее время видится перспективным методом лечения ММ, поскольку они лишены многих недостатков конструкций более ранних поколений. АКШ проводится при глубоком залегании туннельного сегмента КА под миокардом или при осложнениях, связанных со стентированием. Миотомия является высокоэффективным методом лечения пациентов с ММ при поверхностном залегании интрамиокардиального сегмента КА и выполнении операции в условиях специализированных кардиохирургических центров.

Таким образом, отсутствие общепринятых рекомендаций, очевидно, делает необходимым проведение дальнейших исследований в области рассматриваемой проблемы для разработки и валидации единых алгоритмов по диагностике и лечению пациентов с ММ.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Bockeria LA, Sukhanov SG, Orekhova EN, et al. Results of coronary artery bypass grafting in myocardial bridging of left anterior descending artery. *J Card Surg.* 2013; 28(3):218–221. DOI: 10.1111/jocs.12101.
2. Hostiuc S, Negoii I, Rusu MC, et al. Myocardial bridging: a meta-analysis of prevalence. *J Forensic Sci.* 2018; 63(4):1176–1185. DOI: 10.1111/1556-4029.13665.
3. Roberts W, Charles SM, Ang C, et al. Myocardial bridges: a meta-analysis. *Clin Anat.* 2021;34(5): 685–709. DOI: 10.1002/ca.23697.
4. Watanabe Y, Arakawa T, Kageyama I, et al. Gross anatomical study on the human myocardial bridges with special reference to the spatial relationship among coronary arteries, cardiac veins, and autonomic nerves. *Clin Anat.* 2016; 29(3):333–334. DOI: 10.1002/ca.22662.
5. Rajendran R, Hegde M. The prevalence of myocardial bridging on multidetector computed tomography and its relation to coronary plaques. *Pol J Radiol.* 2019; 84:e478–e483. DOI: 10.5114/pjr.2019.90370.
6. Tarantini G, Migliore F, Cademartiri F, et al. Left anterior descending artery myocardial bridging: a clinical approach. *J Am Coll Cardiol.* 2016; 68(25):2887–2899. DOI: 10.1016/j.jacc.2016.09.973.
7. Sternheim D, Power DA, Samtani R, et al. Myocardial Bridging: Diagnosis, Functional Assessment, and Management: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2021;78(22):2196–2212. DOI: 10.1016/j.jacc.2021.09.859.
8. Uusitalo V, Saraste A, Pietila M, et al. The functional effects of intramural course of coronary arteries and its relation to coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol Img.* 2015; 8(6):697–704. DOI: 10.1016/j.jcmg.2015.04.001.
9. Gould KL, Johnson NP. Myocardial bridges: lessons in clinical coronary pathophysiology. *J Am Coll Cardiol Img.* 2015; 8(6):705–709. DOI: 10.1016/j.jcmg.2015.02.013.
10. Corban MT, Hung OY, Eshtehardi P, et al. Myocardial bridging: contemporary understanding of pathophysiology with implications for diagnostic and therapeutic strategies. *J Am Coll Cardiol.* 2014; 63(22):2346–2355. DOI: 10.1016/j.jacc.2014.01.049.
11. Samady H, Molony DS, Coskun AU, et al. Risk stratification of coronary plaques using physiologic characteristics by CCTA: Focus on shear stress. *J Cardiovasc Comput Tomogr.* 2020; 14(5):386–393. DOI: 10.1016/j.jcct.2019.11.012.
12. Hung OY, Brown AJ, Ahn SG, et al. Association of wall shear stress with coronary plaque progression and transformation. *Interv Cardiol Clin.* 2015; 4(4):491–502. DOI: 10.1016/j.iccl.2015.06.009.
13. Kumar A, Hung OY, Piccinelli M, et al. Low coronary wall shear stress is associated with severe endothelial dysfunction in patients with nonobstructive coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol Interv.* 2018; 11(20):2072–2080. DOI: 10.1016/j.jcin.2018.07.004.
14. Chatzizisis YS, Giannoglou GD. Myocardial bridges spared from atherosclerosis: overview of the underlying mechanisms. *Can J Cardiol.* 2009; 25(4):219–222. DOI: 10.1016/s0828-282x(09)70065-0.
15. White SJ, Hayes EM, Lehoux S, et al. Characterization of the differential response of endothelial cells exposed to normal and elevated laminar shear stress. *J Cell Physiol.* 2011; 226(11):2841–2848. DOI: 10.1002/jcp.22629.
16. Verhagen SN, Rutten A, Meijjs MF, et al. Relationship between myocardial bridges and reduced coronary atherosclerosis in patients with angina pectoris. *Int J Cardiol.* 2013; 167(3):883–888. DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.01.091.
17. Nishimiya K, Matsumoto Y, Wang H, et al. Absence of adventitial vasa vasorum formation at the coronary segment with myocardial bridge - An optical coherence tomography study. *Int J Cardiol.* 2018; 250:275–277. DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.09.211.
18. Chizhova AV, Loginov MO, Bashirov II, et al. Myocardial bridge – a variant of normal anatomy or pathology? Case report. *Morphological newsletter.* 2021; 29(1):55–61. In Russian [Чижова А.В., Логинов М.О., Баширов И.И. и др. Миокардиальный мостик — вариант нормальной анатомии или патология? Клинический случай. Морфологические ведомости. 2021; 29(1):55–61.] DOI: 10.20340/mv-mn.2021.29(1).55-61.
19. Bogomolova OS, Furman NV, Titkov IV. A case of painless myocardial infarction due to bridging of left anterior descending artery. *Russian Journal of Cardiology.* 2014; (7):110–112. In Russian [Богомолова О.С., Фурман Н.В., Титков И.В. Случай безболевого инфаркта миокарда вследствие наличия миокардиального мостика передней нисходящей артерии. Российский кардиологический журнал. 2014; (7):110–112.] DOI: 10.15829/1560-4071-2014-7-110-112.
20. Sara JDS, Corban MT, Prasad M, et al. Prevalence of myocardial bridging associated with coronary endothelial dysfunction in patients with chest pain and non-obstructive coronary artery disease. *EuroIntervention.* 2020; 15(14):1262–1268. DOI: 10.4244/EIJ-D-18-00920.

21. Schwarz ER, Gupta R, Haager PK, et al. Myocardial bridging in absence of coronary artery disease: proposal of a new classification based on clinical-angiographic data and long-term follow-up. *Cardiology*. 2009; 112(1):13–21. DOI: 10.1159/000137693.
22. Lee B-K, Lim H-S, Fearon WF, et al. Invasive evaluation of patients with angina in the absence of obstructive coronary artery disease. *Circulation*. 2015; 131(12):1054–1060. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.012636.
23. Rogers IS, Tremmel JA, Schnittger I. Myocardial bridges: overview of diagnosis and management. *Congenit Heart Dis*. 2017; 12(5):619–623. DOI: 10.1111/chd.12499.
24. Podolec J, Wiewiórka Ł, Siudak Z, et al. Prevalence and clinical presentation of myocardial bridge on the basis of the National Polish Percutaneous Interventions Registry and the Classification of Rare Cardiovascular Diseases. *Kardiologia Pol.* 2018; 77(4):465–470. DOI: 10.5603/KP.a2019.0041.
25. Avram A, Chioncel V, Guberna S, et al. Myocardial bridging—an unusual cause of Wellens syndrome: a case report. *Medicine*. 2020; 99(41): e22491. DOI: 10.1097/MD.00000000000022491.
26. Murtaza G, Mukherjee D, Gharacholou SM, et al. An updated review on myocardial bridging. *Cardiovasc Revasc Med*. 2020; 21(9):1169–1179. DOI: 10.1016/j.carrev.2020.02.014.
27. Kawai H, Ohta M, Motoyama S, et al. Computed tomographic angiography – verified myocardial bridge and invasive angiography–verified left anterior descending coronary artery vasospasm. *J. Am. Coll. Cardiol. Cardiovasc. Interv.* 2020; 13(1): 144–146. DOI: 10.1016/j.jcin.2019.08.023.
28. Hongo Y, Tada H, Ito K, et al. Augmentation of vessel squeezing at coronary-myocardial bridge by nitroglycerin: study by quantitative coronary angiography and intravascular ultrasound. *Am Heart J*. 1999; 138(2 Pt 1):345–350. DOI: 10.1016/s0002-8703(99)70123–70127.
29. Lee MS, Chen CH. Myocardial Bridging: An Up-to-Date Review. *J Invasive Cardiol*. 2015; 27(11):521–528.
30. Yamada R, Tremmel JA, Tanaka S, et al. Functional versus anatomic assessment of myocardial bridging by intravascular ultrasound: impact of arterial compression on proximal atherosclerotic plaque. *J Am Heart Assoc*. 2016; 5(4): e001735. DOI: 10.1161/JAHA.114.001735.
31. Ye Z, Lai Y, Yao Y, et al. Optical coherence tomography and intravascular ultrasound assessment of the anatomic size and wall thickness of a muscle bridge segment. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2019; 93(S1):772–778. DOI: 10.1002/ccd.28094.
32. Lin S, Tremmel JA, Yamada R, et al. A novel stress echocardiography pattern for myocardial bridge with invasive structural and hemodynamic correlation. *J Am Heart Assoc*. 2013; 2(2):e000097. DOI: 10.1161/JAHA.113.000097.
33. Zhou F, Wang YN, Schoepf J, et al. Diagnostic performance of machine learning based CT-FFR in detecting ischemia in myocardial bridging and concomitant proximal atherosclerotic disease. *Can. J. Cardiol*. 2019; 35(11): 1523–1533. DOI: 10.1016/j.cjca.2019.08.026.
34. Aleksandric SB, Djordjevic-Dikic AD, Dobric MR, et al. Functional assessment of myocardial bridging with conventional and diastolic fractional flow reserve: Vasodilator versus inotropic provocation. *J. Am. Heart Assoc*. 2021; 10(13): e020597. DOI: 10.1161/JAHA.120.020597.
35. Kurbanova BG, Bockeria LA. The myocardial bridge: a modern perspective. *The Bulletin of Bakoulev Center. Cardiovascular Diseases*. 2021; 22 (6): 621–631. In Russian [Курбанова Б.Г., Бокерия Л.А. Миокардиальный «мостик»: современный взгляд. Сердечно-сосудистые заболевания. Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. 2021; 22(6): 621–631.] DOI: 10.24022/1810-0694-2021-22-6-621-631.
36. Götzberg M, Christiansen EH, Gudmundsdottir IJ, et al. Instantaneous Wave-free Ratio versus Fractional Flow Reserve to Guide PCI. *N Engl J Med*. 2017; 376(19):1813–1823. DOI: 10.1056/NEJMoa1616540.
37. Sen S, Asrress KN, Nijjer S, et al. Diagnostic classification of the instantaneous wave-free ratio is equivalent to fractional flow reserve and is not improved with adenosine administration: results of CLARIFY (Classification Accuracy of Pressure-Only Ratios Against Indices Using Flow Study). *J. Am. Coll. Cardiol*. 2013; 61(13): 1409–1420. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.01.034.
38. Achenbach S. Coronary CT angiography-future directions. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2017; 7(5):432–438. DOI: 10.21037/cdt.2017.06.10.
39. Gawor R, Kusmirek J, Plachcinska A, et al. Myocardial perfusion GSPECT imaging in patients with myocardial bridging. *J Nucl Cardiol*. 2011; 18(6): 1059–1065. DOI: 10.1007/s12350-011-9406-8.
40. Siciliano M, Migliore F, Piovesana P. Stress echocardiography pattern: a promising noninvasive test for detection of myocardial bridging with haemodynamic relevance. *J Cardiovasc Med*. 2016; 17(Suppl 2):e208–e209. DOI: 10.2459/JCM.0000000000000202.
41. Kobayashi Y, Tremmel JA, Kobayashi Y, et al. Exercise strain echocardiography in patients with a hemodynamically significant myocardial bridge assessed by physiological study. *J Am Heart Assoc*. 2015; 4(11):e002496. DOI: 10.1161/JAHA.115.002496.
42. Kook H, Hong SJ, Yang KS, et al. Comparison of nebivolol versus diltiazem in improving coronary artery spasm and quality of life in patients with hypertension and vasospastic angina: A prospective, randomized, double-blind pilot study. *PLoS One*. 2020; 15(9):e0239039. DOI: 10.1371/journal.pone.0239039.

43. Ide T, Ohtani K, Higo T, et al. Ivabradine for the treatment of cardiovascular diseases. *Circ J*. 2019; 83(2):252–260. DOI: 10.1253/circj.CJ-18-1184.

44. Tarantini G, Barioli A, Nai Fovino L, et al. Unmasking myocardial bridge-related ischemia by intracoronary functional evaluation. *Circ Cardiovasc Interv*. 2018; 11(6):e006247. DOI: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.117.006247.

45. Cerrato E, Barbero U, D'Ascenzo F, et al. What is the optimal treatment for symptomatic patients with isolated coronary myocardial bridge? A systematic review and pooled analysis. *J. Cardiovasc. Med*. 2017; 18(10): 758–770. DOI: 10.2459/JCM.0000000000000551.

46. Pargaonkar VS, Kimura T, Kameda R, et al. Invasive assessment of myocardial bridging in patients with angina and no obstructive coronary artery disease. *EuroIntervention*. 2021; 16(13):1070–1078. DOI: 10.4244/EIJ-D-20-00779.

47. Kunamneni PB, Rajdev S, Krishnan P, et al. Outcome of intracoronary stenting after failed maximal medical therapy in patients with symptomatic myocardial bridge. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2008; 71(2):185–190. DOI: 10.1002/ccd.21358.

48. Yuan SM. Myocardial Bridging. *Braz J Cardiovasc Surg*. 2016; 31(1):60–62. DOI: 10.5935/1678-9741.20150082.

49. Lee PH, Kwon O, Ahn JM, et al. Safety and effectiveness of second-generation drug-eluting stents in patients with left main coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2018; 71(8):832–841. DOI:10.1016/j.jacc.2017.12.032.

50. Doenst T, Haverich A, Serruys P, et al. PCI and CABG for treating stable coronary artery disease: JACC review topic of the week. *J Am Coll Cardiol*. 2019; 73(8):964–976. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.11.053.

51. Ghazy A, Alkady H, Abugameh A, et al. Minimally invasive coronary artery bypass grafting via a lower ministernotomy for left anterior descending artery myocardial bridging: mid-term results. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2021; 33(2):203–209. DOI: 10.1093/icvts/ivab084.

52. Ismail-zade IK, Grebennik VK, Ivanov II, et al. Immediate results of treatment of patients with myocardial bridges of the coronary arteries. *Grekov's Bulletin of Surgery*. 2021; 180(1):17–24. In Russian [Исмаил-заде И.К., Гребенник В.К., Иванов И.Ю. и др. Непосредственные результаты лечения пациентов с миокардиальными мостиками коронарных артерий. Вестник хирургии им. И. И. Грекова. 2021; 180(1):17–24.] DOI: 10.24884/0042-4625-2021-180-1-17-24.

53. Grebennik VK, Ismail-zade IK, Ishmukhametov GI, et al. Successful treatment of myocardial bridge via ministernotomy off-pump. *Russian Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2020; 62(2):133–138. In Russian [Гребенник В.К., Исмаил-заде И.К., Ишмухаметов Г.И. и др.

Успешное лечение миокардиального мостика через нижнесрединную мини-стернотомию на работающем сердце. Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. 2020; 62(2):133–138.] DOI: 10.24022/0236-2791-2020-62-2-133-138.

54. Ji Q, Shen J, Xia L, et al. Surgical treatment of symptomatic left anterior descending myocardial bridges: myotomy vs. bypass surgery. *Surg Today*. 2020; 50(7):685–692. DOI: 10.1007/s00595-019-01935-1.

Информация об авторах:

Мирзоев Никита Тагирович, слушатель ординатуры по специальности «Терапия», ФГБВОУ ВО «ВМедА им. С. М. Кирова» Минобороны России;

Шуленин Константин Сергеевич, д.м.н., доцент, заместитель начальника кафедры военно-морской терапии, ФГБВОУ ВО «ВМедА им. С. М. Кирова» Минобороны России;

Кутелев Геннадий Геннадьевич, к.м.н., старший преподаватель кафедры военно-морской терапии, ФГБВОУ ВО «ВМедА им. С. М. Кирова» Минобороны России;

Черкашин Дмитрий Викторович, д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, начальник кафедры военно-морской терапии, ФГБВОУ ВО «ВМедА им. С. М. Кирова» Минобороны России;

Иванов Владимир Владимирович, к.м.н., начальник пульмонологического отделения 1-й клиники (терапии усовершенствования врачей), ФГБВОУ ВО «ВМедА им. С. М. Кирова» Минобороны России;

Меньков Игорь Анатольевич, к.м.н., врач-рентгенолог, заведующий отделением компьютерной томографии кафедры рентгенологии и радиологии с курсом ультразвуковой диагностики, ФГБВОУ ВО «ВМедА им. С. М. Кирова» Минобороны России.

Author information:

Nikita T. Mirzoev, resident, therapy department, S. M. Kirov Military Medical Academy;

Konstantin S. Shulenin, MD, PhD, DSc, Associate Professor, Deputy Head of the Department of Naval therapy, S. M. Kirov Military Medical Academy;

Gennady G. Kutelev, MD, PhD, Senior Lecturer, department of Naval therapy, S. M. Kirov Military Medical Academy;

Dmitry V. Cherkashin, MD, PhD, DSc, Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Head of the Department of Naval therapy, S. M. Kirov Military Medical Academy;

Vladimir V. Ivanov, MD, PhD, Head of the Pulmonology Department of the 1st Therapeutic Clinic of Postgraduate Education, S. M. Kirov Military Medical Academy;

Igor A. Menkov, MD, PhD, radiologist, Head of the Computed Tomography Department of the Department of Roentgenology and Radiology with the course of ultrasound diagnosis, S. M. Kirov Military Medical Academy.

ОЦЕНКА ГЛОБАЛЬНОЙ, СЕГМЕНТАРНОЙ ПРОДОЛЬНОЙ ДЕФОРМАЦИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА И ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У ДЕТЕЙ С СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ

Галимова Л. Ф.^{1,2}, Садыкова Д. И.², Макарова Т. П.²,
Камалова А. А.², Мельникова Ю. С.², Сластикова Е. С.²,
Рахмаева Р. Ф.², Петрова М. А.², Мустафаева А. А.¹, Семенова Г. Г.¹

Контактная информация:
Галимова Лилия Фаридовна,
ГАУЗ «ДРКБ МЗ РТ»,
ул. Оренбургский тракт, 140, Казань,
Республика Татарстан, 420138.
E-mail: lilu1@inbox.ru

¹ Государственное автономное учреждение здравоохранения
«Детская республиканская клиническая больница Министерства
здравоохранения Республики Татарстан», Казань, Россия

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

Статья поступила в редакцию 20.10.2022
и принята к печати 02.12.2022.

Резюме

Актуальность. Семейная гиперхолестеринемия (СГХС) сопровождается значительным повышением уровня холестерина липопротеидов низкой плотности в крови. Актуальность своевременной диагностики и лечения обусловлена риском преждевременного развития атеросклероза. Среди пациентов с СГХС до 30 лет встречается ишемическая болезнь сердца вследствие атеросклероза коронарных артерий. В настоящее время недостаточно сведений о сердечной морфологии и функции миокарда при СГХС в детском возрасте. **Цель.** Оценить глобальную, сегментарную продольную деформацию левого желудочка и функцию эндотелия у детей с семейной гиперхолестеринемией. **Материалы и методы.** В исследовании участвовали 59 детей, из них 25 здоровых ребят (контрольная группа) и 34 человека с диагнозом «гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия». Эндотелин-1 и оксид азота определяли методом иммуноферментного анализа. Эхокардиографическое исследование проводилось по стандартной методике. Оценка глобальной и сегментарной продольной деформации левого желудочка проводилась в 4-х камерной апикальной, 3-х камерной и 2-х камерной проекциях с использованием автоматизированного инструмента измерения TOMTEC Autostrain LV. **Результаты.** Статистически значимых различий глобальной продольной деформации (ГПД) между детьми контрольной группы и с СГХС не выявлено. Индивидуальный анализ показал, что у 2 пациентов с СГХС отмечалось снижение ГПД. Анализ сегментарной продольной деформации выявил статистически значимое снижение показателей у пациентов с СГХС на уровне базального и апикального передне-перегородочных, базального нижнего сегментов. Оценка эндотелина-1 и оксида азота в сыворотке крови выявила статистически значимое повышение показателей при СГХС относительно контрольной группы. **Заключение.** Применение спекл-трекинг эхокардиографии позволило выявить среди детей с СГХС пациентов со снижением глобальной и сегментарной продольной деформации левого желудочка.

Ключевые слова: глобальная продольная и сегментарная деформация левого желудочка, семейная гиперхолестеринемия, эндотелиальная дисфункция.

Для цитирования: Галимова Л.Ф., Садыкова Д.И., Макарова Т.П., Камалова А.А., Мельникова Ю.С., Сластикова Е.С., Рахмаева Р.Ф., Петрова М.А., Мустафаева А.А., Семенова Г.Г. Оценка глобальной, сегментарной продольной деформации левого желудочка и функции эндотелия у детей с семейной гиперхолестеринемией. Трансляционная медицина. 2022;9(5):33-43. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-33-43.

ASSESSMENT OF GLOBAL, SEGMENTAL LONGITUDINAL DEFORMATION OF THE LEFT VENTRICLE AND ENDOTHELIAL FUNCTION IN CHILDREN WITH FAMILY HYPERCHOLESTEROLEMIA

Liliya F. Galimova^{1,2}, Dinara I. Sadykova², Tamara P. Makarova², Aelita A. Kamalova², Yulia S. Melnikova², Evgenia S. Slastnikova², Razilya F. Rakhmaeva², Maria A. Petrova², Almira A. Mustafaeva¹, Gulnur G. Semenova¹

Corresponding author:

Liliya F. Galimova,
Children's Republican Clinical Hospital,
Str. Orenburgskiy trakt, 140, Kazan, Russia,
420138.
E-mail: lilu1@inbox.ru

¹ Children's Republican Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia

² Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Received 20 October 2022; accepted
02 December 2022.

Abstract

Background. Familial hypercholesterolemia (FHC) is accompanied by a significant increase in the level of low-density lipoprotein cholesterol in the blood. The relevance of early diagnosis and treatment is due to the risk of premature development of atherosclerosis. Coronary heart disease due to atherosclerosis of the coronary arteries occurs among FHC patients up to 30 years. Currently, cardiac morphology and myocardial function in children with FHC are poorly understood. **Objective.** To assess global, segmental longitudinal deformation of the left ventricle and endothelial function in children with familial hypercholesterolemia. **Design and methods.** The study involved 25 healthy children and 34 children with FHC. Endothelin-1 and NO were determined by enzyme immunoassay. Echocardiographic study was carried. Assessment of global and segmental longitudinal deformation of the left ventricle was carried out in 4-chamber apical, 3-chamber and 2-chamber projections. **Results.** There were no statistically significant differences in global longitudinal strain (GLD) between groups. Individual analysis showed that 2 patients with FHC had a decrease in GLD. There was a statistically significant decrease in parameters in FHC patients at the level of the basal and apical anterior-septal, basal lower segments. Endothelin-1 and NO were increased in FHC compared to the control group. **Conclusion.** Speckle-tracking echocardiography allowed identifying patients with a decrease in global and segmental longitudinal deformation of the left ventricle among children with FHC.

Key words: endothelial dysfunction, familial hypercholesterolemia, global longitudinal and segmental deformation of the left ventricle.

For citation: Galimova LF, Sadykova DI, Makarova TP, Kamalova AA, Melnikova YuS, Slastnikova ES, Rakhmaeva RF, Petrova MA, Mustafaeva AA, Semenova GG. Assessment of global, segmental longitudinal deformation of the left ventricle and endothelial function in children with family hypercholesterolemia. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022;9(5):33-43. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-33-43.

Список сокращений: ГПД — глобальная продольная деформация, ГПС — глобальный продольный стрейн левого желудочка, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ЛПВП — липопротеины высокой плотности, ЛПНП — холестерин липопротеидов низкой плотности, ММЛЖ — масса миокарда левого желудочка, СГХС — семейная гиперхолестеринемия.

Введение

Семейная гиперхолестеринемия (СГХС) — моногенное заболевание с преимущественно ауто-сомно-доминантным типом наследования, сопровождающееся значительным повышением уровня холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) в крови [1]. Распространенность СГХС в общей популяции оценивается примерно в 1 на 200–250 человек [2]. Согласно эпидемиологическим исследованиям, проведенным в некоторых регионах Российской Федерации, распространенность СГХС составляет от 1 на 108 [3] до 1 на 322 человека [4]. Актуальность своевременной диагностики и лечения заболевания обусловлена многократным риском преждевременного развития атеросклероза в сравнении с общей популяцией [5, 6]. При этом процессы атеросклеротического повреждения сосудов при семейной гиперхолестеринемии могут начинаться уже в детском возрасте.

В ряде случаев среди молодых людей в возрасте до 30 лет, страдающих СГХС, зарегистрирована ишемическая болезнь сердца (ИБС) вследствие атеросклероза коронарных артерий [7, 8]. У детей с СГХС повышенный уровень ЛПНП приводит к формированию эндотелиальной дисфункции [9] и ремоделированию артериальных сосудов [10]. При этом в настоящее время недостаточно сведений о сердечной морфологии и функции миокарда при семейной гиперхолестеринемии в детском возрасте.

На сегодняшний день методом выбора для выявления субклинической дисфункции сердечной мышцы является спекл-трекинг эхокардиография. Метод основан на анализе движения так называемых спеклов (speckle) — черных или белых вкраплений, пятен, возникающих в результате взаимодействия ультразвука с тканью миокарда. Специализированное программное обеспечение способно идентифицировать вкрапления и отслеживать их кадр за кадром в течение сердечного цикла, определяя расстояние и скорость, с которой перемещается пятно. По их движению получают данные о деформации миокарда в различных направлениях: удлинение, укорочение и утолщение [11]. Под деформацией или стрейном

(strain) понимают изменение длины мышечного волокна в течение сердечного цикла, измеряемое в процентах (%). Для оценки функции миокарда ЛЖ используют показатель глобальной продольной деформации (ГПД, global longitudinal strain), который определяется в 17 или 18 сегментах ЛЖ из стандартных апикальных позиций и выражается в виде так называемого бычьего глаза [11, 12]. В 2015 году Р. Т. Levy и соавторы представили результаты метаанализа, включающего 43 исследования [13], согласно которым норма глобальной продольной деформации ЛЖ в детском возрасте составляет -20,2 %, нижняя граница нормы -18 % [13]. В литературе представлены данные по исследованию ГПД у детей с врожденными пороками сердца [14, 15], ожирением [16], мультисистемным воспалительным синдромом [17–19].

Цель исследования: провести оценку глобальной, сегментарной продольной деформации левого желудочка и функции эндотелия у детей с семейной гиперхолестеринемией.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе Детского центра липидологии при ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница» (г. Казань) в период с июля по сентябрь 2022 года. В исследовании участвовали 59 детей. Из них 25 здоровых детей составили контрольную группу (средний возраст 10,1 (7,3–14,1) лет) и 34 ребенка с диагнозом «гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия» вошли в основную группу (средний возраст 10,5 (7,0–14,3) лет) (табл. 1). Диагноз СГХС выставляли в соответствии с Британскими критериями Simon Broome [20]. Критерии исключения: вторичная дислипидемия, курение, дети со структурной патологией сердца. У всех пациентов было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Общий холестерин, триглицериды, ЛПНП и липопротеины высокой плотности (ЛПВП) измеряли с использованием коммерческих наборов (Beckman Coulter, USA) на автоматическом биохимическом анализаторе (Au5800 Beckman Coulter, USA). Эндотелин-1 и оксид азота определяли методом иммуноферментного анализа с использованием диагностических наборов реактивов фирмы Cloud-Clone Corp (США) на иммуноферментных анализаторах Sunrise Tecan (Австрия) и Multiscan EX Thermo Electron (Китай).

Клиническое обследование включало тщательный сбор анамнеза жизни, семейного анамнеза, физикальный осмотр, оценку индекса массы тела (ИМТ), оценку артериального давления.

Эхокардиографическое исследование проводилось на аппарате Philips Epiq Elite (США) с использованием секторного датчика S5-1 по стандартной методике. Оценка глобальной и сегментарной продольной деформации левого желудочка проводилась в 4-камерной апикальной, 3-камерной и 2-камерной проекциях с использованием автоматизированного инструмента измерения TOMTEC Autostrain LV.

Статистический анализ проводили с использованием программы StatTech v.1.2.0 (разработчик ООО «Статтех», Российская Федерация). Количественные данные были подвергнуты статистической обработке с использованием параметрических или непараметрических методов в зависимости от результатов проверки на нормальность распределения, проводимой с помощью критерия Шапиро–Уилка. Количественные данные описывали

при помощи значений медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1–Q3) (при распределении, отличном от нормального) или средних значений со стандартными отклонениями ($M \pm SD$) (при нормальном распределении). Сравнение количественных показателей между двумя независимыми группами выполнялось с помощью критерия Манна–Уитни (при распределении, отличном от нормального) или t-критерия Стьюдента (при нормальном распределении). Различия показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Нами проведен анализ возрастно-половых и физических характеристик обследованных детей (табл. 1). Как видно из приведенных данных, количество мальчиков и девочек было сопоставимо по полу и возрасту. Оценка физического

Таблица 1. Возрастно-половые и физические характеристики обследуемых детей, Me (Q1–Q3)

Table 1. Age-sex and physical characteristics of the examined children, Me (Q1–Q3)

Характеристика	Здоровые	СГХС	P
Возраст	10,1 (7,3–14,1)	10,5 (7,0–14,3)	0,803
Пол			0,749
Ж	12/25 (48 %)	17/34 (50 %)	
М	13/25 (52 %)	17/34 (50 %)	
Рост, см	144 (126–163)	145 (126–162)	0,825
Вес, кг	39 (25–51)	40 (25–52)	0,753
ППТ, м ²	1,24 (0,92–1,51)	1,27 (0,93–1,51)	0,9389
ИМТ, кг/м ²	17,85 (15,99–19,61)	18,55 (15,97–20,42)	0,2873
z-score ИМТ	0,1 (-0,4–0,8)	0,2 (-0,4–0,5)	0,382
z-score масса тела к возрасту	-0,1 (-0,4–0,3)	-0,2 (-0,6–0,2)	0,453
z-score длина тела к возрасту	-0,1 (-0,5–0,5)	-0,2 (-0,6–0,5)	0,215

Таблица 2. Липидный профиль обследуемых детей, Me (Q1–Q3)

Table 2. Lipid profile of the examined children, Me (Q1–Q3)

Показатель	Здоровые	СГХС	P
ОХ, ммоль/л	3,61 (3,30–4,20)	7,30 (6,96–7,64)	< 0,0001*
ЛПВП, ммоль/л	1,30 (1,10–1,41)	1,20 (1,10–1,26)	< 0,0001*
ЛПНП, ммоль/л	2,20 (1,83–2,43)	5,20 (4,90–5,77)	< 0,0001*
ТГ, ммоль/л	1,00 (0,75–1,20)	1,2 (0,90–1,30)	0,0175*
Индекс атерогенности	1,86 (1,54–2,22)	4,53 (3,84–5,31)	< 0,0001*

развития детей основной и контрольной групп не выявила статистически значимых различий. Индивидуальный анализ пациентов с СГХС показал, что 91,1 % (31) из них имели нормальную массу тела по z-score ИМТ. Избыточная масса тела отмечалась у 2,9 % (1) детей, ожирение в 2,9 % (1) случаев. Белково-энергетическая недостаточность легкой степени выявлена у 2,9 % (1) пациентов.

У детей контрольной группы нормальную массу тела по z-score ИМТ имели 92 % (23) детей. Избыточная масса тела зарегистрирована у 8 % (2) детей. Белково-энергетическая недостаточность не выявлена. Измерение артериального давления не выявило детей с артериальной гипертензией, как в основной, так и в контрольной группах.

Нами был проведен анализ липидограммы у обследованных детей, который показал статистически значимое увеличение общего холестерина, ЛПНП в группе СГХС, что является характерным для данного заболевания (табл. 2). Наряду с этим выявлено снижение ЛПВП ($p < 0,0001$), увеличение триглицеридов ($p < 0,05$) у детей основной группы в сравнении со здоровыми сверстниками.

Всем детям было проведено эхокардиографическое исследование, и сделан сравнительный анализ полученных показателей (табл. 3).

Статистически значимой разницы в показателях диаметра корня аорты, амплитуды раскрытия аортального клапана, размеров левого предсердия, правого желудочка, толщины межжелудочковой перегородки и задней стенки, конечного диастолического и систолического размеров левого желудочка выявлено не было.

Всем пациентам было проведено определение показателей гемодинамики, и сделан их сравнительный анализ. Оценка проводилась по показателям, характеризующим систолическую функцию левого желудочка: фракция выброса (ФВ) левого желудочка, фракция укорочения (ФУ), ударный объем (УО). У обследованных детей ФВ, ФУ, УО регистрировались в одинаковых диапазонах значений, и статистически значимой разницы между группами получено не было ($p = 0,372$, $p = 0,115$, $p = 0,355$ соответственно).

Одним из показателей, характеризующих гипертрофию миокарда, является масса миокарда левого желудочка (ММЛЖ). Нами был проведен анализ ИММЛЖ и его индексированных значений. В исследуемых группах статистически значимых отличий по ММЛЖ, индексированной ММЛЖ к площади поверхности тела ($\text{г}/\text{м}^2$) и к росту в степени 2,7 получено не было.

Таблица 3. Показатели эхокардиографического исследования у детей исследуемых групп, Me (Q1-Q3)

Table 3. Echocardiographic parameters in children of the study groups, Me (Q1-Q3)

Показатель	Здоровые	СГХС	P
ДАо, мм	25,1 (24,2–30,5)	26,0 (23,0–29,0)	0,462
РаскАоК, мм	21,0 (18,0–22,0)	18,3 (17,0–20,8)	0,052
ЛП, мм	27,3 (25,6–31,1)	25,4 (23,0–27,0)	0,062
ПЖ, мм	12,5 (10,0–14,5)	14,1 (11,0–17,5)	0,320
ТМЖП, мм	6,3 (5,2–7,0)	6,5 (5,4–7,0)	0,461
ТЗС ЛЖ, мм	6,0 (5,0–7,0)	6,15 (5–6,8)	0,79
КДР, мм	41,0 (38,0–44,0)	42,0 (38,0–45,0)	0,057
КСР, мм	28,0 (26,4–30,5)	30,0 (26,5–31,0)	0,574
ФВ, %	67,0 (65,3–71,0)	66,0 (64,0–70,0)	0,372
ФУ, %	37,0 (34,5–43,0)	36,0 (34,0–42,5)	0,115
УО, мл	41,0 (35,0–45,0)	40,0 (36,0–43,5)	0,355
ММ ЛЖ, г	72,7 (47,0–87,9)	74,2 (43,2–81,2)	0,684
ИММ ЛЖ, $\text{г}/\text{м}^2$	55,3 (47,6–65,9)	58,0 (48,0–66,1)	0,4253
ИММ ЛЖ, $\text{г}/\text{м}^{2,7}$	25,1 (23,3–29,0)	24,4 (22,4–27,8)	0,892

При индивидуальном анализе полученных значений ИММЛЖ^{2,7} показано, что у 13 % (4) детей с СГХС исследуемый показатель превышал значения 95-го перцентиля. Данных пациентов можно выделить в группу риска по развитию гипертрофии левого желудочка. Пациентов с превышением значений 99-го перцентиля выявлено не было.

Наряду с эхокардиографией, проведенной в М- и В-режимах, мы оценили глобальную и сегментарную продольную деформацию левого желудочка с использованием спекл-трекинг эхокардиографии. Статистически значимых различий средних значений глобальной продольной деформации между группами выявлено не было (табл. 4).

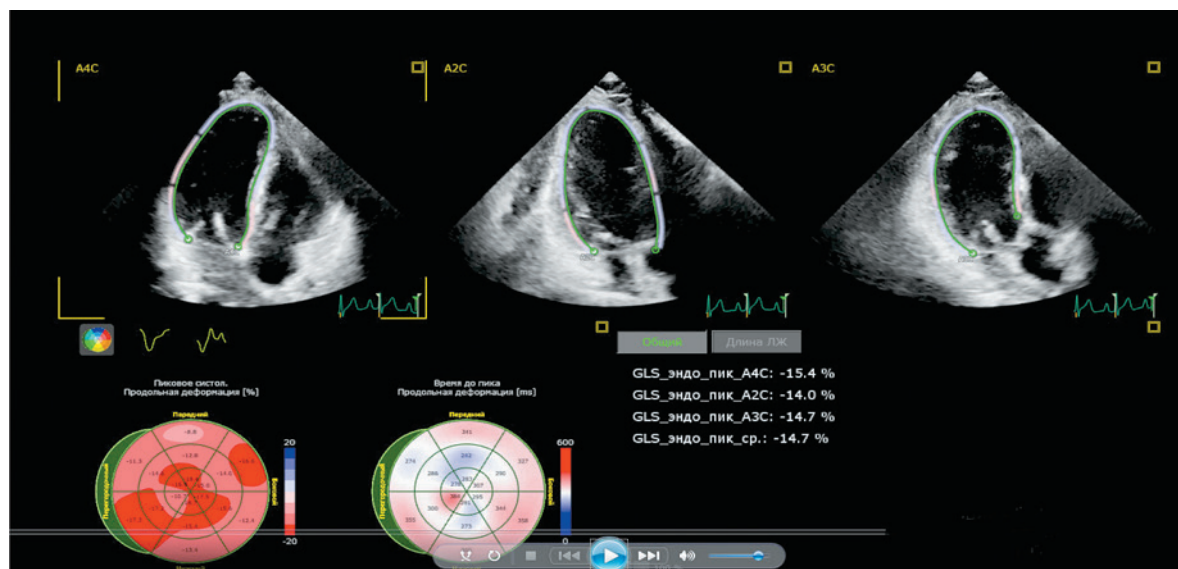


Рис. 1. Результаты глобальной продольной деформации левого желудочка (-14,7 %) у ребенка с семейной гиперхолестеринемией

Figure 1. Results of global longitudinal deformation of the left ventricle (-14.7 %) in a child with familial hypercholesterolemia

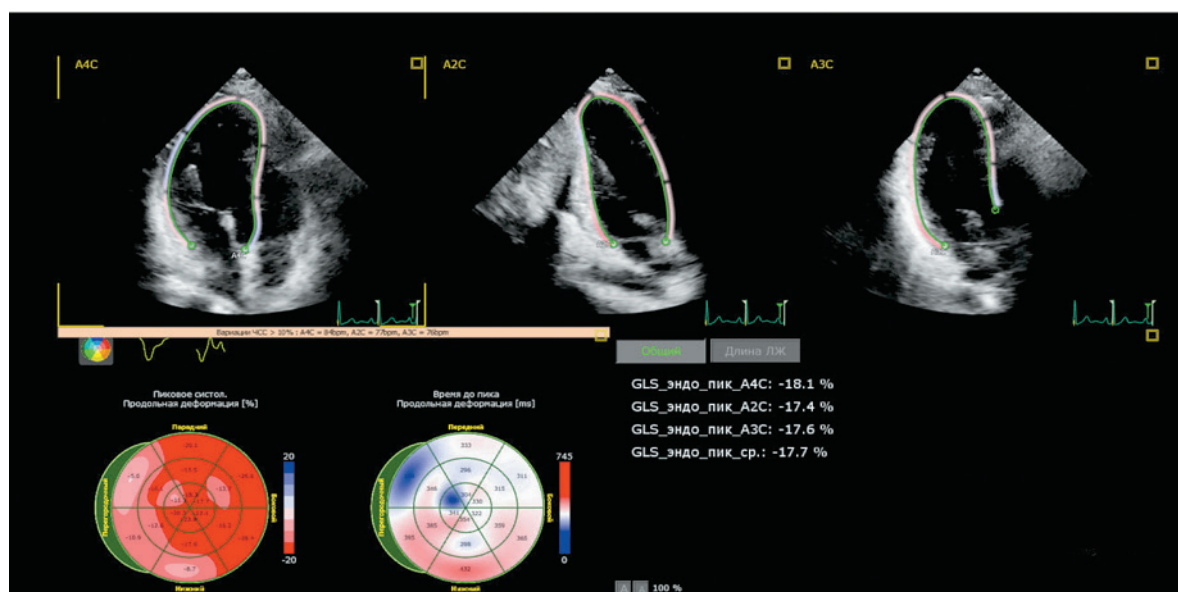


Рис. 2. Результаты глобальной продольной деформации левого желудочка (-17,7 %) у ребенка с семейной гиперхолестеринемией

Figure 2. Results of global longitudinal deformation of the left ventricle (-17.7 %) in a child with familial hypercholesterolemia

Таблица 4. Показатели глобальной и сегментарной продольной деформации левого желудочка у детей исследуемых групп M±SD**Table 4. Indicators of global and segmental longitudinal deformation of the left ventricle in children of the studied groups M±SD**

Показатель	Здоровые	СГХС	p
Глобальный	-22,5(2,5)	-21,2(2,9)	0,072
Базальный передний	-20,6(2,9)	-22,3(2,5)	0,63
Базальный передне-перегородочный	-23,4(2,5)	-17,5(1,8)	0,004*
Базальный ниже-перегородочный	-23,5(3,6)	-22,8(2,9)	0,25
Базальный нижний	-21,4(3,3)	-16,4(3,1)	0,021*
Базальный нижебоковой	-22,3 (3,5)	-21,4(2,7)	0,52
Базальный переднебоковой	-21,3(4,3)	-20,5(3,6)	0,09
Средний передний	-24,2(4,2)	-22,6(3,8)	0,42
Средний передне-перегородочный	-20,6(2,9)	-22,3(4,2)	0,08
Средний ниже-перегородочный	-19,9(2,7)	-21,4(3,8)	0,56
Средний нижний	-23,5(4,2)	-21,6(2,5)	0,06
Средний нижебоковой	-22,3(3,2)	-23,1(2,9)	0,23
Средний переднебоковой	-23,6(3,8)	-20,5(4,3)	0,35
Апикальный передний	-21,6(2,9)	-19,6(3,9)	0,06
Апикальный передне-перегородочный	-22,8(3,9)	-17,8(2,7)	0,003*
Апикальный ниже-перегородочный	-21,9(3,6)	-23,4(3,5)	0,09
Апикальный нижний	-20,5(3,5)	-21,9(2,2)	0,06
Апикальный нижебоковой	-19,8(4,5)	-20,5(3,9)	0,25
Апикальный переднебоковой	-22,6(3,8)	-21,2(4,3)	0,34

Таблица 5. Показатели уровня эндотелина-1 и оксида азота у детей исследуемых групп, Me (Q1-Q3)**Table 5. Indicators of the level of endothelin-1 and nitric oxide in children of the studied groups, Me (Q1-Q3)**

Показатель	Здоровые (n = 121)	СГХС (n = 122)	P
Эндотелин-1, фмоль/мл	0,051 (0,031–0,073)	0,208 (0,059–0,405)	< 0,0001*
Оксид азота, мкмоль/л	31,0 (25,0–36,0)	61,0 (42,5–93,0)	< 0,0001*

Однако индивидуальный анализ показал, что у 2 пациентов с СГХС отмечалось снижение ГПД до -14,7 % и -17,7 % соответственно (рис. 1, 2).

Анализ сегментарной продольной деформации выявил статистически значимое снижение показателей у пациентов с СГХС на уровне базального

и апикального передне-перегородочного, базального нижнего сегментов (табл. 4).

В настоящем исследовании была проведена оценка количественного содержания в сыворотке крови эндотелина-1 и оксида азота у пациентов с СГХС и здоровых сверстников (табл. 5). При сравнитель-

ном анализе было выявлено статистически значимое повышение концентрации эндотелина-1 в группе детей с СГХС — 0,208 (0,059–0,405) фмоль/л относительно здоровых детей — 0,051 (0,031–0,073) фмоль/л, ($p < 0,0001$). При оценке оксида азота зарегистрировано статистически значимое увеличение концентрации оксида азота у пациентов СГХС (61,0 (42,5–93,0) мкмоль/л) относительно здоровых сверстников (31,0 (25,0–36,0) мкмоль/л), $p < 0,0001$.

Представляет интерес анализ состояния физического развития, сердечно-сосудистой системы и лабораторных показателей детей с СГХС, имеющих признаки снижения ГПД. Следует отметить, что у данных пациентов таких отклонений в состоянии здоровья, как ожирение, артериальная гипертензия, гипертрофия миокарда левого желудочка, выявлено не было. В то же время у одного из них зарегистрировано увеличение уровня эндотелина-1 до 0,35 фмоль/мл, что выше средних значений для когорты детей с СГХС (0,208 фмоль/мл).

Обсуждение

В настоящем исследовании нами был проведен сравнительный анализ показателей эхокардиографии, включающий наряду с параметрами, полученными в М- и В-режимах, результаты спекл-трекинг эхокардиографии, среди здоровых детей и детей, страдающих семейной гиперхолестеринемией. При использовании стандартной эхокардиографии значимых изменений систолической функции миокарда получено не было. Применение более чувствительной методики оценки деформации миокарда — спекл-трекинг эхокардиографии, позволило зарегистрировать субклинические нарушения функции миокарда левого желудочка. Выявлено, что семейная гиперхолестеринемия в детском возрасте сопровождается снижением сегментарной продольной деформации в базальном и апикальном передне-перегородочных, а также базальном нижнем сегментах. Статистически значимых отличий глобальной продольной деформации ЛЖ между исследуемыми группами зарегистрировано не было. Однако при индивидуальном анализе у 2 пациентов (5,8 %) отмечалось снижение ГПД.

Анализ литературы показал, что ряд заболеваний в детском возрасте приводит к нарушению функции миокарда и сопровождается снижением сегментарной продольной деформации, а именно — у детей с артериальной гипертензией [21], ожирением [22], врожденными пороками сердца [14, 15] при нормальной фракции выброса левого желудочка. Исследования деформации левого желудочка среди пациентов с СГХС в детском

возрасте ранее не проводились. В литературе представлена единичная публикация по оценке деформации ЛЖ у детей с гиперхолестеринемией [23], в которой так же, как и в нашем исследовании, выявлено снижение ГПД в когорте участников с повышением ЛПНП относительно здоровых сверстников.

Нами проведен анализ функции эндотелия на основании изучения содержания эндотелина-1 и оксида азота в сыворотке крови. Выявлено, что семейная гиперхолестеринемия сопровождается статистически значимым повышением уровня эндотелина-1 и оксида азота в сыворотке крови относительно контрольной группы. Вероятно, высокий уровень оксида азота у детей с СГХС является компенсаторной реакцией в ответ на гиперпродукцию эндотелина-1, являющегося одним из самых мощных вазоконстрикторов. Полученные результаты позволяют говорить о том, что у детей с СГХС происходят процессы формирования эндотелиальной дисфункции, возможно, находящиеся во взаимосвязи с увеличением уровня общего холестерина и ЛПНП в сыворотке крови.

Проведенные ранее исследования показали, что такие сердечно-сосудистые заболевания и факторы риска, как ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь сердца, диабетическая кардиомиопатия, гиперхолестеринемия, могут прямо или косвенно вызывать сердечные макрососудистые и/или микрососудистые аномалии. Экспериментальные исследования продемонстрировали, что гиперхолестеринемия может привести к сердечной гипертрофии с помощью нескольких механизмов, таких как повышение концентрации эндотелина в плазме крови, что приводит к вазомоторным изменениям, активации гипертрофических сигнальных путей в кардиомиоцитах и усилению сердечного окислительного стресса [24, 25]. Также отмечалась ассоциация гиперхолестеринемии со снижением экспрессии коннексина-43, вызывающего повреждение сосудов и сократительную дисфункцию миокарда [26].

Таким образом, основываясь на представленных выше исследованиях, можно предположить, что выявленная нами эндотелиальная дисфункция у детей с СГХС, вероятно, является одним из механизмов развития субклинической дисфункции миокарда левого желудочка и объясняет снижение продольной сегментарной деформации ЛЖ. Дети с СГХС без других сопутствующих заболеваний представляют собой уникальную клиническую возможность оценить ранние эффекты наследственной гиперхолестеринемии на сердечно-сосудистую систему. Применение спекл-трекинг

эхокардиографии, возможно, позволяет на самых ранних стадиях выявить признаки дисфункции миокарда в виде снижения продольной сегментарной деформации в этой когорте пациентов, при отсутствии патологических отклонений при проведении стандартной эхокардиографии.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Благодарности / Acknowledgments

Настоящее исследование проводилось с использованием средств гранта, предоставляемого ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (договор №1/22-6 от 15.07.2022). / This study was conducted using the grant funds provided by the Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Contract No. 1/22-6 dated 07/15/2022).

Список литературы / References

1. Clinical guidelines. Familial hypercholesterolemia. In Russian [Клинические рекомендации. Семейная гиперхолестеринемия.] https://noatero.ru/sites/default/files/proekt_klinicheskie_rekomendacii_sgsh_mz_rf_18.01.pdf (2018)
2. Tokgozoglu L, Kayikcioglu M. Familial Hypercholesterolemia: Global Burden and Approaches. *Curr Cardiol Rep.* 2021; 23(10):151. DOI: 10.1007/s11886-021-01565-5.
3. Ershova AI, Meshkov AN, Bazhan SS, et al. The prevalence of familial hypercholesterolemia in the West Siberian region of the Russian Federation: A substudy of the ESSE-RF. *PLoS One.* 2017; 12(7):e0181148. DOI: 10.1371/journal.pone.0181148.
4. Karpov YuA, Kukharchuk VV, Boytsov SA, et al. Consensus statement of the Russian National Atherosclerosis Society (RNAS) familial hypercholesterolemia in Russia: outstanding issues in diagnosis and management. 2015; (2), 5–16. In Russian [Карпов Ю.А., Кухарчук В.В., Бойцов С.А. и др. Заключение совета экспертов Национального общества по изучению атеросклероза (НОА). Семейная гиперхолестеринемия в Российской Федерации: нерешенные проблемы диагностики и лечения. Атеросклероз и дислипидемии. 2015; (2), 5–16.]
5. Borén J, Chapman MJ, Krauss RM, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J.* 2020; 41(24):2313–2330. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz962.
6. Mach F, Baigent C, Catapano AL, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J.* 2020; 41(1):111–188. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz455.
7. Mabuchi H, Koizumi J, Shimizu M, et al. Development of coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. *Circulation.* 1989; 79(2):225–232. DOI: 10.1161/01.cir.79.2.225.
8. Mouratidis B, Vaughan-Neil EF, Gilday DL, et al. Detection of silent coronary artery disease in adolescents and young adults with familial hypercholesterolemia by single-photon emission computed tomography thallium-201 scanning. *Am J Cardiol.* 1992; 70(13):1109–1112. DOI: 10.1016/0002-9149(92)90038-z.
9. Bruzzi P, Predieri B, Madeo S, et al. Longitudinal evaluation of endothelial markers in children and adolescents with familial hypercholesterolemia. *Acta Biomed.* 2021; 92(5):e2021343. DOI: 10.23750/abm.v92i5.11074.
10. Kusters DM, Wiegman A, Kastelein JJ, et al. Carotid intima-media thickness in children with familial hypercholesterolemia. *Circ Res.* 2014; 114(2):307–310. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.114.301430.
11. Atabaeva LS, Saidova MA, Shitov VN, et al. Myocardial deformation analysis combined with contrast stress-echocardiography — an additional method for assessment of myocardial ischemia. In Russian [Атабаева Л.С., Саидова М.А. Шитов В.Н. и др. Технология спекл-трекинг в сочетании с миокардиальной контрастной стресс-эхокардиографией — дополнительный способ оценки ишемии миокарда. Кардиологический вестник. 2021; 16(2): 43–52.] DOI: 10.17116/Cardiobulletin20211602143.
12. Plana JC, Galderisi M, Barac A, et al. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: a report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2014; 27(9):911–939. DOI: 10.1016/j.echo.2014.07.012.
13. Levy PT, Macheffsky A, Sanchez AA, et al. Reference Ranges of Left Ventricular Strain Measures by Two-Dimensional Speckle-Tracking Echocardiography in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Soc Echocardiogr.* 2016; 29(3):209–225.e6. DOI: 10.1016/j.echo.2015.11.016.
14. Campbell MJ, Quartermain MD, Cohen MS, et al. Longitudinal changes in echocardiographic measures of ventricular function after Fontan operation. *Echocardiography.* 2020; 37(9):1443–1448. DOI: 10.1111/echo.14826.
15. Zoeller BB, Miyamoto SD, Younoszai AK, et al. Longitudinal Strain and Strain Rate Abnormalities Precede Invasive Diagnosis of Transplant Coronary Artery Vasculopathy in Pediatric Cardiac Transplant Patients. *Pediatr Cardiol.* 2016; 37(4):656–662. DOI: 10.1007/s00246-015-1328-9.

16. Popp TJ, Henshaw MH, Carter J, et al. Racial differences in myocardial deformation in obese children: Significance of inflammatory state. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2019; 29(4):378–382. DOI: 10.1016/j.numecd.2019.01.013.
 17. He M, Leone DM, Frye R, et al. Longitudinal Assessment of Global and Regional Left Ventricular Strain in Patients with Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C). *Pediatr Cardiol.* 2022;43(4):844–854. DOI: 10.1007/s00246-021-02796-7.
 18. Ahmed S, Strait K, RayChaudhuri N, et al. Global Longitudinal Strain Reduction in the Absence of Clinical Cardiac Symptoms in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children Associated with COVID-19: A Case Series. *Pediatr Cardiol.* 2022; 43(1):233–237. DOI: 10.1007/s00246-021-02712-z.
 19. Volgina SYa, Shurygin AD, Zaynutdinov AV, et al. Modern diagnostic criteria for Kawasaki disease in children. In Russian [Волгина С.Я., Шурыгин А.Д., Зайнутдинов А.В. и др. Современные диагностические критерии болезни кавасаки у детей. *Российский педиатрический журнал.* 2020; 23 (1): 48–56.] DOI: 10.18821/1560-9561-2020-23-1-48-56.
 20. Neil HA, Hammond T, Huxley R, et al. Extent of underdiagnosis of familial hypercholesterolaemia in routine practice: prospective registry study. *BMJ.* 2000; 321(7254):148. DOI: 10.1136/bmj.321.7254.148.
 21. Navarini S, Bellsham-Revell H, Chubb H, et al. Myocardial Deformation Measured by 3-Dimensional Speckle Tracking in Children and Adolescents With Systemic Arterial Hypertension. *Hypertension.* 2017; 70(6):1142–1147. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.
 22. Zhang C, Deng Y, Liu Y, et al. Preclinical cardiovascular changes in children with obesity: A real-time 3-dimensional speckle tracking imaging study. *PLoS One.* 2018; 13(10):e0205177. DOI: 10.1371/journal.pone.0205177.
 23. Vitarelli A, Martino F, Capotosto L, et al. Early myocardial deformation changes in hypercholesterolemic and obese children and adolescents: a 2D and 3D speckle tracking echocardiography study. *Medicine (Baltimore).* 2014; 93(12):e71. DOI: 10.1097/MD.0000000000000071.
 24. Lee TM, Chou TF, Tsai CH. Association of pravastatin and left ventricular mass in hypercholesterolemic patients: role of 8-iso-prostaglandin f2alpha formation. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2002; 40(6):868–874. DOI: 10.1097/00005344-200212000-00007.
 25. Rajapurohitam V, Javadov S, Purdham DM, et al. An autocrine role for leptin in mediating the cardiomyocyte hypertrophic effects of angiotensin II and endothelin-1. *J Mol Cell Cardiol.* 2006; 41(2):265–274. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2006.05.001.
 26. Chadjichristos CE, Matter CM, Roth I, et al. Reduced connexin43 expression limits neointima formation after balloon distension injury in hypercholesterolemic mice. *Circulation.* 2006; 113(24):2835–2843. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.627703.
- Информация об авторах:**
- Галимова Лилия Фаридовна, к.м.н., врач ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница Минздрава Республики Татарстан», ассистент кафедры госпитальной педиатрии Казанского государственного медицинского университета;
- Садыкова Динара Ильгизаровна, д.м.н., заведующий кафедрой госпитальной педиатрии Казанского государственного медицинского университета;
- Макарова Тамара Петровна, д.м.н., профессор кафедры госпитальной педиатрии Казанского государственного медицинского университета;
- Камалова Аэлиа Асхатовна, д.м.н., профессор кафедры госпитальной педиатрии Казанского государственного медицинского университета;
- Мельникова Юлия Сергеевна, к.м.н., ассистент кафедры госпитальной педиатрии Казанского государственного медицинского университета;
- Сластникова Евгения Сергеевна, к.м.н., врач ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница Минздрава Республики Татарстан», ассистент кафедры госпитальной педиатрии Казанского государственного медицинского университета;
- Рахмаева Разиля Фоатовна, к.м.н., ассистент кафедры госпитальной педиатрии Казанского государственного медицинского университета;
- Петрова Мария Алексеевна, врач ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница Минздрава Республики Татарстан», аспирант кафедры госпитальной педиатрии Казанского государственного медицинского университета;
- Мустафаева Альмира Анасовна, к.м.н., заместитель главного врача ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница Минздрава Республики Татарстан»;
- Семенова Гульнур Гарифулловна, заведующий поликлиникой «Азино», ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница Минздрава Республики Татарстан».
- Author information:**
- Liliya F. Galimova, PhD, doctor of ultrasound diagnostics, Children's Republican Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, assistant of the Department of Hospital Pediatrics, Kazan State Medical University;
- Dinara I. Sadykova, MD, head of Department of Hospital Pediatrics, Kazan State Medical University;
- Tamara P. Makarova, MD, Professor of the Department of Hospital Pediatrics, Kazan State Medical University;
- Aelita A. Kamalova, MD, professor of the Department of Hospital Pediatrics, Kazan State Medical University;

Yulia S. Melnikova, PhD, assistant of the Department of Hospital Pediatrics, Kazan State Medical University;

Evgenia S. Slastnikova, PhD, assistant of the Department of Hospital Pediatrics, Kazan State Medical University;

Razilya F. Rakhmaeva, PhD, assistant of the Department of Hospital Pediatrics, Kazan State Medical University;

Maria A. Petrova, doctor, Children's Republican Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, postgraduate student, Department of Hospital Pediatrics, Kazan State Medical University;

Almira A. Mustafayeva, MD, deputy chief physician, Children's Republican Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan;

Gulnur G. Semenova, head of the Azino Polyclinic, Children's Republican Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ОБЗОР АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P450 ЧЕЛОВЕКА И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ. ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ ДОКЛИНИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ *IN VIVO*

Мирошников М. В., Султанова К. Т., Макарова М. Н.,
Макаров В. Г.

Акционерное общество «Научно-производственное объединение
«ДОМ ФАРМАЦИИ»», поселок городского типа Кузьмоловский,
Ленинградская область, Россия

Контактная информация:

Мирошников Михаил Владимирович,
АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,
ул. Заводская, 3, пгт Кузьмоловский,
Всеволожский район, Ленинградская
обл., Россия, 188663.
E-mail: miroshnikov.mv@doclinika.ru

Статья поступила в редакцию
06.10.2022 и принята к печати
01.11.2022.

Резюме

Ферменты цитохрома P450 играют ключевую роль в биотрансформации лекарственных средств. На экспрессию и активность каждого CYP450 влияет уникальное сочетание биохимических факторов, видовые и генетические особенности, возраст, пол, питание и воздействие окружающей среды.

Цитохромы P450 представляют собой семейство гемсодержащих белков, участвующих в метаболизме ксенобиотиков, лекарственных средств и эндогенных соединений. После совместного применения некоторые препараты выступают в качестве индукторов ферментов цитохрома P450, тогда как другие являются ингибиторами. Понимание механизмов ингибирования или индукции ферментов чрезвычайно важно в рамках доклинических исследований, а также при назначении комплексной терапии в клинической практике. У людей и у лабораторных животных существует значительная вариабельность активности этих ферментов. Одной из основных задач при разработке терапевтических средств является определение того, какие виды животных лучше всего соответствуют способностям человека к метаболизму определенных лекарств. Таким образом, изучение CYP и их взаимодействия с лекарственными средствами сегодня является актуальной проблемой доклинических исследований. Для ее решения необходимы адекватные и максимально схожие экспериментальные доклинические модели для исследования фармакокинетических и фармакодинамических свойств перспективных химических веществ и их влияния на определенные ферменты цитохрома P450.

В данном обзоре проведено сравнение основных подсемейств и их ферментов системы цитохрома человека и лабораторных животных, участвующих в метаболизме лекарственных веществ. Рассмотрены проблемы выбора биологических моделей *in vivo* в доклинических исследованиях при изучении лекарственных веществ. Проведен анализ прогностической ценности моделей *in vivo* доклинических исследований с точки зрения системы цитохрома P450 человека и лабораторных животных.

Ключевые слова: выбор релевантного вида, доклинические исследования, ксенобиотики, лабораторные животные, метаболизм лекарств, модель *in vivo*, система цитохрома P450, ферменты, человек, CYP.

Для цитирования: Мирошников М.В., Султанова К.Т., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Сравнительный обзор активности ферментов системы цитохрома P450 человека и лабораторных животных. Прогностическая ценность доклинических моделей *in vivo*. Трансляционная медицина. 2022;9(5):44-77. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-44-77.

A COMPARATIVE REVIEW OF THE ACTIVITY OF ENZYMES OF THE CYTOCHROME P450 SYSTEM IN HUMANS AND LABORATORY ANIMALS. PROGNOSTIC VALUE OF PRECLINICAL MODELS *IN VIVO*

Mikhail V. Miroshnikov, Kira T. Sultanova, Marina N. Makarova, Valery G. Makarov

Research and manufacturing company "Home of Pharmacy", Kuzmolovskiy, Leningrad oblast, Russia

Corresponding author:

Mikhail V. Miroshnikov,
Research and manufacturing company
"Home of Pharmacy",
Zavodskaya str., 3, Kuzmolovskiy,
Vsevolozhskiy district, Leningrad oblast,
Russia, 188663.
E-mail: miroshnikov.mv@doclinika.ru

Received 06 October 2022; accepted
01 November 2022.

Abstract

Cytochrome P450 enzymes play a key role in drug biotransformation. The expression and activity of each CYP450 is influenced by a unique combination of biochemical factors, species and genetic differences, age, sex, nutrition and etc.

Cytochromes P450 are a family of heme-containing proteins involved in the metabolism of xenobiotics, drugs, and endogenous compounds. Drugs could act as inducers or inhibitors of cytochrome P450 enzymes. Understanding the mechanisms of inhibition or induction of enzymes is extremely important in preclinical studies and prescribing complex therapy. One of the main challenges in the development of therapeutic agents is to determine which animal species reflects the human ability to metabolize certain drugs. The study of CYPs and their interaction with drugs is an urgent problem in preclinical studies. Thus, an adequate and maximally similar experimental preclinical models are necessary to study the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of promising chemicals and their effect on certain cytochrome P450 enzymes.

This review compares the main subfamilies and their enzymes of the cytochrome system of humans and laboratory animals involved in drug metabolism. The problems of choosing biological models *in vivo* in preclinical studies in the study of medicinal substances are considered. The predictive value of *in vivo* models of preclinical studies was analyzed from the point of view of the cytochrome P450 system in humans and laboratory animals.

Key words: CYP, cytochrome P450 system, drug metabolism, enzymes, human, *in vivo* model, laboratory animals, preclinical studies, selection of the relevant species, xenobiotics.

For citation: Miroshnikov MV, Sultanova KT, Makarova MN, Makarov VG. A comparative review of the activity of enzymes of the cytochrome P450 system in humans and laboratory animals. Prognostic value of pre-clinical models *in vivo* *Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine*. 2022;9(5):44-77. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-44-77.

Введение

Цитохромы P450 представляют собой большое суперсемейство гемсодержащих ферментов, встречающихся в организмах животных, растений, грибов, простейших, бактерий и вирусов [1]. Такое название ферментам P450 было дано, поскольку

они связаны с мембранами внутри клетки (цитоплазматической и митохондриальной) и содержат гемовый пигмент (хром и фосфор), который поглощает свет с длиной волны 450 нм при воздействии монооксида углерода [2]. Ферменты цитохрома P450 ответственны за метаболизм многочисленных экзогенных и эндогенных сое-

динений, включая стероиды, полиненасыщенные жирные кислоты, лекарственные препараты [3]. Как гемопротеины, СYP часто катализируют различные виды окислительных реакций, такие как гидроксирование, сульфоксидирование, деметилирование и деалкилирование, дезаминирование, дегалогенирование, эпоксидирование и пероксидирование субстратов [4].

Ферменты системы цитохрома обозначаются буквами СYP и арабской цифрой, обозначающей семейство (например, СYP1, СYP2, СYP3). Затем следует буква, обозначающая подсемейство (например, СYP1A), и еще одна арабская цифра, обозначающая индивидуальный ген/изофермент/изоформу (например, СYP1A1) [5].

Из 57 изоформ СYP, описанных у человека, большинство экспрессируется в печени: СYP1A1 — до 1 % от общего количества цитохромов печени, 1A2 — до 16 %, 2A6 — до 14 %, 2B6 — до 5 %, 2C8 — до 7,5 %, 2C9 — до 29 %, 2C19 — до 4 %, 2D6 — до 4 %, 2E1 — до 16 %, 2J2 — до 1 %, 3A4 — до 37 %, а 3A5 — до 1 % [6]. В легких экспрессируются — СYP1A1, 1B1, 2A6, 2B6, 2E1, 2F1, 2J2, 2S1, 3A5 и 4B1 [7]. Также некоторые СYP экспрессируются в почках, головном мозге, тонком кишечнике, периферических клетках крови, тромбоцитах, нейтрофилах. Также СYP присутствуют во внутренних мембранах митохондрий стероидогенных тканей, таких как кора надпочечников, семенники, яичники, молочная железа и плацента [8].

Роль таких ферментов, как СYP1A1, СYP1A2, СYP2A6, СYP2B6, СYP2C8, СYP2C9, СYP2D6, СYP2E1, СYP3A4 и СYP3A5, в метаболизме лекарств заслуживает особого внимания, поскольку эти ферменты метаболизируют более 90 % всех представленных на рынке лекарств. Более 50 % всех известных препаратов метаболизируются у человека одним или несколькими СYP, более трети посредством СYP3A4, ~ 30 % — СYP2D6, ~ 20 % — СYP2C8/9, ~ 5 % — СYP1A2 и ~ 20 % — СYP2B6 [1, 2, 3, 7].

Общая активность СYP, как правило, на 50 % выше у взрослых, чем у новорожденных. При этом у детей от 6 месяцев до 12 лет активность определенных ферментов может быть даже выше, чем у взрослых. А общее содержание СYP в печени приближается к взрослому уровню в первые 10 лет жизни. Считается, что это связано с развитием систем организма и значительно более высокой скоростью метаболизма по сравнению с взрослыми. Однако существуют и исключения, так, СYP3A7, отвечающий за 85 % от общей активности СYP в печени плода человека, быстро снижается до очень низкого уровня у взрослых. И наоборот,

СYP3A4, который отсутствует в печени плода человека, становится основным изоферментом СYP вскоре после рождения и остается таковым на протяжении всей жизни [9, 10].

Детальное понимание того, как ксенобиотики и лекарственные вещества воздействуют на организм посредством системы цитохрома P450, необходимо в таких областях, как токсикология, экспериментальная и клиническая фармакология [11–18].

Определяющим фактором в доклинических исследованиях, при разработке безопасных и высокоэффективных лекарственных средств является подбор релевантного вида животных [19]. В случае правильного и обоснованного выбора данные могут быть корректно экстраполированы на людей с достаточной точностью. Экстраполяция является одним из основных критериев оценки достоверности научных исследований. Результаты, полученные на животных в ходе доклинического этапа разработки лекарственного препарата, должны быть применимы и к клиническим условиям, сходимость имеет первостепенное значение [20].

В настоящее время известно о широкой межиндивидуальной вариабельности в активности цитохрома P450 у людей и животных [21], что обусловлено генетическим полиморфизмом, который приводит либо к отсутствию синтеза определенных белков, либо к вариации в уровне экспрессии генов цитохрома P450. При сравнении различных лабораторных видов животных показано, что каталитическая активность СYP2E1, СYP1A2, СYP2D и СYP3A довольно постоянна, но экстраполяция активностей СYP2A, 2B и 2C от животных к человеку часто значительно разнится между видами [22]. СYP животных во многих случаях имеют сходные последовательности ДНК — до 80 % и более гомологии последовательности с соответствующим геном СYP человека, вероятно, являясь ортологами — гомологичными генами филогенетически родственных организмов, разошедшихся в процессе видообразования [23]. Однако, несмотря на это сходство, ортологи проявляют различия в сродстве к субстрату, ингибировании, величине экспрессии и/или кинетике ферментов, что, вероятно, и опосредует межвидовую вариацию фармакокинетики и фармакодинамики лекарств у лабораторных животных и человека [14]. Как функционально важные ферменты, СYP хорошо изучены у людей, мышей и крыс, но данные по другим видам ограничены.

Целью обзора является сравнение имеющихся данных о ферментах СYP450 человека с таковыми у лабораторных животных, а также обозначение

их различий и сходств. Данная информация необходима для понимания прогностической ценности моделей *in vivo* в доклинических исследованиях и выбора релевантной тест-системы. Значительная часть статьи в основном посвящена цитохромам печени лабораторных животных и человека, принимающим участие в метаболизме большинства лекарственных средств.

Ниже представлены наиболее значимые ферменты системы цитохрома P450 человека и лабораторных животных, участвующие в метаболизме лекарственных веществ.

Человек

Цитохром P450 1A

CYP1A1 в основном распределен во внепеченочных тканях [24] и участвует в биохимической трансформации таких препаратов, как ацетаминофен, кофеин, пропранолол и теофиллин [25].

В печени человека на долю CYP1A2 приходится в среднем 16 % от общего CYP [26]. Фермент вовлечен в метаболизм около 5 % лекарств, представленных на рынке. CYP1A2 — печеночный фермент, который вовлечен в биотрансформацию таких препаратов, как кофеин, клозапин, такрин, теофиллин, пропранолол и ацетаминофен. Печеночный CYP1A2 значительно индуцируется омепразолом, курением, полиаамидами и жареным мясом. Экспрессируется на гораздо более высоком уровне в опухолевых клетках по сравнению с окружающими клетками [27].

Цитохром P450 2A

CYP2A6 в основном экспрессируется в печени человека, на его долю приходится около 14 % от общего количества печеночных CYP. Другие изоформы подсемейства P450 — 2A7 и 2A13, по-видимому, экспрессируются на еще более низких уровнях. CYP2A6 представляет собой кумарин-7-гидроксилазу, которая гидроксилирует такие лекарственные препараты, как тегафур, эфавиренз, пилокарпин и циклофосфамид, а также кумарин, никотин и нитрозамины. Ген, кодирующий CYP2A6, вариабелен, что может приводить к широкому спектру эффектов на одни и те же препараты у разных пациентов [28–30].

Цитохром P450 2B

У человека семейство CYP2B включает CYP2B6 и 2B7. CYP2B6 экспрессируется в печени и в некоторых внепеченочных тканях, экспрессия CYP2B7 была обнаружена в легочной ткани. CYP2B6 участвует в метаболизме почти 20 % лекарств, представленных сегодня на рынке — циклофосфамид,

тамоксифен, кетамин, пропофол, эфавиренз, невирапин, бупропион, а также проканцерогенов — афлатоксин B1, дибензантрацен и др. Среднее относительное содержание CYP2B6 в печени человека находится в диапазоне от 2 до 10 % от общего содержания CYP. В настоящее время описано как минимум 38 вариантов CYP2B6 [30, 31].

Цитохром P450 2C

У человека семейство CYP2C участвует в метаболизме около 20 % лекарств, представленных на рынке в настоящее время. CYP2C8 и 2C9 являются основными формами, на долю которых приходится от 35 % до 60 % от общего количества CYP2C человека, в то время как CYP2C18 и 2C19 являются незначительно выраженными изоформами — 4 % и 1 % соответственно. CYP2C8 метаболизирует значительное количество лекарственных препаратов — хлорохин, церивастатин, торасемид, монтелукаст, ацетилсалициловая кислота, диклофенак и др. CYP2C9 метаболизирует такие лекарственные препараты, как метронидазол, амитриптилин, флуоксетин, лозартан и др. Существует полиморфизм гена, который кодирует этот фермент, что приводит к ухудшению метаболического статуса. К примеру, этих пациентов может быть трудно стабилизировать на стандартных режимах варфарина. CYP2C18 способен метаболизировать толбутамид, фенитоин и верапамил. CYP2C19 метаболизирует фенитоин, омепразол, вориконазол, диазепам, пропранолол и амитриптилин. Существует ряд аномальных вариантов этого фермента, один из которых имеет важные клинические последствия. Было продемонстрировано, что люди с медленным метаболизмом, которым назначают ингибитор протонной помпы омепразол, показывают лучшую терапию по сравнению с пациентами с быстрым метаболизмом [29, 30, 32].

Цитохром P450 2D

Изоформы CYP2D участвуют в метаболизме различных лекарственных средств, включая дезипрамин, пропранолол, спартеин, декстрометорфан и метадон. У человека только одна изоформа CYP2D6 экспрессируется в различных тканях, таких как печень, почки, плацента, мозг, молочные железы, легкие и тонкий кишечник. В семействе CYP2D наблюдается генетический полиморфизм, приводящий к вариации функциональной активности в метаболизме лекарств у человека. На сегодняшний день каталогизировано более 70 форм CYP2D6. Хотя CYP2D6 экспрессируется в печени человека на низком уровне, составляя около 4 % от общего количества CYP, этот фермент участвует

в биотрансформации 30 % лекарств, представленных на рынке в настоящее время [11, 30, 33].

Цитохром P450 2E

Семейство CYP2E содержит только один фермент — CYP2E1, который отвечает за метаболизм небольших органических соединений, таких как этиловый спирт и четыреххлористый углерод, а также анестетиков галотана, энфлурана, трихлорэтилена, хлороформа, изофлурана и метоксифлурана, таких лекарственных препаратов как ацетаминофен, кофеин и хлорзоксазон, причем последний считается маркером активности CYP2E1. У человека на долю CYP2E1 приходится около 16 % от общего количества CYP в печени, и он участвует в метаболизме 2 % лекарств, представленных на рынке в настоящее время [11, 29, 30, 34].

Цитохром P450 3A

Подсемейство CYP3A является наиболее важным из всех человеческих ферментов, метаболизирующих лекарства, поскольку это подсемейство участвует в биотрансформации около 50 % терапевтических препаратов, имеющихся в настоящее

время на рынке, хотя его содержание в печени составляет только 30 % от общего количества P450. Помимо лекарственных препаратов, CYP3A участвует в окислении различных эндогенных субстратов, таких как стероиды, желчные кислоты и ретиноевая кислота. У человека экспрессируются четыре фермента CYP3A — CYP3A4, 3A5, 3A7 и 3A43. CYP3A4 и родственный ему 3A5 являются наиболее распространенными изоформами CYP в печени человека и участвуют в биотрансформации большинства лекарств. CYP3A4 и 3A5 экспрессируются в печени, желудке, легких, тонком кишечнике и почечной ткани. CYP3A4 и 3A5 имеют общую субстратную специфичность, поэтому часто бывает трудно определить их относительный вклад в общий метаболизм субстрата. CYP3A43 имеет очень низкую экспрессию в печени [11, 29, 30, 35].

На рисунке 1 схематично показаны подсемейства системы цитохрома P450, участвующие в биотрансформации большинства лекарственных препаратов в печени у человека. Стоит отметить, что это приблизительное участие каждого рассматриваемого CYP. Общее количество не равно 100 % ввиду того факта, что не всегда одно и то же ле-

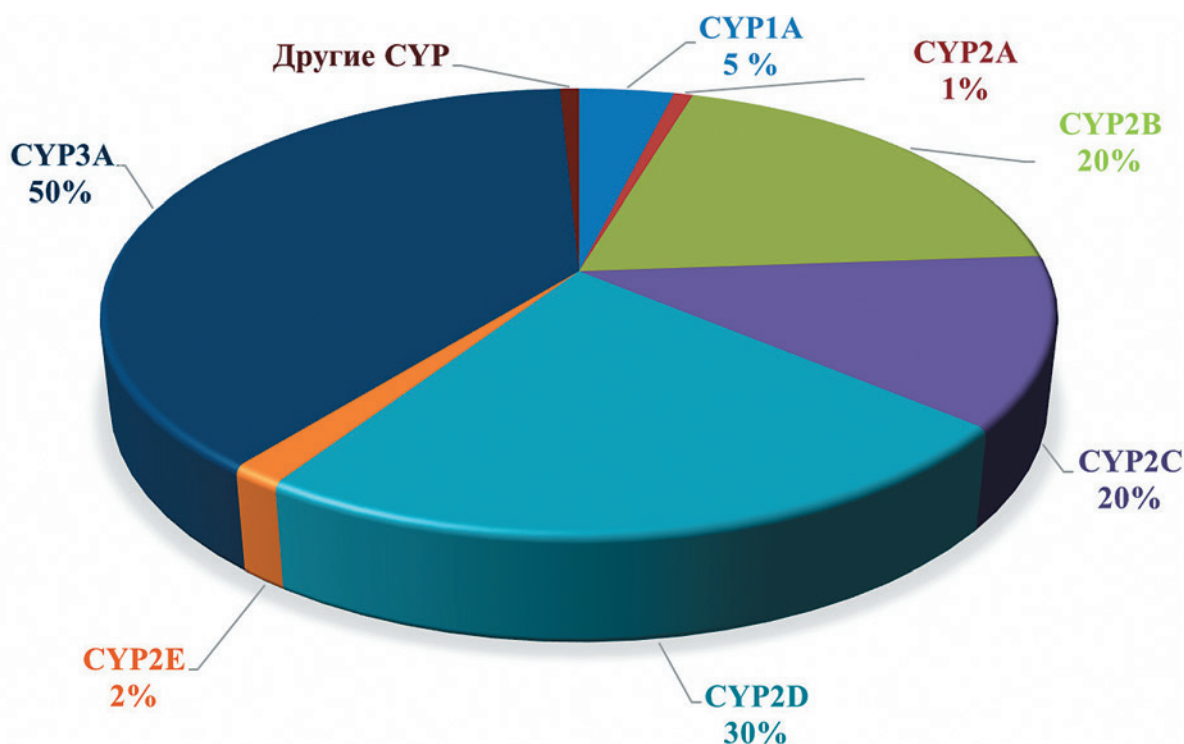


Рис. 1. Подсемейства системы цитохрома P450, участвующие в биотрансформации лекарственных препаратов в печени у человека

Figure 1. Subfamilies of the cytochrome P450 system involved in drug biotransformation in the human liver

карственное средство подвергается биотрансформации посредством только одного фермента системы цитохрома P450, например, таковыми являются кофеин и ацетаминофен. Отмечены и другие подсемейства системы цитохрома P450, чей вклад в метаболизм лекарственных средств также был описан, но он не столь значим в отличие от упомянутых CYP. Примерами других подсемейств являются CYP2J, принимающий участие в метаболизме эбастина, терфенадина, тиоридазина и даназола, а также CYP4F, участвующий в биотрансформации эритромицина, этилморфина и эбастина.

Мыши

Цитохром P450 1A

Подсемейство CYP1A мышей, как и у человека, состоит из двух членов — CYP1A1 и -1A2, демонстрируя значительное сходство с человеческим подсемейством CYP1A — 85 % и 80 % соответственно. CYP1A1 экспрессируется на низком уровне в печени мышей и является по существу внепеченочным ферментом, который присутствует преимущественно в тонком кишечнике, легких, плаценте и почках. CYP1A2 экспрессируется в основном в печени и не экспрессируется или слабо экспрессируется во внепеченочных тканях у мышей. Обе изоформы индуцибельны не только воздействием пищи или сигаретного дыма, но и воздействием определенных лекарственных препаратов, и профили их индукции весьма схожи между видами. Но также присутствуют и различия. К примерам видовой изменчивости CYP1A можно отнести тот факт, что у человека, в отличие от мышей, омепразол индуцирует CYP1A2. Также известно, что фурафиллин ингибирует активность CYP1A2 у мышей в меньшей степени по сравнению с человеком [14, 36, 37].

Цитохром P450 2A

Последовательности, кодирующие подсемейства CYP2A, 2B, 2C и 2D, присутствуют в геномах как мышей, так и человека. Но в целом CYP этих двух видов демонстрируют значительные различия в экспрессии и каталитической активности. Семейство CYP2 мышей в настоящее время является одним из самых больших с точки зрения количества различных идентифицированных генов CYP. Подсемейство CYP2A мышей содержит 4 члена. Подсемейство CYP2A у мышей включает в себя CYP2A4, 2A5, 2A12 и 2A22. У людей и грызунов CYP2A экспрессируются в печени и внепеченочных тканях, а субстратная специфичность человеческого CYP2A6 значительно отличается от ферментов CYP2A мышей. CYP2A4 конститутивно

экспрессируется в печени, почках, легких и слизистой оболочке носа [8, 16, 38].

Цитохром P450 2B

Подсемейство CYP2B мышей включает 6 членов. CYP2B9 и CYP2B10 являются основными изоферментами CYP2B у мышей, экспрессируясь преимущественно в печени и почках. Рассматриваемое семейство у мышей отличается половым диморфизмом — у самок выше экспрессия CYP2B9, чем у самцов, а экспрессия CYP2B10 одинакова у обоих полов. Фенобарбитал является мощным индуктором CYP2B у мышей и у многих видов животных, в отличие от человека. CYP2B13 демонстрирует преимущественную экспрессию в печени. CYP2B19 обнаружены в тонком кишечнике, кератиноцитах кожи, волосяных фолликулах и сальных железах. CYP2B20 обнаружен в тонком кишечнике. Аналогично CYP2A, CYP2B также в значительной степени отличается по активности от человеческих ортологов [8, 14, 38].

Цитохром P450 2C

Подсемейство CYP2C мышей является более крупным и сложным, чем его аналог у людей, и к настоящему времени обнаружено более 10 членов, не все из которых достаточно охарактеризованы на предмет экспрессии и функции [39]. CYP2C29 является основным членом CYP2C, обнаруженным в легких, яичках и яичниках, печени, сердце, почках, головном мозге, тонкой кишке, толстой кишке, селезенке, скелетных мышцах, надпочечниках, аорте и семенных пузырьках. Он экспрессируется на более высоком количественном уровне в печени самок, чем у самцов. CYP2C37 в большей степени специфичен для печени самцов. CYP2C38 обнаружен в печени, тонком кишечнике, почках, головном мозге, легких, придатке яичка и сердце. CYP2C39 в высокой степени экспрессируется в печени. CYP2C40 в большей степени экспрессируется в печени самок, чем у самцов. CYP2C40 является основным членом CYP2C и экспрессируется в толстой кишке, почках, коже, печени, головном мозге, сердце, тонкой кишке, глазах, легких, аорте и яичниках. CYP2C44 представлен в печени и надпочечниках. CYP2C50 в больших количествах встречается в печени и сердце, а CYP2C51 в основном локализован в аорте. CYP2C54 обнаружен в печени, почках и желудке. CYP2C55 обнаружен в печени, тонком кишечнике, почках, легких, головном мозге, сердце и яичках. Субстратная специфичность всего подсемейства в значительной степени отличается между изоформами человека и животных [16, 38], что, вероятно, свидетельствует о низкой экстраполяционной значимости полученных данных для исследова-

двух объектов, метаболизм которых в основном связан с CYP2C.

Цитохром P450 2D

Существует по крайней мере девять генов, кодирующих CYP2D у мышей — CYP2D9, 2D10, 2D11, 2D12, 2D13, 2D22, 2D26, 2D34 и 2D40, но некоторые из изоферментов не были охарактеризованы на предмет экспрессии и функции [40]. CYP2D10 экспрессируется на равных уровнях в печени самцов и самок мышей, а также обнаруживается в почках. CYP2D11 был обнаружен в печени. CYP2D26 обнаружен в печени, почках и яичках мышей. CYP2D22 является функциональным ортологом CYP2D6 человека, был обнаружен в большом количестве в печени, но полиморфизм CYP2D22 имеет строго ограниченный сравнительный анализ для человека. Примером может служить хинидин, который ингибирует CYP2D у людей, собак и обезьян, но не у крыс и мышей [14, 16].

Цитохром P450 2E

CYP2E1 мышей экспрессируется в печени, почках, легких, сердце, головном мозге, тонком кишечнике, коже, яичках и яичниках. Демонстрирует выраженную консервацию идентичности с человеческим CYP2E1 — около 80 %. Как и у человека, многие субстраты, такие как органические растворители, нитрозамины, и такие лекарства, как парацетамол, метаболизируются CYP2E1 мышей. Поэтому мыши могут быть подходящей моделью для изучения CYP2E1-зависимого метаболизма у человека [8, 14, 38].

Цитохром P450 3A

Подсемейство CYP3A мышей включает как минимум 8 членов [41]. CYP3A11 экспрессируется на высоких уровнях в печени, обнаружен в нейронах гиппокампа, обонятельных луковиц, мозжечке и других отделов мозга, скелетных мышцах, селезенке, легких, тонком кишечнике, желудке, сердце, почках, семенниках и яичниках. CYP3A13 обнаружен в печени, легких, головном мозге, тонком кишечнике, желудке, толстой кишке и почках. CYP3A11 и 3A13 демонстрируют максимальный уровень экспрессии в возрасте 4–8 недель, но уровни CYP3A13, обнаруженные в печени, были значительно (от 5 до 10 раз) ниже по сравнению с CYP3A11. Из изоформ CYP3A мышей, CYP3A11 схожа на 76 % с CYP3A4 человека. Кроме того, CYP3A11 так же, как и у человека CYP3A4, экспрессируется в тонком кишечнике. CYP3A16 был обнаружен в небольших количествах в печени, почках и тонком кишечнике. Экспрессия CYP3A16

более выражена в печени плода, чем в печени взрослого животного. CYP3A25 экспрессируется главным образом в печени, а его транскрипты обнаружены в почках, тонком и толстом кишечнике, головном мозге, легких и сердце. CYP3A41 в высокой степени экспрессируется в печени и демонстрирует специфичность для самок. CYP3A41 также был обнаружен в почках, желудке, тонком кишечнике, головном мозге, сердце, яичниках и семенниках. CYP3A44 найден в большом количестве в печени, также экспрессируется в энтероцитах тонкой кишки. Показано, что такие соединения, как афлатоксин В1 и этилморфин, метаболизируются изоформами CYP3A мышей аналогичным для человека образом. Кетоконазол является мощным и хорошо изученным ингибитором CYP3A у человека и животных и часто используется в исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Однако изоформы CYP3A мышей проявляют отличную от человека субстратную специфичность, что делает экстраполяцию с животных на человека весьма сомнительной [42–44].

На рисунке 2 представлено сравнение вовлеченности подсемейств системы цитохрома P450 печени в метаболизм лекарственных веществ мыши и человека. Очевидно, что такие подсемейства, как CYP2A, CYP2B, CYP2C и CYP2D, в организме мышей функционируют не аналогично таковым у человека. Следовательно, фармакокинетические и фармакодинамические особенности исследуемых лекарственных веществ, чей метаболизм в основном связан с семейством CYP2 (кроме CYP2E) в организме человека, будут в значительной степени отличаться между двумя сравниваемыми видами. Иными словами, исследования на мышах таких лекарственных субстанций будут иметь низкую прогностическую ценность и низкую экстраполяцию на человека. С другой стороны, фармакокинетические и фармакодинамические особенности исследуемых лекарственных веществ, чей метаболизм в основном связан с семействами CYP1 и CYP3, с большей долей вероятности будут схожи у сравниваемых видов. Соответственно, прогностическая ценность и экстраполяция будут выше.

Крысы

Общее содержание CYP в печени у крыс примерно в два раза выше, чем у людей [45].

Цитохром P450 1A

Подсемейство CYP1A очень схоже с аналогичным у мышей, состоит из двух членов — CYP1A1 и 1A2 [46]. CYP1A также демонстрирует высокую идентичность человеческим ортологам — более

80 % [47]. CYP1A1 экспрессируется на низком уровне в печени крысы, является, в целом, внепеченочным ферментом, который присутствует преимущественно в тонком кишечнике, легких, плаценте и почках. CYP1A2, как и у человека, экспрессируется в основном в печени. Фурафиллин, как и у людей, считается селективным, неконкурентным ингибитором CYP1A2, в то время как α -нафтофлавон является ингибитором CYP1A1 и 1A2. Однако фурафиллин ингибирует CYP1A2 у крыс только в 1000 раз более высокой концентрации, чем требуется для ингибирования человеческого изофермента, что указывает на существенное различие в конформации активного сайта между ортологами CYP1A2 человека и крыс [47–49]. Было показано, что активность О-деэтилирования фенаcetина крыс, катализируемая CYP1A2 в микросомах печени, сопоставима с активностью у человека [45].

Цитохром P450 2A

CYP2A1 превалирует у самок крыс, а 2A2 — у самцов, они экспрессируются в печени. CYP2A3 экспрессируется в пищеводе, легких и носовом эпителии, но не в тонком кишечнике, печени или

почках. CYP2A1/2 крыс демонстрируют около 60 % гомологии по аминокислотной последовательности с CYP2A6 человека. В отличие от человека, эндогенные стероиды крыс являются субстратами CYP2A. CYP2A1 катализирует 7 α -гидроксилирование тестостерона (у человека задействован CYP3A), в то время как CYP2A2 отвечает за 15 α - и 7 α -гидроксилирование тестостерона [4, 50]. Субстратная специфичность CYP2A6 человека значительно отличается от ферментов CYP2A крыс. Описаны видовые различия в активности 7-гидроксилирования кумаринов, катализируемой ферментами CYP2A в микросомах печени. Показано, что активность у человека в 20 раз выше, чем у крыс [45], что может служить доказательством различной функциональной активности ферментов двух видов.

Цитохром P450 2B

Крысы экспрессируют как минимум три изофермента CYP2B — CYP2B1, 2B2 и 2B3. CYP2B1 и 2B2 являются структурно родственными изоферментами (около 95 % идентичности) с очень схожей субстратной специфичностью между собой.

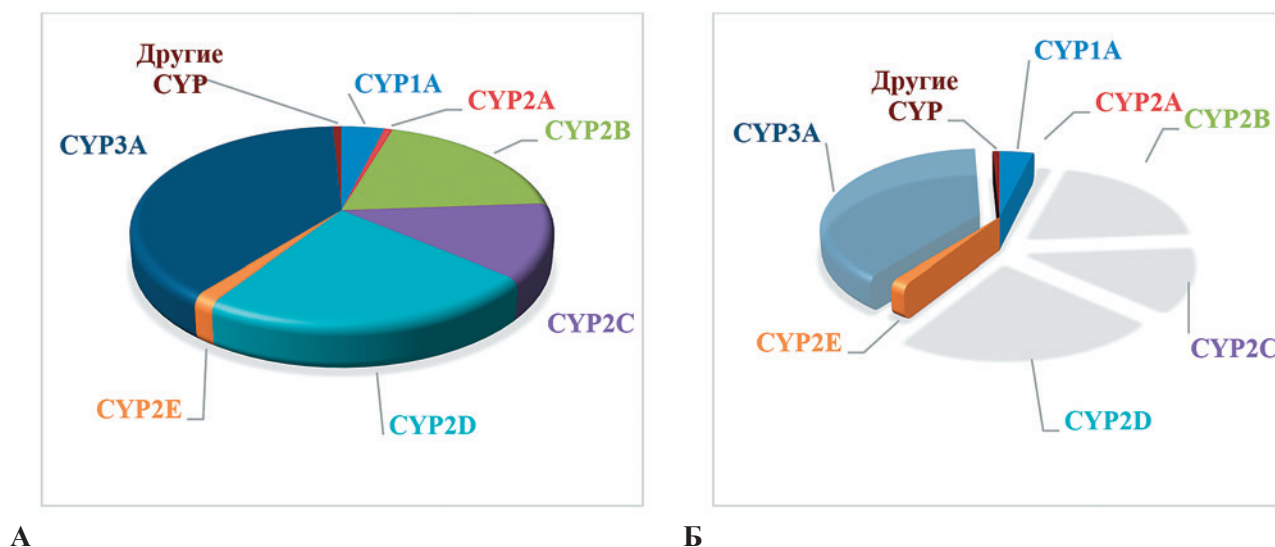


Рис. 2. Вовлеченность подсемейств системы цитохрома P450 в биотрансформацию большинства лекарственных веществ в печени человека (А) и мышей (Б)

Примечание: цветом выделены подсемейства CYP, проявляющие схожую функциональную активность в отношении лекарственных средств. Прозрачные доли диаграммы соответствуют подсемействам CYP, проявляющим определенные видовые различия в метаболизме лекарственных средств. Серым цветом выделены подсемейства CYP, чья функциональная активность имеет значительные отличия между рассматриваемыми видами.

Figure 2. Involvement of subfamilies of the cytochrome P450 system in the biotransformation of most drugs in the liver of humans (A) and mice (B)

Note: CYP subfamilies showing similar drug functional activity are highlighted in color. The transparent parts of the diagram correspond to CYP subfamilies that exhibit certain species differences in drug metabolism. Gray color indicates CYP subfamilies, whose functional activity has significant differences between the considered species.

Однако CYP2B1, как правило, гораздо более каталитически активен, чем CYP2B2. Оба экспрессируются в печени и внепеченочных тканях, таких как тонкий кишечник и легкие. В печени самцов крыс экспрессируется более высокий уровень CYP2B, чем у самок. Диморфизм может быть объяснен зависящей от пола секрецией гипофизарного гормона роста, который подавляет экспрессию CYP2B в большей степени у самок крыс, чем у самцов [51]. 2-изопропенил-2-метиладамантан и 3-изопропенил-3-метилдиамантан, являющиеся одними из самых мощных человеческих CYP2B6-селективных ингибиторов, обнаруженных на сегодняшний день, также ингибируют CYP2B2 у крыс, что свидетельствует о сходстве рассматриваемых цитохромов между человеком и крысами [14]. Также было показано, что активность О-деалкилирования пентоксифиллина, катализируемая CYP2B в микросомах печени, у человека примерно в 10 раз ниже, чем у крыс [45].

Цитохром P450 2C

У крыс подсемейство CYP2C включает несколько изоформ, таких как CYP2C6, 2C7, 2C11, 2C12, 2C13, 2C22 и 2C23. Наиболее распространены в печени крыс и участвуют в окислении дигидропиридинов и афлатоксина В1, а также в гидроксилировании стероидов [52]. Существуют зависящие от пола различия в экспрессии семейства CYP2C у крыс, которые регулируются развитием и проявляются у взрослых животных. CYP2C12 более высоко экспрессируется в печени самок взрослых крыс, чем у самцов, но эти различия отсутствуют у неполовозрелых и старых животных [53]. Изоформа CYP2C7, которая катализирует 4-гидроксилирование ретиноевой кислоты и 5 α -восстановление стероидов, преобладает у самок. CYP2C11 является преобладающей изоформой в печени самцов крыс, составляя до 50 % от общего содержания CYP, и также экспрессируется во внепеченочных тканях, таких как почки и тонкий кишечник, на более низких уровнях. CYP2C13 также специфичен для самцов и экспрессируется не только в печени, но и во внепеченочных тканях, например, в мозге крыс [54]. В отличие от этого, CYP2C6 экспрессируется независимо от пола и обнаруживается в печени и тонком кишечнике. CYP2C23 высоко экспрессируется в почках крыс и, как предполагается, играет важную роль в компенсаторной вазодилатации почечной артерии в ответ на солевую нагрузку [55]. Зависимая от пола экспрессия семейства CYP2C у крыс регулируется секрецией гормона роста на уровне гипоталамо-гипофизар-

но-надпочечниковой оси. Такие препараты, как фенobarбитал, дексаметазон, а также другие чужеродные химические вещества, такие как этанол, подавляют экспрессию CYP2C11 в печени [56]. Существует информация, что субстратная специфичность CYP2C крыс в значительной степени отличается от изоформ человека [22]. Примером может служить активность р-гидроксилирования фенитоина и активность 4-гидроксилирования мепфенитоина, катализируемые в основном CYP2C9 и CYP2C19 в микросомах печени. Было показано, что у крыс данная активность в 2 раза выше, чем у человека [45].

Цитохром P450 2D

У крыс как минимум шесть изоформ CYP2D — CYP2D1, 2D2, 2D3, 2D4, 2D5 и 2D18 [33]. Изоформы CYP2D крысы и CYP2D6 человека имеют высокую идентичность последовательностей (> 70 %). Среди этих шести изоформ, CYP2D5 и 2D18 имеют более 95 % сходства с аминокислотной последовательностью CYP2D1 и 2D4 соответственно. Как и человеческий CYP2D6, эти шесть изоформ экспрессируются в различных тканях, таких как печень, почки и мозг. CYP2D2 и 2D3 в основном экспрессируются в печени, почках и тонком кишечнике. CYP2D4/18 экспрессируются в головном мозге, надпочечниках, яичниках и семенниках, печени, почках и тонком кишечнике. CYP2D4 также был идентифицирован в молочной железе крыс. Таким образом, специфическое тканевое распределение изоформ CYP2D крысы позволяет предположить, что каждая изоформа обладает разными каталитическими свойствами и играет специфическую роль в различных тканях. Среди шести изоформ, CYP2D1 крыс является ортологом CYP2D6 человека. У крыс профиль ингибирования хинидина, ритонавира и ингибиторов обратного захвата серотонина отличается от человеческого. Хинин обладает ингибирующим эффектом в отношении CYP2D у крыс, но не у человека [48, 57]. Активность гидроксилирования буфуралола, катализируемая CYP2D в микросомах печени, значительно выше у крыс, чем у человека [45].

Цитохром P450 2E

Идентичность CYP2E1 крысы с человеческим ортологом составляет примерно 80 % [58]. CYP2E1 экспрессируется в большом количестве в легких и печени. Активность CYP2E1 индуцируется этанолом и ацетоном как у грызунов, так и у людей. Как и у человека, многие субстраты, такие как ор-

ганические растворители, нитрозамины и такие лекарства, как парацетамол, также метаболизируются CYP2E1. Как и мыши, крысы могут быть подходящей моделью для изучения CYP2E1-зависимого метаболизма у человека [59]. Примером данного факта может быть активность р-гидроксилирования анилина, катализируемая CYP2E в микросомах печени, схожая у крыс и человека [45].

Цитохром P450 3A

У крыс известно большое количество изоформ CYP3A. Примерами являются CYP3A1, 3A2, 3A9, 3A18, 3A23 и 3A62 [60]. Эти формы CYP3A, по-видимому, экспрессируются у крыс в зависимости от пола. Например, CYP3A2 и 3A18 являются формами, специфичными для самцов, в то время как CYP3A9 является женской доминантной формой. Недавние исследования идентифицировали новый CYP3A62 крыс, и его профиль экспрессии похож на профиль экспрессии CYP3A4 человека и CYP3A9 крыс. CYP3A62 является преобладающей формой в кишечном тракте, в то время как CYP3A1 и 3A2 были обнаружены только в пече-

ни. Кроме того, CYP3A9 и 3A18 были обнаружены в печени и в тонком кишечнике. Крыса не является подходящей тест-системой при изучении индукции CYP3A4, потому что CYP3A1, основная форма CYP3A в печени крысы, отличается от формы человека [61]. Примером является отсутствие индукции рифампицином, типичным индуктором CYP3A у человека. Многие субстраты человеческих ферментов CYP3A, такие как дигидропиридин, нифедипин, не метаболизируются CYP3A1 у крыс [62]. Кетоконазол показывает ингибирование 4'-гидроксилазной активности диклофенака у крыс, что не обнаруживается у человека [63]. N-деметилирование бензфетамина и этилморфина у крыс, катализируемое CYP3A в микросомах печени, происходит в 5 раз активнее у крыс, чем у человека, а N-деметилирование эритромицина осуществляется в 3 раза активнее у крыс, чем у человека [45]. Эти различия в индукции между видами объясняются различиями в лиганд-связывающем домене, что означает, что их лигандная специфичность может значительно отличаться у человека и крыс. Поэтому экстраполяция данных, полученных от животных, на индуцируе-

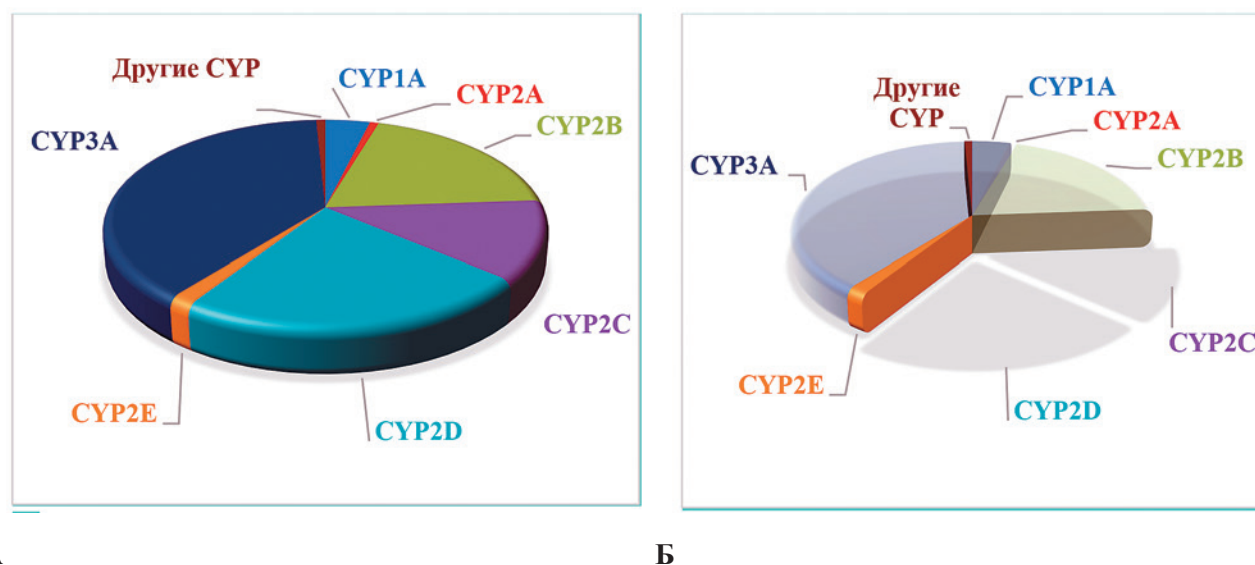


Рис. 3. Вовлеченность подсемейств системы цитохрома P450 в биотрансформацию большинства лекарственных веществ в печени человека (А) и крыс (Б)

Примечание: цветом выделены подсемейства CYP, проявляющие схожую функциональную активность в отношении лекарственных средств. Прозрачные доли диаграммы соответствуют подсемействам CYP, проявляющим определенные видовые различия в метаболизме лекарственных средств. Серым цветом выделены подсемейства CYP, чья функциональная активность имеет значительные отличия между рассматриваемыми видами.

Figure 3. Involvement of subfamilies of the cytochrome P450 system in the biotransformation of most drugs in the liver of humans (A) and rats (B)

Note: CYP subfamilies showing similar functional activity in relation to drugs are highlighted in color. The transparent parts of the diagram correspond to CYP subfamilies that exhibit certain species differences in drug metabolism. Gray color indicates CYP subfamilies, whose functional activity has significant differences between the considered species.

мость подсемейства CYP3A у человека может быть проблематичной.

На рисунке 3 представлено сравнение вовлеченности подсемейств системы цитохрома P450 печени в метаболизм лекарственных веществ крыс и человека. Как и у мышей, наибольшее расхождение в функциональной активности замечено во втором семействе системы P450, а именно CYP2C и CYP2D. Соответственно, фармакокинетические и фармакодинамические особенности исследуемых лекарственных веществ, чей метаболизм в основном связан с CYP2C и CYP2D (в организме человека), будет в значительной степени отличаться между двумя сравниваемыми видами, и прогностическая ценность опять же будет низкой. Что касается семейств CYP1 и CYP3, а также подсемейств CYP2A, CYP2B и CYP2E — их функциональная активность имеет более схожие черты с аналогами у человека. Соответственно можно предположить о наличии определенной прогностической ценности и экстраполяции на человека данных, полученных при изучении лекарственных веществ, чей метаболизм в основном связан с ферментами данных семейств и подсемейств.

Морская свинка

Общее содержание CYP в печени у морских свинок примерно в четыре раза выше, чем у людей [45].

Цитохром P450 1A

Аминокислотная последовательность CYP1A2 морских свинок идентична на 70–80 % последовательностям других CYP1A2 млекопитающих [64]. Метокси-4-нитроанилин (2-МеО-4-НА), индуцирующий ферменты цитохрома P4501A, особенно CYP1A2, между крысами и другими грызунами, мышами и морскими свинками, обладает способностью индуцировать ферменты подсемейства CYP1A у крыс, но не у таких грызунов, как мыши и морские свинки. Предполагается, что 2-МеО-4-НА-опосредованная индукция у других грызунов происходит через иной путь, что подтверждает наличие видовых различий в функциональной активности CYP1A [65]. Также было описано, что активность О-деэтилирования фенацетина, катализируемая CYP1A в микросомах печени, у морской свинки в 4 раза выше, чем у человека. Карбендазим, пестицид широкого спектра действия, часто обнаруживаемый во фруктах и овощах, может вызывать потенциальные токсические риски для млекопитающих. CYP1A играет доминирующую роль в гидроксилировании карбендазима, что может ослабить его токсичность

путем превращения в менее токсичный метаболит. Метаболизм карбендазима посредством CYP1A у морских свинок осуществляется активнее, чем у человека. Возможно, это связано с тем фактом, что у морских свинок обнаружена гораздо более высокая экспрессия CYP1A, чем у человека, а также крыс и мышей [66].

Цитохром P450 2A

Метаболизм кумарина за 2 часа до 7-гидроксикумарина у крыс, мышей, морских свинок, яванских макаков и человека составлял 2 %, 21 %, 35 %, 91 % и 74 % соответственно [67, 68]. Это указывает на то, что метаболизм кумарина посредством CYP2A морских свинок осуществлялся быстрее, чем у человека. Но существуют и другие данные, в которых сообщается о том, что изоферменты цитохрома P450 2A человека и морских свинок проявляют схожую активность [45].

Цитохром P450 2B

Активность о-деалкилирования пентоксифиллина, катализируемая CYP2B в микросомах печени у человека примерно в 20 раз ниже, чем у морских свинок [45].

Цитохром P450 2C

Активность р-гидроксилирования фенитоина, катализируемая CYP2C9 в печени, у морских свинок сопоставима с человеческой. А активность 4-гидроксилирования мефенитоина, катализируемая CYP2C19 в 4 раза ниже, чем у человека [45].

Цитохром P450 2D

Было показано, что активность гидроксилирования буфуралола, катализируемая CYP2D, схожа у морских свинок и человека [45].

Цитохром P450 2E

Активность р-гидроксилирования анилина, опосредованная CYP2E, сопоставима у человека и морских свинок [45].

Цитохром P450 3A

Активность п-деметиляции бензфетамин, этилморфина и эритромицина посредством CYP3A у морских свинок осуществляется в 2 раза активнее, чем у человека, а окисление нифедипина у морских свинок более чем в 4 раза активнее, чем у человека [45].

Сравнение вовлеченности подсемейств системы цитохрома P450 в биотрансформацию лекарственных веществ в печени морской свинки и человека представлено на рисунке 4. Отмечено высокое

сходство CYP2A, CYP2D и CYP2E между рассматриваемыми видами, и, соответственно, прогностическая ценность изучения веществ, чей метаболизм связан с данными подсемействами, будет высокой. Но наличие расхождений в активности ферментов подсемейств CYP3A, CYP2B, CYP2C морских свинок и человека указывает на то, что необходимо с осторожностью подходить к экстраполяции полученных данных на человека. Тем более, что ферменты CYP3A, CYP2B, CYP2C у человека участвуют в метаболизме значительного количества препаратов.

Кролики

Цитохром P450 1A

По одним данным CYP1A2 кроликов соответствует по своей активности ортологу человека [61], по другим — уступает в несколько раз [16]. Сообщается о том, что CYP1A2 человека и его ортологов у лабораторных животных соотносятся в порядке снижения структурного и функционального сходства таким образом: яванская макака > мини-пиг > собака > кролик > крыса.

Цитохром P450 2B

Ферменты CYP2B кроликов, по-видимому, наиболее идентичны функциональным свойствам CYP2B у крыс. Ортолог CYP2B6 человека не экспрессируется широко в организме кроликов, хотя существует информация, что он участвует в метаболизме циклофосфида, как и у человека [69].

Цитохром P450 2C

По некоторым литературным данным подсемейство 2C кроликов более схоже с человеческими формами CYP3A, чем с CYP2C [70]. Что указывает на то, что значительная часть лекарственных препаратов, в метаболизме которых принимает участие CYP2C, биотрансформируются иными путями.

Цитохром P450 2D

Человеческий фермент CYP2D6 не имеет похожего ортолога среди CYP форм кроликов. У кроликов присутствуют две формы — CYP2D23 и 2D24 [71], однако эти белки охарактеризованы не полностью, чтобы говорить об их влиянии на метаболизм различных веществ. Таким образом, у кроликов мета-

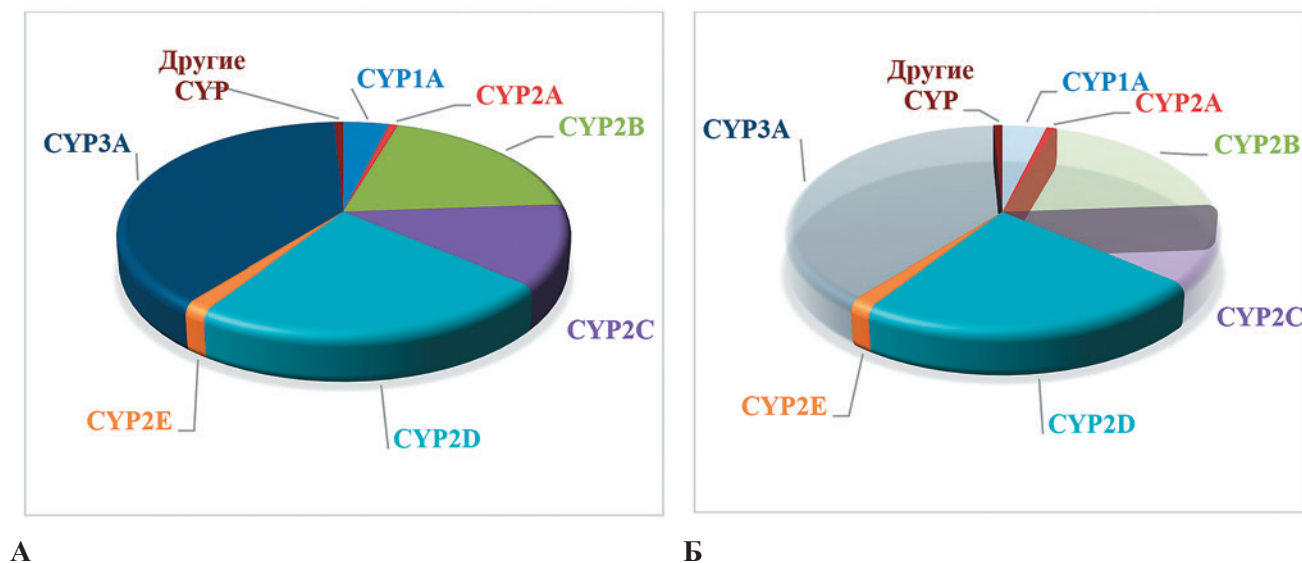


Рис. 4. Вовлеченность подсемейств системы цитохрома P450 в биотрансформацию большинства лекарственных веществ в печени человека (А) и морских свинок (Б)

Примечание: цветом выделены подсемейства CYP, проявляющие схожую функциональную активность в отношении лекарственных средств. Прозрачные доли диаграммы соответствуют подсемействам CYP, проявляющим определенные видовые различия в метаболизме лекарственных средств. Серым цветом выделены подсемейства CYP, чья функциональная активность имеет значительные отличия между рассматриваемыми видами.

Figure 4. Involvement of subfamilies of the cytochrome P450 system in the biotransformation of most drugs in the liver of humans (A) and guinea pigs (B)

Note: CYP subfamilies showing similar functional activity in relation to drugs are highlighted in color. The transparent parts of the diagram correspond to CYP subfamilies that exhibit certain species differences in drug metabolism. Gray color indicates CYP subfamilies, whose functional activity has significant differences between the considered species.

болизм одной трети лекарств, используемых в медицине, включает другие формы ферментов CYP.

Цитохром P450 2E

Фермент CYP2E1 кроликов соответствует его человеческому аналогу [72]. У молодых кроликов присутствует фермент CYP2E2, имеющий практически идентичную структуру и субстратную специфичность с CYP2E1 человека.

Сравнение вовлеченности подсемейств системы цитохрома P450 печени в метаболизм лекарственных веществ представлено на рисунке 5. Расхождения в структурной и функциональной активности замечены между подсемействами CYP2A, CYP2C, CYP2D и CYP3A двух видов. Принимая во внимание тот факт, что ферменты данных подсемейств у человека участвуют в биотрансформации значительного количества лекарственных средств, становится очевидным, что метаболизм тех же самых препаратов у кроликов, к примеру при пероральном применении, будет происходить иным образом, что непосредственно отразится на их фармакокинетических и фармакодинамических эффектах. Функцио-

нальная активность ферментов таких подсемейств, как CYP1A, CYP2B, CYP2E, схожа с ортологами человека. Иными словами, прогностическая ценность при изучении лекарственных средств, чей метаболизм связан в основном с данными подсемействами, будет схож у кроликов и человека.

Кошки

Цитохром P450 1A

Фурафиллин, мощный ингибитор человеческого CYP1A, не ингибирует CYP1A у кошек. Но активность CYP1A у кошек значительно выше, чем у собак и людей [73]. Значения метаболической активности производных резорфина CYP1A2 кошек сходны с таковыми CYP1A2 человека, в то время как метаболизм производных кумарина CYP1A2 кошек осуществляется примерно в семь раз эффективнее, чем у CYP1A2 человека [74, 75].

Цитохром P450 2A

Биотрансформация кломипрамина посредством CYP2 у кошек намного медленнее, чем у собак, крыс и людей. Более того, было замечено, что

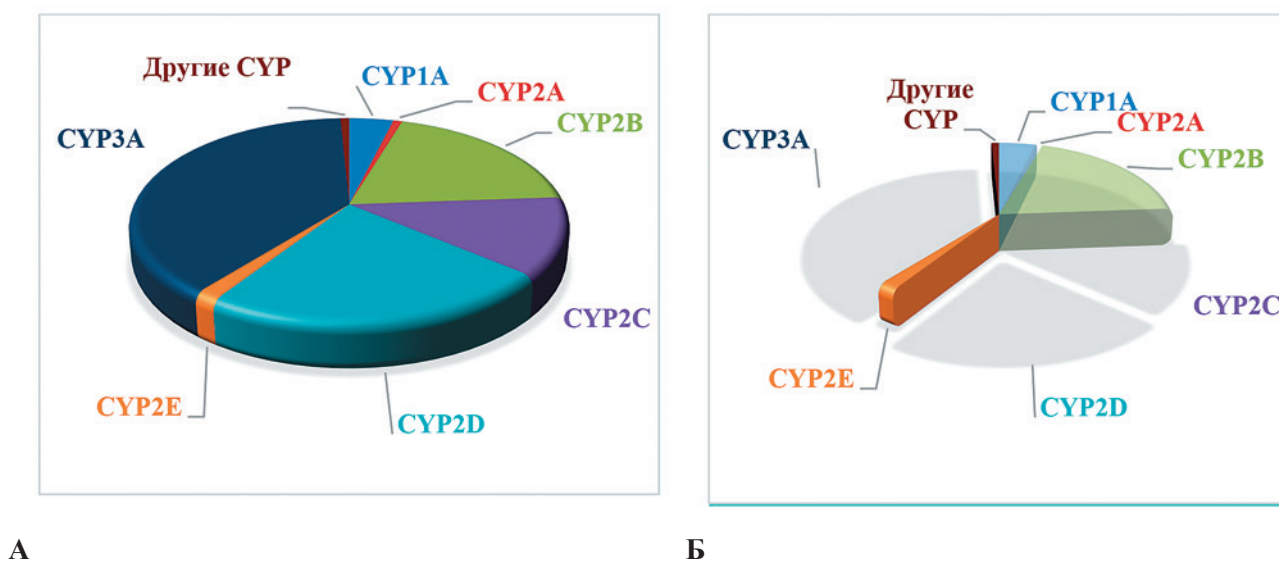


Рис. 5. Вовлеченность подсемейств системы цитохрома P450 в биотрансформацию большинства лекарственных веществ в печени человека (А) и кроликов (Б)

Примечание: цветом выделены подсемейства CYP, проявляющие схожую функциональную активность в отношении лекарственных средств. Прозрачные доли диаграммы соответствуют подсемействам CYP, проявляющим определенные видовые различия в метаболизме лекарственных средств. Серым цветом выделены подсемейства CYP, чья функциональная активность имеет значительные отличия между рассматриваемыми видами.

Figure 6. Involvement of subfamilies of the cytochrome P450 system in the biotransformation of most drugs in the liver of humans (A) and rabbits (B)

Note: CYP subfamilies showing similar functional activity in relation to drugs are highlighted in color. The transparent parts of the diagram correspond to CYP subfamilies that exhibit certain species differences in drug metabolism. Gray color indicates CYP subfamilies, whose functional activity has significant differences between the considered species.

у котов-самцов биотрансформация кломипрамина идет медленнее, чем у самок. CYP2A13 совместно с CYP2E2 и CYP2E1 являются тремя основными транскриптами в печени кошек (60 % всех цитохромов печени) [75]. Таким образом, можно предположить, что биотрансформация всех лекарственных средств, чей метаболизм опосредован CYP2A, будет происходить медленнее, чем у человека, или происходить по-другому.

Цитохром P450 2B

У кошек CYP2B6 не экспрессируется в печени, либо в очень незначительных количествах, и поэтому не играет важной роли в системном клиренсе ксенобиотиков [76]. Следовательно, метаболизм лекарственных веществ, который связан с CYP2B в организме человека, будет протекать иным образом, чем у кошек.

Цитохром P450 2C

У кошек также довольно низкая активность подсемейства CYP2C [77]. Период полувыведения фенитоина более 3 дней, к примеру, период полу-

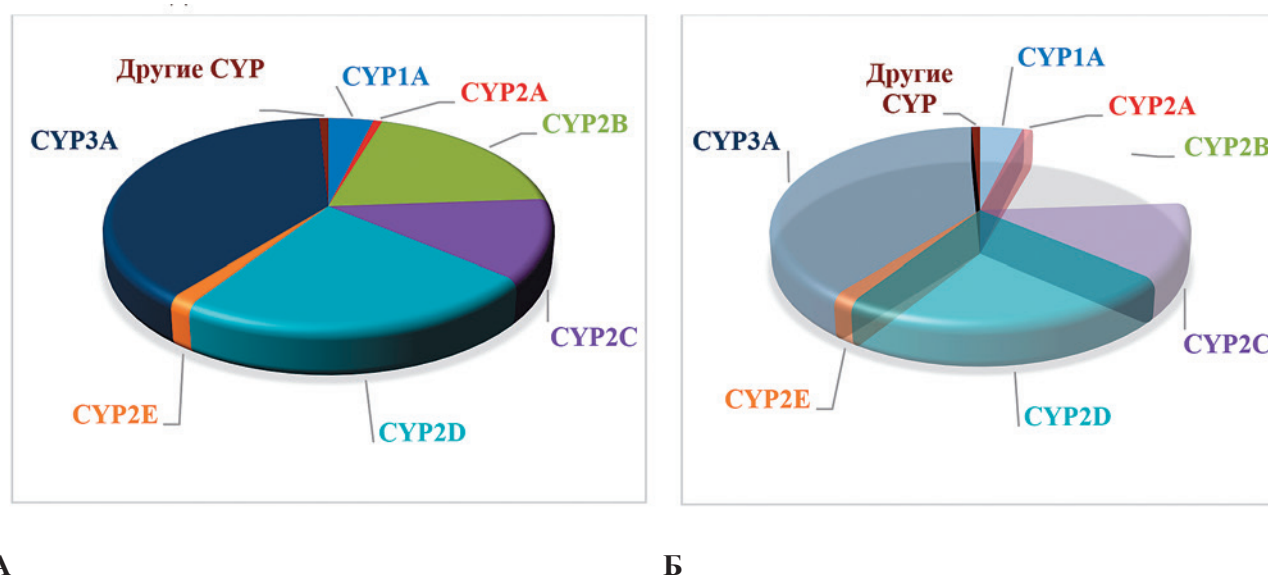
выведения у собак составляет всего 2 часа. Кошки не обладают активностью гидроксилирования толбутамида, связанной с активностью CYP2C9 у людей [73].

Цитохром P450 2D

Скорость элиминации субстратов CYP2D у самок кошек схожа с собаками, а у самцов кошек активность ниже [77]. Как было сказано ранее, CYP2D проявляет схожую активность у собак и людей примерно на 70 %. Следовательно, CYP2D кошек будет проявлять схожую активность с человеческим ортологом примерно на 50–70 %.

Цитохром P450 2E

CYP2E2 — наиболее распространенная форма CYP2E у кошек и менее чувствительная к лекарственным препаратам в сравнении с человеком [78]. Следовательно, стоит ожидать более медленный метаболизм лекарственных веществ, связанных с данным подсемейством системы цитохрома, у кошек относительно людей.



А

Б

Рис. 6. Вовлеченность подсемейств системы цитохрома P450 в биотрансформацию большинства лекарственных веществ в печени человека (А) и кошек (Б)

Примечание: цветом выделены подсемейства CYP, проявляющие схожую функциональную активность в отношении лекарственных средств. Прозрачные доли диаграммы соответствуют подсемействам CYP, проявляющим определенные видовые различия в метаболизме лекарственных средств. Серым цветом выделены подсемейства CYP, чья функциональная активность имеет значительные отличия между рассматриваемыми видами.

Figure 7. Involvement of subfamilies of the cytochrome P450 system in the biotransformation of most drugs in the liver of humans (A) and cats (B)

Note: CYP subfamilies showing similar functional activity in relation to drugs are highlighted in color. The transparent parts of the diagram correspond to CYP subfamilies that exhibit certain species differences in drug metabolism. Gray color indicates CYP subfamilies, whose functional activity has significant differences between the considered species.

Цитохром P450 3A

Активность CYP3A у самок кошек в целом уступает активности человеческих ортологов, а у самцов она значительно ниже. CYP3A131 кошек показал в десять раз более низкую аффинность к 7-бензилокси-4-трифторметилкумарину, чем у CYP3A4 человека. CYP3A131 — преобладающая изоформа в тонком кишечнике кошек [74].

На рисунке 6 представлено сравнение вовлеченности подсемейств системы цитохрома P450 печени в метаболизм лекарственных средств у человека и кошек. Расхождения в структурной и функциональной активности замечены между подсемействами CYP2B двух видов. Все остальные рассмотренные подсемейства схожи с аналогичными ортологами человека, хотя скорость метаболизма лекарственных средств при системном введении у кошек и человека практически всегда отличается. В целом, прогностическая ценность кошачьей модели с точки зрения системы цитохрома P450 подвергается сомнению.

Собаки

Общее содержание CYP в печени у собак соответствует общему содержанию CYP в печени у людей [45].

Цитохром P450 1A

CYP1A1 и 1A2 собак идентичны друг другу примерно на 75 %. Оба фермента на 80 % схожи со своими ортологами у человека — CYP1A1 и 1A2 и составляют в среднем 4 % от общего количества CYP печени самцов и самок биглей [66]. Было показано, что фурафиллин ингибирует активность CYP1A2 у человека и собак, но в разной степени. Кофеин, мелатонин, 9-цис-ретинол и эстрадиол — маркеры активности CYP1A2 человека не являются маркерами активности CYP1A2 для собак [79]. С другой стороны, такрин, этоксиресорифин и фенацетин являются субстратами CYP1A2 для человека и собак [80]. CYP1A2 и CYP2A13 собак метаболизируют фенацетин, а у человека эту функцию осуществляет только CYP1A2 (без CYP2A6 человека — ортолога CYP2A13 собак). А активность о-деэтилирования фенацетина, катализируемая CYP1A в микросомах печени, у собак сопоставима с человеком [81].

Цитохром P450 2A

У собак семейство CYP2A включает CYP2A13 и 2A25. CYP2A13 является ортологом CYP2A6 человека. Известно о его более слабом ингибировании аналогичными соединениями в отличие от CYP2A6. К примеру, активность цитохрома оценивалась

по гидроксированию кумарина. Показано, что у человека оно выше в 2 раза, чем у собак [82, 83].

Цитохром P450 2B

В печени собак активность CYP2B гораздо ниже по сравнению с человеком [73]. А основной изоформой 2B является CYP2B11, которая на 75 % гомологична в отношении аминокислотной последовательности с CYP2B1 у крыс и на 78 % гомологична ортологу человека CYP2B6. Как и у людей, экспрессия данного фермента у собак происходит в основном в печени. Примечательно, что CYP2B11 катализирует N-деметилование декстрометорфана (опосредованное у человека CYP3A) и 4'-гидроксирование мефенитоина (этап метаболизма лекарственных средств, который у человека опосредован CYP2C19), и вместе с CYP3A12, CYP2B11 собак также участвует в (S)-варфарин-гидроксировании (опосредованном у человека CYP2C9) [83]. CYP2B6 человека и CYP2B11 собак метаболизируют пропופол, однако существуют значительные различия между видами [84]. Интересно, что CYP2B у человека проявляет половой диморфизм, но у собак этого свойства нет. В ряде работ было отмечено, что CYP2B11 и -3A12 являются основными кишечными изоформами у собак. Это контрастирует с незначительным количеством CYP2B в кишечнике человека [14]. Показано, что активность О-деалкилирования пентоксирезоруфина, катализируемая CYP2B в микросомах печени, у человека примерно в 10 раз ниже, чем у собак [45]. Все это указывает на отсутствие достоверного сходства между CYP2B человека и его ортологов собак.

Цитохром P450 2C

У собак два изофермента CYP2C — CYP2C21 и -2C41. Эти две изоформы CYP2C демонстрируют 70 % идентичность. Более того, они идентичны на 75 % с CYP2C человека. В частности, CYP2C41 собак более гомологичен CYP2C человека, чем CYP2C21. Оба изофермента обнаружены в печени собак, но их экспрессия варьируется от породы. В популяции собак CYP2C41 может либо присутствовать, либо полностью отсутствовать. Метаболизм специфических человеческих субстратов CYP2C, таких как толбутамид, варфарин и (S)-мефенитоин нарушен в печени собак, что иллюстрирует видовое различие между метаболизмом лекарств у собак и человека [14]. Сульфafenазол является одним из самых мощных и селективных ингибиторов CYP2C9. У собак сульфafenазол демонстрирует сходный профиль ингибирования, хотя и в меньшей степени по сравнению с человеком. Ингибиторы CYP2C человека, такие как тра-

нилципромин (-2C19) и кверцетин, (-2C8) практически не ингибируют CYP2C собак. Но активность р-гидроксилирования фенитоина и 4-гидроксилирования мефенитоина, катализируемых CYP2C9 и CYP2C19 соответственно в микросомах печени, у собак была в 3 раза выше, чем у человека [45]. Одной из причин, по которой отдельные из обычных субстратов человека и ингибиторов CYP2C не взаимодействуют с CYP2C собак, является то, что собаки, по-видимому, лишены анионсвязывающего сайта, который присутствует в основной изоформе CYP2C9 человека [66].

Цитохром P450 2D

CYP2D15 является основным CYP2D у собак. Активность сходна с CYP2D6 человека [85]. CYP2D15 преимущественно экспрессируется в печени и составляет от 3 % до 20 % от общей экспрессии P450 в печени собак [16]. А активность гидроксилирования буфуралола, катализируемая CYP2D, схожа у собак и человека [45]. Кроме того, профили ингибирования хинидина демонстрируют сильное сходство, хотя хинидин оказался более слабым ингибитором CYP2D15 собак по сравнению с его влиянием на CYP2D6 человека [86]. CYP2D15 ингибируется кетоконазолом (CYP3A и CYP2C у человека), кломипрамином (CYP2C и CYP1A у человека) и лоперамидом (CYP2C и CYP3A у человека). Несмотря на то что целекосиб является субстратом CYP2D15 у собак, у людей целекосиб подвергается биотрансформации с помощью CYP2C, а не CYP2D6 (ортолог CYP2D15). Кроме того, дебризохин, который является стандартным пробным препаратом для активности CYP2D у людей, является плохим субстратом CYP2D у собак. Особый клинический интерес представляют известные субстраты CYP2D15 — флуоксетин (CYP2C у человека), метоклопрамид (CYP2D у человека) и трамадол (CYP2D, CYP2B, CYP3A у человека). В целом, по ряду литературных источников [14, 16, 63], изоферменты подсемейства CYP2D собак и людей проявляют схожую активность.

Цитохром P450 2E

Активность р-гидроксилирования анилина, опосредованная CYP2E, у собак в 2 раза ниже, чем у человека [45].

Цитохром P450 3A

У собак семейство CYP3A состоит из двух изоформ — CYP3A12 и 3A26. Обе они обнаружены в печени. Несколько различий в каталитической активности были выявлены между этими двумя ферментами. Человеческие изоформы CYP3A4

и 3A5 демонстрируют некоторые параллели по сравнению с CYP3A12 и 3A26 собак. У человека и собак рифампицин является сильным индуктором CYP3A, но дексаметазон индуцирует CYP3A у человека, но не у собак. Мидазолам метаболизируется исключительно CYP3A4 и CYP3A5 человека, тогда как у собак он метаболизируется с помощью CYP2B11. Активность п-деметилирования бензфетамин, этилморфина и эритромицина посредством CYP3A, а также окисление нифедипина у собак осуществляется схожим образом с человеком [87].

На рисунке 7 представлено сравнение вовлеченности подсемейств системы цитохрома P450 печени в метаболизм лекарственных веществ собак и человека. Расхождения в функциональной активности замечены во втором семействе системы P450, а именно: CYP2B и CYP2C. Соответственно, фармакокинетические и фармакодинамические особенности исследуемых лекарственных веществ, чей метаболизм в основном связан с ферментами данных подсемейств, будет в значительной степени отличаться между видами, следовательно, прогностическая ценность будет низкой. Что касается семейств CYP1 и CYP3, а также подсемейств CYP2A, CYP2D и CYP2E собак — их функциональная активность схожа с ортологами человека. Соответственно, можно говорить о наличии определенной прогностической ценности и экстраполяции на человека данных, полученных при изучении лекарственных веществ, чей метаболизм в основном связан с ферментами данных семейств и подсемейств. Стоит также обратить внимание, что у собак существуют и значительные внутривидовые особенности системы цитохрома P450 в зависимости от породы. Представленная информация в большей степени относится к породе бигль.

Свиньи

Общее количество CYP450 в печени у свиней по одним данным сопоставимо, по другим — примерно в 2 раза выше, чем у человека. Мини-пиги обладают самой высокой концентрацией P450 из всех представителей животных, наиболее часто используемых в доклинических исследованиях [88, 89].

Цитохром P450 1A

Активность у самок мини-пигов в 2–4 раза выше, чем у самцов. У человека обратная зависимость — активность у женщин в 3 раза ниже, чем у самцов. Индукция омепразолом CYP1A2 у человека осуществляется примерно в 3 раза активнее, чем у мини-пигов [88].

Цитохром P450 2A

У самцов мини-пигов метаболизм кумарина под действием CYP2A осуществляется в несколько раз медленнее, чем у самок, тогда как у человека обратная зависимость — у мужчин кумарин метаболизируется в 5 раз быстрее, чем у женщин [90].

Цитохром P450 2C

Толбутамид, который является селективным субстратом для CYP2C9 человека, показывает перекрестную реактивность у свиней, указывая на то, что субстрат неспецифичен, или на то, что в процесс вовлечены другие ферменты (в биотрансформацию также вносят вклад CYP2B22 и CYP51A1) [91]. Известно, что мидазолам и хлорзоксазон биотрансформируются в те же метаболиты у свиней, что и у людей.

Цитохром P450 2D

Свиньи обладают очень низким количеством CYP2D в организме по сравнению с человеком. Некоторые субстраты для CYP2D6 человека метаболизируются другими изоферментами у свиней. Свиньи, аналогично людям, могут биотранс-

формировать декстрометорфан в дексторфан и катализируют 1-гидроксилирование буфуралола [90]. Половых различий ни у свиней, ни у людей не показано.

Цитохром P450 2E

Активность CYP2E свиней аналогична человеческому ортологу, но, в отличие от человека, не является основным ферментом, метаболизирующим хлорзоксазон [92].

Цитохром P450 3A

Активность CYP3A выше у мини-пигов, чем у обычных свиней. CYP3A4, как у людей, является основным CYP и у свиней. CYP3A46 и CYP3A22 свиней участвуют в биотрансформации мидазолама [91]. Эти CYP показывают высокий процент идентичности с их эквивалентными ферментами CYP человека. Таким образом, мидазолам можно рассматривать как селективный субстрат свиней для оценки активности фермента CYP3A. Метаболизм тестостерона с участием CYP3A4 также демонстрирует высокую степень сходства между свиньями и людьми [93].

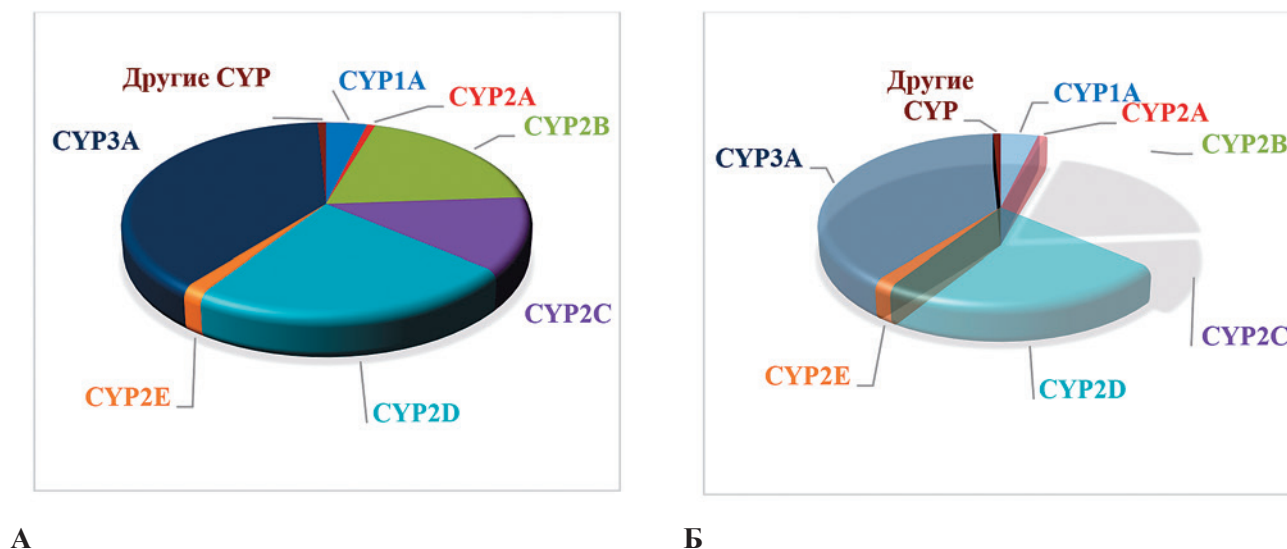


Рис. 7. Вовлеченность подсемейств системы цитохрома P450 в биотрансформацию большинства лекарственных веществ в печени человека (А) и собак (Б)

Примечание: цветом выделены подсемейства CYP, проявляющие схожую функциональную активность в отношении лекарственных средств. Прозрачные доли диаграммы соответствуют подсемействам CYP, проявляющим определенные видовые различия в метаболизме лекарственных средств. Серым цветом выделены подсемейства CYP, чья функциональная активность имеет значительные отличия между рассматриваемыми видами.

Figure 5. Involvement of subfamilies of the cytochrome P450 system in the biotransformation of most drugs in the liver of humans (A) and dogs (B)

Note: CYP subfamilies showing similar functional activity in relation to drugs are highlighted in color. The transparent parts of the diagram correspond to CYP subfamilies that exhibit certain species differences in drug metabolism. Gray color indicates CYP subfamilies, whose functional activity has significant differences between the considered species.

Сравнение вовлеченности подсемейств системы цитохрома Р450 печени в метаболизм лекарственных веществ человека и свиньи представлено на рисунке 8. В целом, свинья, как модель *in vivo* в доклинических исследованиях, является прогностически ценной при изучении лекарственных средств.

Приматы

Общее содержание СYP в печени у яванских макаков примерно в три раза выше, чем у людей. Соответственно, в образцах печени обезьян в целом наблюдается более высокая активность, чем у людей [45].

Цитохром Р450 1А

Подсемейство СYP1А состоит из двух членов, СYP1А1 и 1А2 [94]. СYP1А демонстрирует сильную идентичность к человеку, более 80 % (95 % для обоих СYP1А1 и 1А2). У обезьян ферменты СYP1А могут различаться по своей активности в пределах одного вида, СYP1А2 менее выражен у яванских макаков. Фурафиллин ингибирует активность СYP1А2 у человека, мышей, крыс и собак в разной степени, в то время как ингибирования не наблюдается у обезьян [61].

Активность О-деэтилирования фенацетина в 3 раза выше у обезьян, чем у человека [45].

Цитохром Р450 2А

Активность гидроксилирования кумарина, катализируемая СYP2А в микросомах печени, у обезьян примерно в 10 раз выше, чем у человека [45].

Цитохром Р450 2В

В организме яванских макаков существует только одна изоформа СYP2В — СYP2В17, которая схожа с ортологом -2В6 человека на 95 % [94]. Активность о-деалкилирования пентоксирезорифина у человека примерно в 7 раз ниже, чем у приматов [45].

Цитохром Р450 2С

У обезьян семейство СYP2С в основном состоит из двух изоформ — СYP2С20 и 2С43 [95]. Обе эти изоформы экспрессируются в печени и показывают идентичность 85 % и 75 % соответственно. СYP2С43 и СYP2С20 высокоидентичны к СYP2С9 человека — на 90 % и 80 % соответственно, к СYP2С18 — 75 % и 80 % соответственно и к СYP2С8 — 80 %

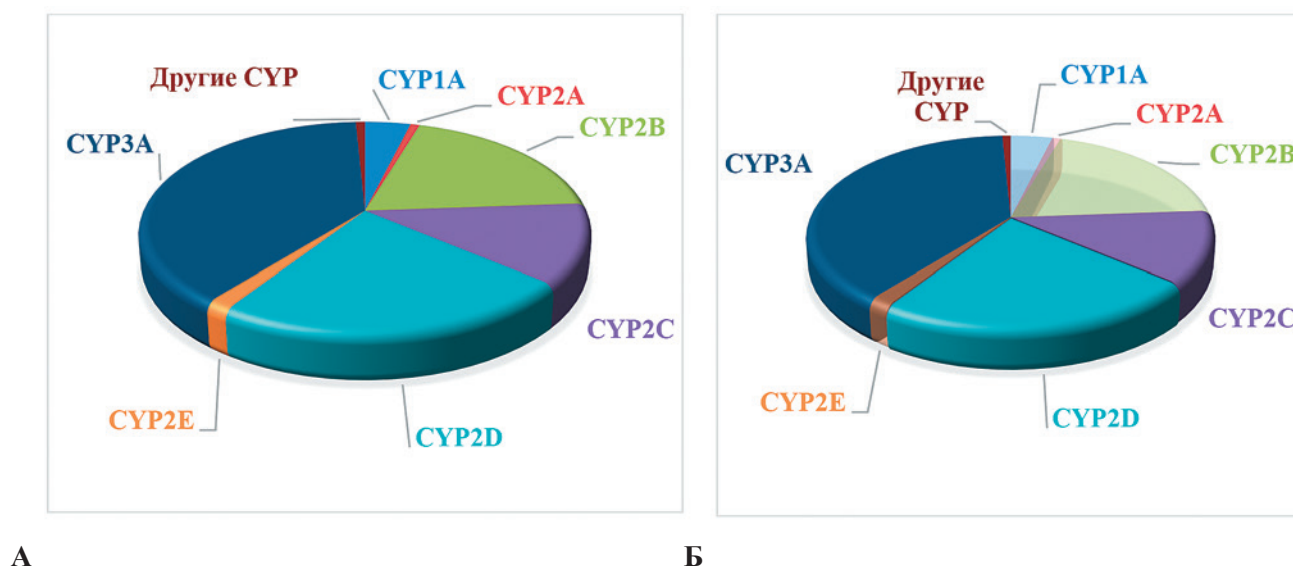


Рис. 8. Вовлеченность подсемейств системы цитохрома Р450 в биотрансформацию большинства лекарственных веществ в печени человека (А) и свиньи (Б)

Примечание: цветом выделены подсемейства СYP, проявляющие схожую функциональную активность в отношении лекарственных средств. Прозрачные доли диаграммы соответствуют подсемействам СYP, проявляющим определенные видовые различия в метаболизме лекарственных средств. Серым цветом выделены подсемейства СYP, чья функциональная активность имеет значительные отличия между рассматриваемыми видами.

Figure 8. Involvement of subfamilies of the cytochrome P450 system in the biotransformation of most drugs in the liver of humans (A) and pigs (B)

Note: CYP subfamilies showing similar functional activity in relation to drugs are highlighted in color. The transparent parts of the diagram correspond to CYP subfamilies that exhibit certain species differences in drug metabolism. The CYP subfamilies, whose functional activity has significant differences between the species under consideration, are highlighted in gray.

и 70 % соответственно [96]. CYP2C43, но не CYP2C20 метаболизирует (S)-мефенитоин, который является субстратом CYP2C19 у человека. В отличие от этого CYP2C43 не способен метаболизировать толбутамид, субстрат для CYP2C9 у человека [14]. Таким образом, CYP2C43 макака, по-видимому, функционально связан с CYP2C19 человека, но не с CYP2C9. Яванские макаки, по-видимому, являются наиболее схожим с человеком видом в отношении CYP2C19. У яванских макак существует форма CYP2C76, которая в меньшей степени соответствует CYP2C человека. Этот факт может быть объяснен расхождением ортологов. Было показано, что активность р-гидроксилирования фенитоина посредством CYP2C9 в печени, у обезьян примерно в 2 раза выше, чем у человека. А активность 4-гидроксилирования мефенитоина посредством CYP2C19 была в 3 раза выше у приматов, чем у человека [45].

Цитохром P450 2D

У яванских макак CYP2D17, у макак-резусов CYP2D42, а у мармозеток CYP2D30 практически идентичны человеческому CYP2D6 [97]. Тем

не менее, изоформа хинина обладает ингибирующим эффектом в отношении CYP2D у крыс, собак и обезьян, но не у человека. Активность гидроксилирования буфуралола, катализируемая CYP2D в печени, осуществляется более чем в 10 раз активнее у приматов, чем у человека [45].

Цитохром P450 2E

У обезьян активность CYP2E1 в микросомах печени, по-видимому, сходна с человеческой CYP2E1 [61], однако индуцируемость этого фермента 3-метилхолантроном (индуктором CYP1A у человека) указывает на присутствие некоторых различий в механизме индукции CYP2E1. К тому же, активность р-гидроксилирования анилина, катализируемая CYP2E в печени, в 2 раза ниже у обезьян, чем у человека [45].

Цитохром P450 3A

У яванских макак CYP3A8 составляет около 20 % от общего числа CYP в печени обезьян и на 95 % идентичен человеческому CYP3A4 [98]. Принимая во внимание более высокий общий уровень

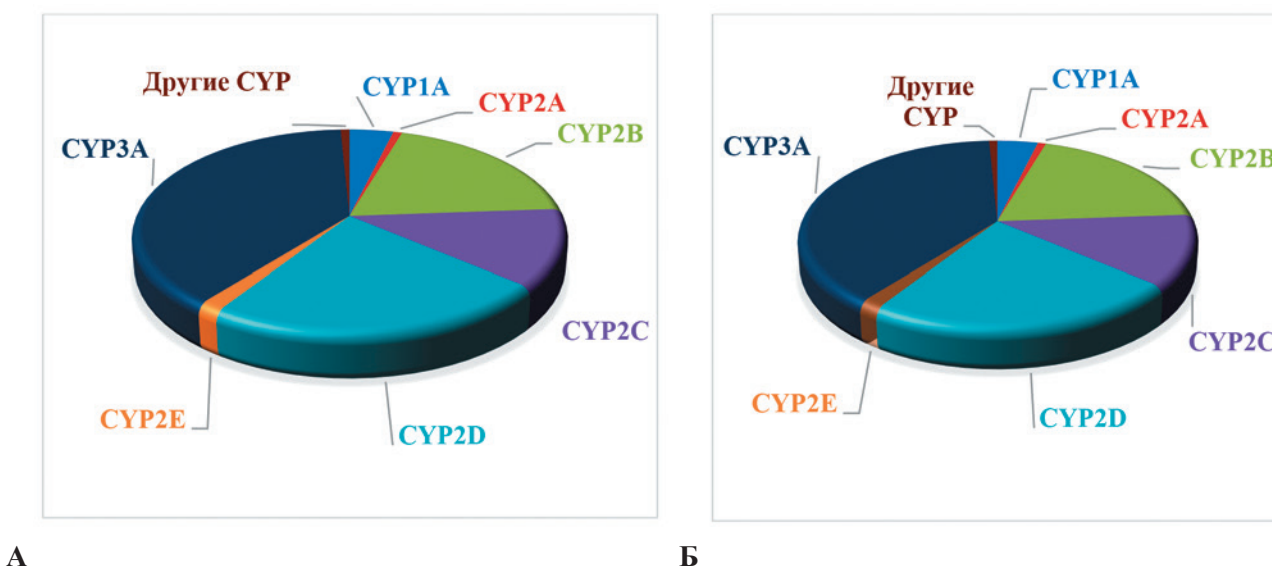


Рис. 9. Вовлеченность подсемейств системы цитохрома P450 в биотрансформацию большинства лекарственных веществ в печени человека (А) и приматов (Б)

Примечание: цветом выделены подсемейства CYP, проявляющие схожую функциональную активность в отношении лекарственных средств. Прозрачные доли диаграммы соответствуют подсемействам CYP, проявляющим определенные видовые различия в метаболизме лекарственных средств. Серым цветом выделены подсемейства CYP, чья функциональная активность имеет значительные отличия между рассматриваемыми видами.

Figure 9. Involvement of subfamilies of the cytochrome P450 system in the biotransformation of most drugs in the liver of humans (A) and primates (B)

Note: CYP subfamilies showing similar functional activity in relation to drugs are highlighted in color. The transparent parts of the diagram correspond to CYP subfamilies that exhibit certain species differences in drug metabolism. Gray color indicates CYP subfamilies, whose functional activity has significant differences between the considered species.

СУР в печени у обезьян по сравнению с человеком, это означает в 4–5 раз более высокие уровни СУР3А8 по сравнению с СУР3А4 на единицу печени [16]. Кроме того, активность *п*-деметилирования бензфетамина, этилморфина и эритромицина посредством СУР3А в печени у приматов осуществляется в 2 раза активнее, чем у человека [45].

Сравнение вовлеченности подсемейств системы цитохрома Р450 печени в метаболизм лекарственных веществ человека и приматов представлено на рисунке 9. Таким образом, прогностическая ценность модели приматов в доклинических исследованиях является крайне высокой.

Прогностическая ценность и аспекты выбора релевантной модели *in vivo* в доклинических исследованиях

Экспрессия и активность некоторых форм СУР у человека демонстрирует значительную межиндивидуальную изменчивость, которая обусловлена влиянием окружающей среды — индукцией или ингибированием ксенобиотиками, возрастом, генетической предрасположенностью, а также различными патологическими состояниями (воспаление, онкологический процесс) [99]. Генетическая предрасположенность в первую очередь определяется полиморфизмом семейств СУР [100]. Если метаболизм вещества опосредован только одной изоформой фермента, генетический полиморфизм может привести к клинически значимому изменению действия препарата. А с точки зрения способности к биотрансформации лекарственных веществ, человеческая популяция обычно распределяется на медленных, промежуточных, нормальных и сверхбыстрых метаболизаторов [101].

Ввиду вышесказанного выбор релевантного вида животного в доклинических исследованиях является важнейшей основой для последующего изучения тестируемого объекта [102, 103]. Стоит отметить, что все исследования на животных подвержены влиянию различных факторов, которые, в конечном счете, обуславливают низкую экстраполяцию в клинику. К примеру, лабораторные животные могут содержаться в условиях, затрудняющих экстраполяцию результатов на человека. К числу таких условий можно отнести содержание в однополых группах, отсутствие возможностей для физических упражнений, температуру окружающей среды, стресс, диету. К другим серьезным проблемам, ведущим к несоответствиям доклинических и клинических исследований, относится тот факт, что животные, используемые в исследованиях, как правило, молодые и здоровые, тогда как многие заболевания человека проявляются в более

зрелом возрасте. Кроме того, многим моделям на животных не хватает «сложности», необходимой для точного воспроизведения условий жизни человека. Хотя достигнуты определенные успехи в лечении заболеваний, основанных на дефектах одного гена, которые можно воспроизвести *in vivo*, большинство болезней человека имеют тенденцию развиваться с течением времени как часть жизненного цикла (например, развитие онкологического процесса). Другими словами, используемые в настоящее время модели животных не имитируют медленную, прогрессирующую и дегенеративную природу многих хронических заболеваний человека, а также не связаны со сложностью сопутствующей патологии или полипрагмазией. То же относится и к периоду восстановления после тяжелого патологического состояния. Например, инсульт — у людей восстановление может занять годы, но животные могут оправиться от экспериментального инсульта в течение нескольких дней или недель. К тому же на фармакокинетические и фармакодинамические характеристики лекарственных средств и их метаболитов помимо системы цитохрома могут влиять и такие факторы, как режим дозирования и способ введения веществ.

Но даже если большинство описанных выше проблем доклинических исследований условно можно исключить, то проблему различия видов, то есть различия между животными и людьми, с точки зрения лежащей в их основе биологии, генетики и биохимических процессов, исключить не получится. Исследования на животных — довольно сложные модели, которые позволяют изучать СУР динамическим способом. Переваривание, всасывание и внепеченочный метаболизм соединений могут быть исследованы, но ни одна модель *in vivo* не может полностью воспроизвести метаболизм человека. Ввиду вышесказанного, модели на животных могут служить хорошим аналогом для изучения общих принципов, но не конкретных деталей. Сегодня выбор модели в ряде областей, по-видимому, не является рациональным с точки зрения доказательной базы или уместности по отношению к соответствующему состоянию человека. Таким образом, в настоящее время существует большое количество моделей *in vivo*, которые широко используются для прогнозирования кинетики и токсичности лекарственных веществ во время I фазы исследований метаболизма у людей. Но ни одна из систем СУР животных не является полностью идентичной системе СУР человека. Более того, высокая степень идентичности аминокислотных последовательностей при сравнении изоформ разных видов не означает автоматически схожую экспрессию СУР, субстрат-

ную специфичность, каталитическую активность. Выбор подходящей модели, основанной на метаболизме лекарственных средств посредством системы цитохрома P450, требует тщательного рассмотрения. Релевантная модель должна укладываться в определенные характеристики. Одной из них является сходство с человеком в отношении распределения, количества и активности СYP в тканях организма, которое в дальнейшем позволит адекватно экстраполировать данные фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных средств на человека. По имеющимся литературным данным, общее количество ферментов системы цитохрома P450 в печени человека в норме сопоставимо с таковым у собак и свиней, у крыс общее количество примерно в 2 раза больше, а у обезьян и морских свинок — выше более чем в 3 раза.

В таблицах 1 и 2 представлена обобщающая информация по функциональной активности ферментов системы цитохрома P450, участвующих в метаболизме лекарственных средств, в сравнении с человеческими аналогами. Так, несмотря на высокий процент структурного сходства между CYP1A у разных видов (табл. 2), их ингибиторы проявляют разную активность. Например, α -нафтофлаван ингибирует CYP1A человека и мышей на 80–100 %, а CYP1A мини-пиггов на 60–80 % [104]. Аналогичным образом, активность фермента CYP1A мини-пиггов в 6 раз ниже, чем активность CYP1A человека [61] (табл. 1). У мышей и крыс наблюдается выраженное структурное сходство CYP1A с ортологами человека (табл. 1), хотя фурафин метаболизируется по-разному. CYP1A кошек схож с человеческим аналогом, но актив-

Таблица 1. Сопоставление некоторых изоферментов цитохрома P450 животных в сравнении с их ортологами человека

Table 1. Comparison of some animal cytochrome P450 isoenzymes in comparison with their human orthologues

Подсемейство СYP	Вид животного						
	Мыши	Крысы	Морские свинки	Кролики	Кошки	Собаки	Свиньи
1A	+	+/-	+/-	+↓	+↑	+/-	+↓
2A	—	—	+	+/-	+↓	+↓	+/-
2B	—	+	+↑	+	—	—	+/-
2C	—	—	+/-	—	+↓	—	+
2D	—	+/-	+/-	—	+/-	+/-	+
2E	+	+	+/-	+	+/-	+/-	+/-
3A	+/-	+/-	+/-↑	+/-	+/-↓	+/-	+

Примечания:

“+” — общая активность ферментов подсемейства, сопоставима с активностью ортологов человека;

“—” — общая активность ферментов подсемейства, не сопоставима с активностью ортологов человека;

“+/-” — общая активность ферментов подсемейства, сопоставима приблизительно на 50% с активностью ортологов человека;

“↑” — общая активность фермента превосходит активность ортологов у человека;

“↓” — общая активность фермента уступает активности ортологов человека.

Notes:

“+” is the total activity of enzymes of the subfamily, comparable to the activity of human orthologues;

“—” is the total activity of enzymes of the subfamily, not comparable with the activity of human orthologues;

“+/-” is the total activity of enzymes of the subfamily, approximately 50% comparable with the activity of human orthologues;

“↑” — the total activity of the enzyme exceeds the activity of orthologues in humans;

“↓” — the total activity of the enzyme is inferior to the activity of human orthologues.

Таблица 2. Сопоставление некоторых изоферментов цитохрома P450 человека и их ортологов у лабораторных животных [1–139]

Table 2. Comparison of some isoenzymes of human cytochrome P450 and their orthologues in laboratory animals [1–139].

Изоферменты цитохрома P450 человека	Мыши	Хомяки	Крысы	Морские свинки	Хорьки	Кролики	Кошки	Собаки	Свиньи	Минипиги	Обезьяны	
											Мармозетки	Макаки-резус
CYP1A1	CYP1A1 (78)	CYP1A1 (50)	CYP1A1 (78)	CYP1A1 (77)	CYP1A1 (79)	CYP1A1 (76)	CYP1A1 (81)	CYP1A1 (80)	CYP1A1 (81)	CYP1A1 (75)	CYP1A1 (90)	CYP1A1 (94)
CYP1A2	CYP1A2 (73)	CYP1A2 (50)	CYP1A2 (75)	CYP1A2 (77)	CYP1A2 (75)	CYP1A2 (75)	CYP1A2 (80)	CYP1A2 (82)	CYP1A2 (81)	–	CYP1A2 (88)	CYP1A2 (93)
CYP1B1	CYP1B1 (81)	–	CYP1B1 (78)	CYP1B1 (81)	CYP1B1 (84)	CYP1B1 (85)	CYP1B1 (82)	CYP1B1 (84)	CYP1B1 (50)	–	CYP1B1 (92)	CYP1B1 (94)
CYP2A6	CYP2A12 (71)	CYP2A8 (74)	CYP2A3 (56)	CYP2B18A (75)	–	CYP2A11 (85) CYP2G1 (50) CYP2B5 (50) CYP2B4 (50)	CYP2A13 (85)	CYP2A13 (89)	CYP2A19 (88)	CYP2A (70%)	CYP2A6 (90)	CYP2A24 (95)
	CYP2A22 (71)	CYP2A17 (50)	CYP2B15 (50)									
	CYP2A4 (84)	CYP2A9 (50)	CYP2A1 (60)									
	CYP2A5 (85)	CYP2A9 (50)	CYP2A2 (60)									
CYP2A7	CYP2A12 (71)	CYP2A9 (50) CYP2A17 (50)	CYP2A3 (56)	–	–	CYP2A11 (83)	CYP2A13 (83)	CYP2A13 (87) CYP2A25 (70)	CYP2C42 (50) CYP2A19 (87)	–	CYP2A6 (90) CYP2A7 (90)	CYP2A24 (94)
	CYP2A22 (71)											
	CYP2A4 (82)											
	CYP2A5 (84)											
CYP2A13	CYP2A12 (74)	–	CYP2A3 (58)	–	–	CYP2A11 (88)	CYP2A13 (87) CYP2A25 (50)	CYP2A13 (92)	CYP2A19 (89)	–	CYP2A7 (90) CYP2A6 (90)	CYP2A6 (94)
	CYP2A22 (73)											
	CYP2A4 (87)											
	CYP2A5 (88)											

Изоферменты цитохрома P450 человека	Мыши	Хомяки	Крысы	Морские свинки	Хорьки	Кролики	Кошки	Собаки	Свиньи	Минипиги	Обезьяны	
											Мармозетки	Макаки-резус
CYP2B6	CYP2B10 (78)	CYP2A9 (50) CYP2A17 (50)	CYP2B2 (73)	CYP2B18 (74)	CYP2B6 (74)	CYP2B4 (77) CYP2B5 (76)	CYP2B6 (74)	CYP2B11 (74)	CYP2B22 (75)	CYP2B22 (72)	CYP2B6 (82)	CYP2B6 (86)
	CYP2B13 (71)		CYP2B15 (72)									
	CYP2B19 (75)		CYP2B12 (72)									
	CYP2B23 (75)		CYP2B3 (67)									
	CYP2B9 (72)		CYP2B1 (74)									
	CYP2B9 (70)		CYP2B9 (71)									
CYP2C8	CYP2C29 (71)	CYP2C26 (50) CYP2C28 (50) CYP2C27 (50) CYP2C25 (50)	CYP2C7 (69) CYP2C6 (71) CYP2C12 (65) CYP2C13 (65) CYP2C22 (65) CYP2C23 (65) CYP2C11 (65)	CYP2C8 (75)	CYP2C8 (69)	CYP2C5 (74) CYP2C4(73) CYP2C16(73)	CYP2C8 (70)	CYP2C21 (66) CYP2C41 (70)	CYP2C49 (72) CYP2C42 (76)	CYP2C49 (70)	CYP2C8 (87)	CYP2C8 (92)
	CYP2C39 (72)											
	CYP2C40 (62)											
	CYP2C38 (72)											
	CYP2C37 (68)											
	CYP2C50 (69)											
	CYP2C67 (65)											
	CYP2C54 (68)											
	CYP2C66 (72)											
	CYP2C65 (73)											
	CYP2C68 (66)											
	CYP2C69 (66)											
	CYP2C55 (65)											
	CYP2C44 (65)											

Изоферменты цитохрома P450 человека	Мыши	Хомяки	Крысы	Морские свинки	Хорьки	Кролики	Кошки	Собаки	Свиньи	Минипиги	Обезьяны	
											Мармозетки	Макаки-резус
CYP2C9	CYP2C29 (76)		CYP2C7 (72)	CYP2C9 (77)	CYP2C9 (75)	CYP2C5 (77)	CYP2C9 (74)	CYP2C21 (69)	CYP2C49 (79)	CYP2C (50%)	-	CYP2C43 (93)
	CYP2C39		CYP2C6 (75)			CYP2C4 (77)			CYP2C42 (80)			CYP2C75 (94)
	CYP2C40 (63)		CYP2C12 (67)			CYP2C16 (77)						
	CYP2C38 (72)		CYP2C13 (67)									
	CYP2C37 (73)											
	CYP2C50 (73)											
	CYP2C67 (67)	-										
	CYP2C54 (71)											
	CYP2C66 (76)											
	CYP2C65 (76)											
	CYP2C68 (66)											
	CYP2C69 (67)											
CYP2C18	CYP2C55 (76)		CYP2C55 (76)			CYP2C2 (73)		CYP2C21 (69)	CYP249 (81)	-	CYP2C18 (93)	CYP2C18 (96)
	CYP2C54 (50)		CYP2C13 (78)	-	-	CYP2C14 (78)	-		CYP2C42 (82)			
	CYP2C37 (50)	-	CYP2C11 (77)									
	CYP2C50 (50)											
	CYP2C37 (50)											
	CYP2C37 (50)											
CYP2C19	CYP2C29 (75)		CYP2C7 (72)	-		CYP2C5 (77)		CYP2C21 (70)	CYP2C49 (78)	-	-	-
	CYP2C39 (73)		CYP2C6 (75)			CYP2C4 (77)			CYP2C42 (80)			
	CYP2C40 (63)		CYP2C12 (68)			CYP2C16 (76)						
	CYP2C38 (72)	CYP2C26 (50)										
	CYP2C37 (72)	CYP2C28 (50)										
	CYP2C50 (72)	CYP2C27 (50)										
	CYP2C67 (67)	CYP2C25 (50)										
	CYP2C54 (71)	CYP2C25 (50)										
	CYP2C66 (75)											
	CYP2C65 (76)											
	CYP2C68 (66)											
	CYP2C69 (67)											

Изоферменты цитохрома P450 человека	Мыши	Хомяки	Крысы	Морские свинки	Хорьки	Кролики	Кошки	Собаки	Свиньи	Минипиги	Обезьяны	
											Мармозетки	Макаки-резус
CYP2D6	CYP2D26 (71) CYP2D22 (75) CYP2D11 (67) CYP2D9 (69) CYP2D34 (68) CYP2D10 (69) CYP2D12 (68)	CYP2D20 (50)	CYP2D2 (71) CYP2D5 (70) CYP2D3 (71) CYP2D4 (76) CYP2D1 (70) CYP2D18 (70)	CYP2D16 (72)	-	CYP2D23 (76) CYP2D24 (78)	CYP2D6 (75)	CYP2D15 (50)	CYP2D25 (78)	CYP2D25 (75)	CYP2D30 (89)	CYP2D42 (82)
	CYP2E1 (78)	-	CYP2E1 (79)	CYP2E1 (79)	CYP2E1 (78)	CYP2E1 (50)	CYP2E2 (77)	CYP2E1 (77)	CYP2E1 (79)	CYP2E1 (79)	CYP2E1 (71)	CYP2E1 (90)
	CYP2J9 (73) CYP2J13 (72) CYP2J5 (70) CYP2J6 (76) CYP2J11 (68) CYP2J12 (71) CYP2J7 (70) CYP2J8 (70)	CYP2J3 (50)	CYP2J3 (70) CYP2J4 (78) CYP2J10 (70)	CYP2J2 (39)	CYP2J2 (80)	CYP2J1 (81)	CYP2J2 (76)	CYP2J2 (79)	CYP2J34 (78)	-	CYP2J2 (90)	CYP2J2 (95)
	CYP3A13 (75) CYP3A16 (70) CYP3A44 (69) CYP3A11 (73) CYP3A1A (71) CYP3A1B (71) CYP3A25 (70)	CYP3A10 (50) CYP3A9 (50)	CYP3A9 (72) CYP3A1 (72)	CYP3A14 (71) CYP3A17 (70)	CYP3A (50)	CYP3A6 (76)	CYP3A132 (78) CYP3A131 (79)	CYP3A12 (81)	CYP3A22 (72) CYP3A48 (75) CYP3A22 (70)	CYP3A29 (60) CYP3A (80)	CYP3A4 (90)	-

Изоферменты цитохрома P450 человека	Мыши	Хомяки	Крысы	Морские свинки	Хорьки	Кролики	Кошки	Собаки	Свиньи	Минипиги	Обезьяны	
											Мармозетки	Макаки-резус
CYP3A5	CYP3A13 (74)											
	CYP3A16 (70)											
	CYP3A44 (70)		CYP3A9 (73) CYP3A1 (72) CYP3A23 (71)	CYP3A14 (70) CYP3A17 (69)	-	CYP3A6 (75)	CYP3A132 (78) CYP3A131 (78)	CYP3A12 (79) CYP3A26 (77)	CYP3A22 (69)	CYP3A29 (60)	CYP3A5 (89)	CYP3A66 (90)
	CYP3A11 (73)	-										
	CYP3A41A (72) CYP3A41B (72)											
CYP3A7	CYP3A13 (72)											
	CYP3A16 (68)											
	CYP3A44 (67)		CYP3A9 (70) CYP3A1 (69) CYP3A23 (68)	CYP3A14 (69) CYP3A17 (67)	-	CYP3A6 (74)	CYP3A132 (74) CYP3A131 (74)	CYP3A12 (76)	CYP3A22 (68)	-	CYP3A4 (86)	CYP3A5 (86)
	CYP3A11 (70)	-										
	CYP3A41A (69) CYP3A41B (69)											
CYP4F2	CYP4F14 (79) CYP4F15 (78) CYP4F40 (77)	CYP4F6 (50) CYP4F4 (50)	CYP4F1 (79) CYP4F4 (79) CYP4F18 (78) CYP4F40 (79)	-	CYP4F8 (50) CYP4F6 (50)	-	-	-	-	-	CYP4F2 (82)	CYP4F2 (94)
	CYP4F14 (79) CYP4F15 (77) CYP4F40 (78)	CYP4F5 (50)	CYP4F1 (79) CYP4F4 (78) CYP4F40 (80)	-	-	-	-	-	CYP4F3 (50)	-	-	CYP4F11 (91)
CYP4F12	CYP4F14 (75) CYP4F15 (74) CYP4F40 (74)	CYP4F6(50) CYP4F1(50)	CYP4F1 (75) CYP4F4 (74) CYP4F40 (74)	-	-	-	-	CYP4F22 (50)	-	-	CYP4F12 (84)	CYP4F12 (92)

Примечание: в скобках указан процент

Note: percentage of similarity with the corresponding human ortholog is indicated in parentheses

ность выше, зато активность CYP1A кроликов ниже. Ортолог CYP1A собак аналогичен человеческому, но они метаболизируют вещества с разной эффективностью. CYP1A2 обнаружен у всех рассмотренных в обзоре лабораторных видов животных. Показана выраженная идентичность данного фермента с ортологом человека. Подводя итог сравнения подсемейства между CYP1A человека и его аналогами у лабораторных животных, можно сделать заключение о том, что, в целом, ортологи проявляют схожую активность. И в случае, если изучаемое лекарственное вещество метаболизируется в большей степени посредством CYP1A, можно ожидать схожие эффекты как у человека, так и у лабораторных животных.

У млекопитающих семейство CYP2 содержит наиболее разнообразную группу CYP. Большинство CYP2 остаются неизвестными либо не совпадающими между видами. Аналоги мышей, крыс и кроликов значительно отличаются по структуре и функциям подсемейств CYP2A, CYP2B, CYP2C и CYP2D человека (табл. 1). Сопоставляя данную информацию со структурным сходством (табл. 2) семейства CYP2 мышей, крыс и кроликов с ортологами человека, можно заметить, что у рассматриваемых лабораторных животных существует большее количество различных изоферментов CYP2, обладающих разной каталитической активностью. Данное несоответствие может объяснять разницу в фармакокинетике и фармакодинамике одних и тех же препаратов у рассматриваемых лабораторных видов и человека.

Совершенно другая ситуация у свиней. У них присутствует зависимость — активность CYP2A более высокая у самцов, чем у самок, а у человека наоборот. А CYP2C49 свиней имеет 82 %, 83 % и 85 % идентичность нуклеотидов с CYP2C8, CYP2C9 и CYP2C18 человека соответственно. А количество CYP2D в организме свиней значительно ниже, чем у человека и других видов, что в свою очередь может привести к появлению разных эффектов или интенсивности на прием одного и того же тестируемого объекта между человеком и свиньей. У кошек и собак CYP2A осуществляет каталитическую активность медленнее, чем у человека. Ортологи CYP2B и CYP2C кошек — либо совсем не экспрессируются в печени животного, либо в очень незначительных количествах, тем самым они не играют значительной роли в метаболизме лекарственных веществ. CYP2B собак значительно различается в строении и функциях от такового у человека, а семейство CYP2C значительно варьируется в зависимости от породы. CYP2D собак в целом схож по структуре и функ-

циям с ортологом человека, а подсемейство CYP2D кошек аналогично таковому у собак, но у самцов активность ниже. Активность CYP2A, CYP2B, CYP2C, CYP2D яванских макак и макак-резусов, в целом, аналогична таковой у человека. Это подтверждается как структурным сходством (табл. 2), так и способностью к метаболизму одних и тех же препаратов. Подсемейство CYP2E имеет значительное сходство с ортологом человека и мышей, крыс, собак, свиней, кроликов и приматов. У кошек данный фермент менее активен, чем у человека.

CYP2 человека и грызунов в значительной степени отличаются как по структурным, так и по функциональным особенностям, что не может гарантировать адекватной экстраполяции на человека. Стоит ли планировать проведение доклинических исследований лекарственного вещества на данных видах лабораторных животных, если заведомо известно, что метаболизм исследуемого соединения у человека будет осуществляется в основном посредством CYP2? Не все так однозначно. С одной стороны, эти исследования могут дать начальную информацию об эффектах тестируемого объекта или оценить его токсичность. Но, конечно, прогностическая ценность таких исследований будет значительно ниже, чем, к примеру, исследования на свиньях или приматах. За последние годы становится очевидным, что свиньи более похожи на людей в отношении регуляции генов CYP и метаболизма лекарственных веществ по сравнению с мышами и крысами. Примером разного метаболизма веществ посредством семейства CYP2 между видами является биотрансформация толбутамида, варфарина и мефенитоина с помощью CYP2C у собак и человека. Мыши и обезьяны показывают более низкую биодоступность лозартана (CYP2C), по сравнению с человеком при пероральном применении, но биодоступность у крыс, собак и мини-пигов была схожа с биодоступностью у людей. Другим примером является омепразол, также метаболизируемый преимущественно CYP2C. При пероральном применении у собак, обезьян и мини-пигов биодоступность в несколько раз ниже, чем у человека, и заметно ниже у мышей и крыс. Еще одним примером является метаболизм ритонавира и большинства ингибиторов обратного захвата серотонина посредством CYP2D у мышей и крыс. Данные процессы биотрансформации значительно отличаются от аналогичных у человека.

У мышей и крыс подсемейство CYP3A хотя и схоже с человеческими ортологами, но существуют структурные различия, которые следует учитывать в ходе планирования исследования. К тому же у крыс очень много различных изоформ данного

подсемейства, что ведет к разделению функциональной активности. Также у крыс выявлен половой диморфизм, о котором говорилось ранее. Все это в совокупности опосредует проблемы при экстраполяции данных с крысы на человека. Например, противогрибковый препарат кетоконазол, который является ингибитором CYP3A у людей и свиней, но не у крыс [102], однако другой противогрибковый препарат, клотримазол — является ингибитором CYP3A у крыс, но не у людей [103]. У кошек активность подсемейства CYP3A значительно ниже, чем у человека, особенно у самцов. Выявлены различия в метаболизме дексаметазона и мидазолама у собак и человека, хотя рифампицин метаболизируется у человека и собак одинаково, что свидетельствует о функциональных и структурных различиях между видами. У свиней зарегистрирована высокая степень сходства между ортологами CYP3A. А у макаков данное подсемейство практически идентично человеческому, но активность в 5 раз выше, чем у человека. Известно, что мидазолам метаболизируется в основном с помощью CYP3A у людей, мышей, крыс, собак, обезьян и свиней. Было показано, что биодоступность мидазолама при пероральном применении у человека схожа с таковой у мини-пиггов, тогда как у крыс, мышей и обезьян она примерно в 3 раза выше.

Заключение

Экспериментальный подход выбора тест-системы в доклинических исследованиях основан на системах метаболизма изучаемых веществ у животных и используется для прогнозирования и экстраполяции кинетики и токсичности на человека. Однако принцип межвидового сравнения подвергается критическому анализу ввиду определенных ограничений, поскольку конкретные изоформы экспрессируются в разных видах, и даже при высокой степени идентичности между изоформами это не означает сходную каталитическую активность. Выбор релевантного вида животных для использования в доклинических исследованиях является сложной задачей, и, в зависимости от конкретного типа исследования (например, метаболизм, индукция или ингибирование определенного вещества) могут потребоваться различные модели *in vivo*. Ни один из видов животных не является полностью схожим с человеком в отношении активности всех ферментов CYP. Оценка абсолютного количества изоформ CYP у разных животных и в разных органах поможет выявить и понять видовые различия с точки зрения органной специфичности и каталитической активности, а также предсказать метаболический

клиренс у человека. Однако сходство между видами стоит искать не в полной совокупности всей системы цитохрома P450, а у отдельных, наиболее важных подсемейств или ферментов, играющих значительную роль в метаболизме конкретного соединения в конкретной моделируемой ситуации. В данном обзоре поднимались вопросы различия и схожести человека и лабораторных животных только в контексте системы цитохрома P450, никакие другие особенности не учитывались.

Таким образом, подводя общий итог обзора, мы понимаем, что нет необходимости в выборе наиболее схожей с человеком *in vivo* модели для доклинических исследований с точки зрения метаболизма изучаемого объекта. Вместо этого в исследованиях необходимо использовать другой подход. Например, если исследуемый объект интенсивно метаболизируется CYP2D, что приводит к активным схожим метаболитам, использование животного со схожим CYP2D было бы оправдано. Другими словами, вместо того, чтобы искать глобальное метаболическое сходство, можно сосредоточиться на отдельных специфических ферментах и метаболических путях, для которых показано близкое сходство по отношению к человеку.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Finnigan JD, Young C, Cook DJ, et al. Cytochromes P450 (P450s): A review of the class system with a focus on prokaryotic P450s. *Adv Protein Chem Struct Biol.* 2020; 122:289–320. DOI: 10.1016/bs.apcsb.2020.06.005.
2. Werck-Reichhart D, Feyereisen R. Cytochromes P450: a success story. *Genome Biol.* 2000; 1(6):REVIEWS3003. DOI: 10.1186/gb-2000-1-6-reviews3003.
3. Manikandan P, Nagini S. Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review. *Curr Drug Targets.* 2018; 19(1):38–54. DOI: 10.2174/1389450118666170125144557.
4. Pan ST, Xue D, Li ZL, et al. Computational Identification of the Paralogs and Orthologs of Human Cytochrome P450 Superfamily and the Implication in Drug Discovery. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(7):1020. DOI: 10.3390/ijms17071020.
5. Nebert DW, Russell DW. Clinical importance of the cytochromes P450. *Lancet.* 2002; 360(9340):1155–1162. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)11203-7.
6. He ZX, Chen XW, Zhou ZW, et al. Impact of physiological, pathological and environmental

factors on the expression and activity of human cytochrome P450 2D6 and implications in precision medicine. *Drug Metab Rev.* 2015; 47(4):470–519. DOI: 10.3109/03602532.2015.1101131.

7. Zhang JY, Wang Y, Prakash C. Xenobiotic-metabolizing enzymes in human lung. *Curr Drug Metab.* 2006; 7(8):939–948. DOI: 10.2174/138920006779010575.

8. Hrycay EG, Bandiera SM. Expression, function and regulation of mouse cytochrome P450 enzymes: comparison with human P450 enzymes. *Curr Drug Metab.* 2009; 10(10):1151–1183. DOI: 10.2174/138920009790820138.

9. Blanco JG, Harrison PL, Evans WE, et al. Human cytochrome P450 maximal activities in pediatric versus adult liver. *Drug Metab Dispos.* 2000; 28(4):379–382.

10. Yokoi T. Essentials for starting a pediatric clinical study (1): Pharmacokinetics in children. *J Toxicol Sci.* 2009; 34 Suppl 2:SP307–312. DOI: 10.2131/jts.34.sp307.

11. Pelkonen O, Turpeinen M, Hakkola J, et al. Inhibition and induction of human cytochrome P450 enzymes: current status. *Arch Toxicol.* 2008; 82(10):667–715. DOI: 10.1007/s00204-008-0332-8.

12. Coleman MD. Human drug metabolism. New-York: John Wiley & Sons. 2020. p.688.

13. Faqi AS. A comprehensive guide to toxicology in preclinical drug development. New-York: Academic Press. 2012. p.1024.

14. Martignoni M, Groothuis GM, de Kanter R. Species differences between mouse, rat, dog, monkey and human CYP-mediated drug metabolism, inhibition and induction. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2006; 2(6):875–894. DOI: 10.1517/17425255.2.6.875.

15. Dalgaard L. Comparison of minipig, dog, monkey and human drug metabolism and disposition. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2015; 74:80–92. DOI: 10.1016/j.vascn.2014.12.005.

16. Bogaards JJ, Bertrand M, Jackson P, et al. Determining the best animal model for human cytochrome P450 activities: a comparison of mouse, rat, rabbit, dog, micropig, monkey and man. *Xenobiotica.* 2000; 30(12):1131–1152. DOI: 10.1080/00498250010021684.

17. Turpeinen M, Ghiciuc C, Opritou M, et al. Predictive value of animal models for human cytochrome P450 (CYP)-mediated metabolism: a comparative study in vitro. *Xenobiotica.* 2007; 37(12):1367–1377. DOI: 10.1080/00498250701658312.

18. Sharma V, McNeill JH. To scale or not to scale: the principles of dose extrapolation. *Br J Pharmacol.* 2009; 157(6):907–921. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00267.x.

19. Zhang D, Luo G, Ding X, et al. Preclinical experimental models of drug metabolism and disposition in drug discovery and development. *Acta Pharmaceutica Sinica B.* 2012; 2(6):549–561. DOI: 10.1016/J.APSB.2012.10.004.

20. Jolivet LJ, Ward KW. Extrapolation of human pharmacokinetic parameters from rat, dog, and monkey data: Molecular properties associated with extrapolative

success or failure. *J Pharm Sci.* 2005; 94(7):1467–1483. DOI: 10.1002/jps.20373.

21. Lewis DF, Ioannides C, Parke DV. Cytochromes P450 and species differences in xenobiotic metabolism and activation of carcinogen. *Environ Health Perspect.* 1998; 106(10):633–641. DOI: 10.1289/ehp.98106633.

22. Hammer H, Schmidt F, Marx-Stoelting P, et al. Cross-species analysis of hepatic cytochrome P450 and transport protein expression. *Arch Toxicol.* 2021; 95(1):117–133. DOI: 10.1007/s00204-020-02939-4.

23. Sezutsu H, Le Goff G, Feyereisen R. Origins of P450 diversity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2013; 368(1612):20120428. DOI: 10.1098/rstb.2012.0428.

24. Chun YJ, Kim MY, Guengerich FP. Resveratrol is a selective human cytochrome P450 1A1 inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 262(1):20–24. DOI: 10.1006/bbrc.1999.1152.

25. Walsh AA, Szklarz GD, Scott EE. Human cytochrome P450 1A1 structure and utility in understanding drug and xenobiotic metabolism. *J Biol Chem.* 2013; 288(18):12932–12943. DOI: 10.1074/jbc.M113.452953.

26. Nebert DW, Wikvall K, Miller WL. Human cytochromes P450 in health and disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2013; 368(1612):20120431. DOI: 10.1098/rstb.2012.0431.

27. Zhou SF, Yang LP, Zhou ZW, et al. Insights into the substrate specificity, inhibitors, regulation, and polymorphisms and the clinical impact of human cytochrome P450 1A2. *AAPS J.* 2009; 11(3):481–494. DOI: 10.1208/s12248-009-9127-y.

28. Murray GI, Melvin WT, Greenlee WF, et al. Regulation, function, and tissue-specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2001; 41:297–316. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.41.1.297.

29. Hasler JA, Estabrook R, Murray M, et al. Human cytochromes P450. *Molecular aspects of medicine.* 1999; 20(1–2):1–137. DOI: 10.1016/S0098-2997(99)00005-9.

30. Lewis DF. 57 varieties: the human cytochromes P450. *Pharmacogenomics.* 2004; 5(3):305–318. DOI: 10.1517/phgs.5.3.305.29827.

31. Tompkins LM, Wallace AD. Mechanisms of cytochrome P450 induction. *J Biochem Mol Toxicol.* 2007; 21(4):176–181. DOI: 10.1002/jbt.20180.

32. Elfaki I, Mir R, Almutairi FM, et al. Cytochrome P450: Polymorphisms and Roles in Cancer, Diabetes and Atherosclerosis. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018; 19(8):2057–2070. DOI: 10.22034/APJCP.2018.19.8.2057.

33. Hiroi T, Chow T, Imaoka S, et al. Catalytic specificity of CYP2D isoforms in rat and human //Drug metabolism and disposition. 2002; 30(9): 970–976. DOI: 10.1124/dmd.30.9.970.

34. Sweeney BP, Grayling M. Smoking and anaesthesia: the pharmacological implications. *Anaesthesia.* 2009; 64(2):179–186. DOI: 10.1111/j.1365-2044.2008.05686.x.

35. Pan ST, Xue D, Li ZL, et al. Computational Identification of the Paralogs and Orthologs of Human Cytochrome P450 Superfamily and the Implication in Drug Discovery. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(7):1020. DOI: 10.3390/ijms17071020.
36. Funae Y, Imaoka S. Cytochrome P450 in rodents. *Cytochrome P450*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1993; 221–238. DOI: 10.1007/978-3-642-77763-9_15.
37. Kapelyukh Y, Henderson CJ, Scheer N, et al. Defining the Contribution of CYP1A1 and CYP1A2 to Drug Metabolism Using Humanized CYP1A1/1A2 and Cyp1a1/Cyp1a2 Knockout Mice. *Drug Metab Dispos.* 2019; 47(8):907–918. DOI: 10.1124/dmd.119.087718.
38. Muruganandan S, Sinal CJ. Mice as clinically relevant models for the study of cytochrome P450-dependent metabolism. *Clin Pharmacol Ther.* 2008; 83(6):818–828. DOI: 10.1038/clpt.2008.50.
39. Graves JP, Gruzdev A, Bradbury JA, et al. Characterization of the Tissue Distribution of the Mouse Cyp2c Subfamily by Quantitative PCR Analysis. *Drug Metab Dispos.* 2017; 45(7):807–816. DOI: 10.1124/dmd.117.075697.
40. Nelson DR, Zeldin DC, Hoffman SM, et al. Comparison of cytochrome P450 (CYP) genes from the mouse and human genomes, including nomenclature recommendations for genes, pseudogenes and alternative-splice variants. *Pharmacogenetics.* 2004; 14(1):1–18. DOI: 10.1097/00008571-200401000-00001.
41. Cui JY, Renaud HJ, Klaassen CD. Ontogeny of novel cytochrome P450 gene isoforms during postnatal liver maturation in mice. *Drug Metab Dispos.* 2012; 40(6):1226–1237. DOI: 10.1124/dmd.111.042697.
42. Sakuma T, Takai M, Endo Y, et al. A novel female-specific member of the CYP3A gene subfamily in the mouse liver. *Arch Biochem Biophys.* 2000; 377(1):153–162. DOI: 10.1006/abbi.2000.1747.
43. Dai D, Bai R, Hodgson E, et al. Cloning, sequencing, heterologous expression, and characterization of murine cytochrome P450 3a25* (Cyp3a25), a testosterone 6 β -hydroxylase. *J Biochem Mol Toxicol.* 2001; 15(2):90–99. DOI: 10.1002/jbt.4.
44. van Heeswijk RP, Dannemann B, Hoetelmans RM. Bedaquiline: a review of human pharmacokinetics and drug-drug interactions. *J Antimicrob Chemother.* 2014; 69(9):2310–2318. DOI: 10.1093/jac/dku171.
45. Shimada T, Mimura M, Inoue K, et al. Cytochrome P450-dependent drug oxidation activities in liver microsomes of various animal species including rats, guinea pigs, dogs, monkeys, and humans. *Arch Toxicol.* 1997; 71(6):401–408. DOI: 10.1007/s002040050403.
46. Budinsky RA, LeCluyse EL, Ferguson SS, et al. Human and rat primary hepatocyte CYP1A1 and 1A2 induction with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran, and 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran. *Toxicol Sci.* 2010; 118(1):224–235. DOI: 10.1093/toxsci/kfq238.
47. Sridhar J, Goyal N, Liu J, et al. Review of Ligand Specificity Factors for CYP1A Subfamily Enzymes from Molecular Modeling Studies Reported to-Date. *Molecules.* 2017; 22(7):1143. DOI: 10.3390/molecules22071143.
48. Kobayashi K, Urashima K, Shimada N, et al. Selectivities of human cytochrome P450 inhibitors toward rat P450 isoforms: study with cDNA-expressed systems of the rat. *Drug Metab Dispos.* 2003; 31(7):833–836. DOI: 10.1124/dmd.31.7.833.
49. Eagling VA, Tjia JF, Back DJ. Differential selectivity of cytochrome P450 inhibitors against probe substrates in human and rat liver microsomes. *Br J Clin Pharmacol.* 1998; 45(2):107–114. DOI: 10.1046/j.1365-2125.1998.00679.x.
50. Waxman DJ, Chang TKH. Hormonal Regulation of Liver Cytochrome P450 Enzymes. *Cytochrome P450*. Springer, Cham. 2015; 813–850. DOI: 10.1007/978-3-319-12108-6_11.
51. Boyle SP, Craft JA. The effect of gender, sexual maturation and xenobiotic treatment on the formation of hydroxymethyl metabolites from 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene in rat liver microsomes. *Toxicol Lett.* 2000; 117(1-2):1–9. DOI: 10.1016/s0378-4274(00)00230-7.
52. Imaoka S, Hashizume T, Funae Y. Localization of rat cytochrome P450 in various tissues and comparison of arachidonic acid metabolism by rat P450 with that by human P450 orthologs. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2005; 20(6):478–484. DOI: 10.2133/dmpk.20.478.
53. Waxman DJ, Holloway MG. Sex differences in the expression of hepatic drug metabolizing enzymes. *Molecular pharmacology.* 2009; 76(2): 215–228. DOI: 10.1124/mol.109.056705.
54. Kushida H, Matsumoto T, Ikarashi Y, et al. Gender differences in plasma pharmacokinetics and hepatic metabolism of geissoschizine methyl ether from *Uncaria hook* in rats. *J Ethnopharmacol.* 2021; 264:113354. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113354.
55. DeLozier TC, Tsao CC, Coulter SJ, et al. CYP2C44, a new murine CYP2C that metabolizes arachidonic acid to unique stereospecific products. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2004; 310(3): 845–854. DOI: 10.1124/JPET.104.067819.
56. Parkinson A. An overview of current cytochrome P450 technology for assessing the safety and efficacy of new materials. *Toxicol Pathol.* 1996; 24(1):48–57.
57. Edmund GHC, Lewis DFV, Howlin BJ. Modelling Species Selectivity in Rat and Human Cytochrome P450 2D Enzymes. *PLOS ONE.* 2013; 8(5): e63335. DOI: 10.1371/journal.pone.0063335.
58. Lewis DF, Bird MG, Parke DV. Molecular modelling of CYP2E1 enzymes from rat, mouse and man: an explanation for species differences in butadiene metabolism and potential carcinogenicity, and rationalization of CYP2E substrate specificity. *Toxicology.* 1997; 118(2–3):93–113. DOI: 10.1016/s0300-483x(96)03583-4.

59. Gonzalez FJ, Fang ZZ, Ma X. Transgenic mice and metabolomics for study of hepatic xenobiotic metabolism and toxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2015; 11(6):869–881. DOI: 10.1517/17425255.2015.1032245.
60. Dayyih WA, Hamad M. Determination of Sitagliptin Levels in Rats Serum by HPLC and its Pharmacokinetic Investigation in Existence of Sucralose. *Indonesian Journal of Pharmacy.* 2018; 29(3):117. DOI: 10.14499/indonesianjpharm29iss3pp117.
61. Zuber R, Anzenbacherová E, Anzenbacher P. Cytochromes P450 and experimental models of drug metabolism. *J Cell Mol Med.* 2002; 6(2):189–198. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2002.tb00186.x.
62. Hrycay EG, Bandiera SM. Cytochrome P450 enzymes. In ed. by Shayne CG: *Preclinical development handbook: ADME and biopharmaceutical properties*. Hoboken: Wiley. 2008: 627–696. DOI: 10.1002/9780470249031.ch18.
63. Tang W, Stearns RA, Wang RW, et al. Roles of human hepatic cytochrome P450s 2C9 and 3A4 in the metabolic activation of diclofenac. *Chem Res Toxicol.* 1999; 12(2):192–199. DOI: 10.1021/tx9802217.
64. Mori T, Itoh S, Ohgiya S, et al. Regulation of CYP1A and CYP3A mRNAs by ascorbic acid in guinea pigs. *Arch Biochem Biophys.* 1997; 348(2):268–277. DOI: 10.1006/abbi.1997.0409.
65. Souma S, Sekimoto M, Degawa M. Species difference in the induction of hepatic CYP1A subfamily enzymes, especially CYP1A2, by 2-methoxy-4-nitroaniline among rats, mice, and guinea pigs. *Arch Toxicol.* 2006; 80(11):739–747. DOI: 10.1007/s00204-006-0103-3.
66. Lv X, Li JX, Wang JY, et al. Regioselective hydroxylation of carbendazim by mammalian cytochrome P450: A combined experimental and computational study. *Environ Pollut.* 2022; 293:118523. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.118523.
67. Fletcher N, Hanberg A, Håkansson H. Hepatic vitamin A depletion is a sensitive marker of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) exposure in four rodent species. *Toxicol Sci.* 2001; 62(1):166–175. DOI: 10.1093/toxsci/62.1.166.
68. Steensma A, Beamand JA, Walters DG, et al. Metabolism of coumarin and 7-ethoxycoumarin by rat, mouse, guinea pig, cynomolgus monkey and human precision-cut liver slices. *Xenobiotica.* 1994; 24(9):893–907. DOI: 10.3109/00498259409043288.
69. Schwartz PS, Waxman DJ. Cyclophosphamide induces caspase 9-dependent apoptosis in 9L tumor cells. *Mol Pharmacol.* 2001; 60(6):1268–1279. DOI: 10.1124/mol.60.6.1268.
70. Waxman DJ, Attisano C, Guengerich FP, et al. Human liver microsomal steroid metabolism: identification of the major microsomal steroid hormone 6 beta-hydroxylase cytochrome P-450 enzyme. *Arch. Biochem. Biophys.* 1988; 263: 424–436. DOI: 10.1016/0003-9861(88)90655-8.
71. Yamamoto Y, Ishizuka M, Takada A, et al. Cloning, tissue distribution, and functional expression of two novel rabbit cytochrome P450 isozymes, CYP2D23 and CYP2D24. *J Biochem.* 1998; 124(3):503–508. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a022141.
72. Ding XX, Pernecky SJ, Coon MJ. Purification and characterization of cytochrome P450 2E2 from hepatic microsomes of neonatal rabbits. *Arch Biochem Biophys.* 1991; 291(2):270–276. DOI: 10.1016/0003-9861(91)90134-5.
73. van Beusekom CD, Schipper L, Fink-Gremmels J. Cytochrome P450-mediated hepatic metabolism of new fluorescent substrates in cats and dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2010; 33(6):519–527. DOI: 10.1111/j.1365-2885.2010.01199.x.
74. Okamatsu G, Kawakami K, Komatsu T, et al. Functional expression and comparative characterization of four feline P450 cytochromes using fluorescent substrates. *Xenobiotica.* 2017; 47(11):951–961. DOI: 10.1080/00498254.2016.1257172.
75. Court MH, Greenblatt DJ. Molecular genetic basis for deficient acetaminophen glucuronidation by cats: UGT1A6 is a pseudogene, and evidence for reduced diversity of expressed hepatic UGT1A isoforms. *Pharmacogenetics.* 2000; 10(4):355–369. DOI: 10.1097/00008571-200006000-00009.
76. Okamatsu G, Komatsu T, Ono Y, et al. Characterization of feline cytochrome P450 2B6. *Xenobiotica.* 2017; 47(2):93–102. DOI: 10.3109/00498254.2016.1145754.
77. Shah SS, Sanda S, Regmi NL, et al. Characterization of cytochrome P450-mediated drug metabolism in cats. *J Vet Pharmacol Ther.* 2007; 30(5):422–428. DOI: 10.1111/j.1365-2885.2007.00902.x.
78. Visser M. Canine and Feline Differences in the Cytochrome P450 Transcriptome and Drug Metabolism. <https://etd.auburn.edu/handle/10415/6108> (17 April 2018)
79. Zhou SF, Wang B, Yang LP, et al. Structure, function, regulation and polymorphism and the clinical significance of human cytochrome P450 1A2. *Drug Metab Rev.* 2010; 42(2):268–354. DOI: 10.3109/03602530903286476.
80. Mise M, Hashizume T, Komuro S. Characterization of substrate specificity of dog CYP1A2 using CYP1A2-deficient and wild-type dog liver microsomes. *Drug Metab Dispos.* 2008; 36(9):1903–1908. DOI: 10.1124/dmd.108.022301.
81. Whiterock VJ, Morgan DG, Lentz KA, et al. Phenacetin pharmacokinetics in CYP1A2-deficient beagle dogs. *Drug Metab Dispos.* 2012; 40(2):228–231. DOI: 10.1124/dmd.111.041848.
82. Yamamiya I, Yoshisue K, Ishii Y, et al. Species variation in the enantioselective metabolism of tegafur to 5-fluorouracil among rats, dogs and monkeys. *J Pharm Pharmacol.* 2014; 66(12):1686–1697. DOI: 10.1111/jphp.12304.
83. Xu L, Das B, Prakash C. CYP 450 Enzymes in Drug Discovery and Development: An Overview. In

- ed. by Lyubimov A, Encyclopedia of drug metabolism and interactions. Hoboken: Wiley. 2011: 1–35. DOI: 10.1002/9780470921920.edm117.
84. Court MH. Canine cytochrome P-450 pharmacogenetics. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2013; 43(5):1027–1038. DOI: 10.1016/j.cvs.2013.05.001.
85. Nishimuta H, Nakagawa T, Nomura N, et al. Species differences in hepatic and intestinal metabolic activities for 43 human cytochrome P450 substrates between humans and rats or dogs. *Xenobiotica.* 2013; 43(11):948–955. DOI: 10.3109/00498254.2013.787155.
86. Mills BM, Zaya MJ, Walters RR, et al. Current cytochrome P450 phenotyping methods applied to metabolic drug-drug interaction prediction in dogs. *Drug Metab Dispos.* 2010; 38(3):396–404. DOI: 10.1124/dmd.109.030429.
87. Chen J, Tran C, Xiao L, et al. Co-induction of CYP3A12 and 3A26 in dog liver slices by xenobiotics: species difference between human and dog CYP3A induction. *Drug Metab Lett.* 2009; 3(1):61–66. DOI: 10.2174/187231209787176399.
88. Skaanild MT, Friis C. Cytochrome P450 sex differences in minipigs and conventional pigs. *Pharmacol Toxicol.* 1999; 85(4):174–180. DOI: 10.1111/j.1600-0773.1999.tb00088.x.
89. Puccinelli E, Gervasi PG, Longo V. Xenobiotic metabolizing cytochrome P450 in pig, a promising animal model. *Curr Drug Metab.* 2011; 12(6):507–525. DOI: 10.2174/138920011795713698.
90. Skaanild MT. Porcine cytochrome P450 and metabolism. *Curr Pharm Des.* 2006; 12(11):1421–1427. DOI: 10.2174/138161206776361183.
91. Millemcam J, De Clerck L, Govaert E, et al. The Ontogeny of Cytochrome P450 Enzyme Activity and Protein Abundance in Conventional Pigs in Support of Preclinical Pediatric Drug Research. *Front Pharmacol.* 2018; 9:470. DOI: 10.3389/fphar.2018.00470.
92. Skaanild MT, Friis C. Is bupropion a more specific substrate for porcine CYP2E than chlorzoxazone and p-nitrophenol? *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2007; 101(3):159–162. DOI: 10.1111/j.1742-7843.2007.00083.x.
93. Donato MT, Castell JV, Gómez-Lechón MJ. Characterization of drug metabolizing activities in pig hepatocytes for use in bioartificial liver devices: comparison with other hepatic cellular models. *J Hepatol.* 1999; 31(3):542–549. DOI: 10.1016/s0168-8278(99)80049-x.
94. Uno Y, Iwasaki K, Yamazaki H, et al. Macaque cytochromes P450: nomenclature, transcript, gene, genomic structure, and function. *Drug Metab Rev.* 2011; 43(3):346–361. DOI: 10.3109/03602532.2010.549492.
95. Mitsuda M, Iwasaki M, Asahi S. Cynomolgus monkey cytochrome P450 2C43: cDNA cloning, heterologous expression, purification and characterization. *J Biochem.* 2006; 139(5):865–872. DOI: 10.1093/jb/mvj093.
96. Emoto C, Yoda N, Uno Y, et al. Comparison of p450 enzymes between cynomolgus monkeys and humans: p450 identities, protein contents, kinetic parameters, and potential for inhibitory profiles. *Curr Drug Metab.* 2013; 14(2):239–252.
97. Narimatsu S, Nakata T, Shimizudani T, et al. Regio- and stereoselective oxidation of propranolol enantiomers by human CYP2D6, cynomolgus monkey CYP2D17 and marmoset CYP2D19. *Chem Biol Interact.* 2011; 189(3):146–152. DOI: 10.1016/j.cbi.2010.12.014.
98. Uno Y, Kito G. Effect of estradiol on gene expression profile in cynomolgus macaque liver: implications for drug-metabolizing enzymes. *Drug Metab Dispos.* 2011; 39(11):2003–2007. DOI: 10.1124/dmd.111.041004.
99. Shahabi P, Siest G, Meyer UA, et al. Human cytochrome P450 epoxigenases: variability in expression and role in inflammation-related disorders. *Pharmacol Ther.* 2014; 144(2):134–161. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.05.011.
100. Rodriguez-Antona C, Ingelman-Sundberg M. Cytochrome P450 pharmacogenetics and cancer. *Oncogene.* 2006; 25(11):1679–1691. DOI: 10.1038/sj.onc.1209377.
101. Koopmans AB, Braakman MH, Vinkers DJ, et al. Meta-analysis of probability estimates of worldwide variation of CYP2D6 and CYP2C19. *Transl Psychiatry.* 2021; 11(1):141. DOI: 10.1038/s41398-020-01129-1.
102. Elsherbiny ME, El-Kadi AO, Brocks DR. The metabolism of amiodarone by various CYP isoenzymes of human and rat, and the inhibitory influence of ketoconazole. *J Pharm Pharm Sci.* 2008; 11(1):147–159. DOI: 10.18433/j3sg66.
103. Turan VK, Mishin VM, Thomas PE. Clotrimazole is a selective and potent inhibitor of rat cytochrome P450 3A subfamily-related testosterone metabolism. *Drug Metab Dispos.* 2001; 29(6):837–842.
104. Pasanen M. Species differences in CYP enzymes. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia.* <https://core.ac.uk/download/pdf/230312707.pdf> (2004)
105. Antonovic L, Martinez M. Role of the cytochrome P450 enzyme system in veterinary pharmacokinetics: where are we now? Where are we going? *Future Med Chem.* 2011; 3(7):855–879. DOI: 10.4155/fmc.11.37.
106. Mosher CM, Court MH. Comparative and veterinary pharmacogenomics. *Handb Exp Pharmacol.* 2010; (199):49–77. DOI: 10.1007/978-3-642-10324-7_3.
107. Fink-Gremmels J. Implications of hepatic cytochrome P450-related biotransformation processes in veterinary sciences. *Eur J Pharmacol.* 2008; 585(2–3):502–509. DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.03.013.
108. Uno Y, Matsuno K, Nakamura C, et al. Cloning, expression, and characterization of CYP3A43 cDNA in cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*). *Drug Metab Lett.* 2009; 3(4):228–233. DOI: 10.2174/187231209790218127.
109. Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme

activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther.* 2013 Apr;138(1):103–41. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.12.007. Epub 2013 Jan 16. PMID: 23333322.

110. Drug Interactions Flockhart Table. <https://drug-interactions.medicine.iu.edu/MainTable.aspx> (March 2022).

111. Alfentanil <https://go.drugbank.com/drugs/DB00802> (March 2022).

112. Inhibitors, inducers and substrates of cytochrome p450 isozymes. https://www.d.umn.edu/~jfitzake/Lectures/DMED/TAA/Q_A/CYP450InteractionTable.htm (March 2022).

113. Drug Development and Drug Interactions | Table of Substrates, Inhibitors and Inducers. <https://www.fda.gov/drugs/drug-interactions-labeling/drug-development-and-drug-interactions-table-substrates-inhibitors-and-inducers> (March 2022).

114. List of cytochrome P450 modulators https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_cytochrome_P450_modulators (March 2022).

115. Li Y, Meng Q, Yang M, et al. Current trends in drug metabolism and pharmacokinetics. *Acta Pharm Sin B.* 2019; 9(6):1113–1144. DOI: 10.1016/j.apsb.2019.10.001.

116. Raunio H, Kuusisto M, Juvonen RO, et al. Modeling of interactions between xenobiotics and cytochrome P450 (CYP) enzymes. *Front Pharmacol.* 2015; 6:123. DOI: 10.3389/fphar.2015.00123.

117. Dey A. Cytochrome P450 2E1: its clinical aspects and a brief perspective on the current research scenario. *Subcell Biochem.* 2013; 67:1–104. DOI: 10.1007/978-94-007-5881-0_1.

118. De Montellano PRO. Cytochrome P450: structure, mechanism, and biochemistry. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. 2005. p.115.

119. Preissner S, Kuzman D, Pischon N. Drug interactions involving the cytochrome P450 enzymes: Analysis of common combinations of antibiotics and pain relieving drugs. *J Drug Metab Toxicol.* 2012; 3:131. DOI: 10.4172/2157-7609.1000131.

120. Hrycay EG, Bandiera SM. Monooxygenase, peroxidase and peroxygenase properties and reaction mechanisms of cytochrome P450 enzymes. *Adv Exp Med Biol.* 2015; 851:1–61. DOI: 10.1007/978-3-319-16009-2_1.

121. Alyautdin RN, Preferanskiy NG, Preferanskaya NG. Pharmacology. GEOTAR-Media. 2016. p.704. In Russian [Аляутдин Р.Н., Преферанский Н.Г., Преферанская Н.Г. Фармакология. ГЭОТАР-Медиа. 2016. с.704.]

122. Niwa T, Morimoto M, Hirai T, et al. Effect of penicillin-based antibiotics, amoxicillin, ampicillin, and piperacillin, on drug-metabolizing activities of human hepatic cytochromes P450. *J Toxicol Sci.* 2016; 41(1):143–146. DOI: 10.2131/jts.41.143.

123. Park GR. Molecular mechanisms of drug metabolism in the critically ill. *Br J Anaesth.* 1996; 77(1):32–49. DOI: 10.1093/bja/77.1.32.

124. Zhou SF. Drugs behave as substrates, inhibitors and inducers of human cytochrome P450 3A4. *Curr Drug Metab.* 2008; 9(4):310–322. DOI: 10.2174/138920008784220664.

125. Lynch T, Price A. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *Am Fam Physician.* 2007; 76(3):391–396.

126. Anzenbacher P, Anzenbacherová E. Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics. *Cell Mol Life Sci.* 2001; 58(5–6):737–747. DOI: 10.1007/pl00000897.

127. Dekker SJ, Dohmen F, Vermeulen NPE, et al. Characterization of kinetics of human cytochrome P450s involved in bioactivation of flucloxacillin: inhibition of CYP3A-catalysed hydroxylation by sulfaphenazole. *Br J Pharmacol.* 2019; 176(3):466–477. DOI: 10.1111/bph.14548.

128. Ioannides C. Xenobiotic metabolism: an overview. In Ioannides C Enzyme systems that metabolise drugs and other xenobiotics. New-York: Willey. 2001: 1. DOI:10.1002/0470846305.

129. Sychev DA, Otdelenov VA, Denisenko NP, et al. The study of the activity of isoenzymes of cytochrome P450 for the prediction of drug-drug interactions of medicines in terms of polypharmacy. *Pharmacogenetics and Pharmacogenomics.* 2016; (2):4–11. In Russian [Сычѳв Д.А., Отделенов В.А., Денисенко Н.П. и др. Изучение активности изоферментов цитохрома P450 для прогнозирования межлекарственных взаимодействий лекарственных средств в условиях полипрагмазии. Фармакогенетика и фармакогеномика. 2016; (2):4–11.]

130. Jalaie M, Arimoto R, Gifford E, et al. Prediction of drug-like molecular properties: modeling cytochrome p450 interactions. *Methods Mol Biol.* 2004; 275:449–520. DOI: 10.1385/1-59259-802-1:449.

131. Jannetto PJ. Pharmacogenetics of Cytochrome P450 Enzymes. *Molecular Diagnostics.* Academic Press. 2010. 421–432. DOI: 10.1016/B978-0-12-369428-7.00034-3.

132. Esteves F, Rueff J, Kranendonk M. The Central Role of Cytochrome P450 in Xenobiotic Metabolism-A Brief Review on a Fascinating Enzyme Family. *J Xenobiot.* 2021; 11(3):94–114. DOI: 10.3390/jox11030007.

133. Lewis DF, Ito Y, Lake BG. Electronic and structural aspects of p450-mediated drug metabolism. *Drug Metab Lett.* 2009; 3(2):87–100. DOI: 10.2174/187231209788654090.

134. Parke DV, Ioannides C, Lewis DF. The 1990 Pharmaceutical Manufacturers Association of Canada keynote lecture. The role of the cytochromes P450 in the detoxication and activation of drugs and other chemicals. *Can J Physiol Pharmacol.* 1991; 69(5):537–549. DOI: 10.1139/y91-081.

135. Bolhuis MS, Panday PN, Pranger AD, et al. Pharmacokinetic drug interactions of antimicrobial drugs: a systematic review on oxazolidinones, rifamycines, macrolides, fluoroquinolones, and Beta-lactams. *Pharmaceutics.* 2011; 3(4):865–913. DOI: 10.3390/pharmaceutics3040865.

136. Rooney PH, Telfer C, McFadyen MC, et al. The role of cytochrome P450 in cytotoxic bioactivation: future therapeutic directions. *Curr Cancer Drug Targets*. 2004; 4(3):257–265. DOI: 10.2174/1568009043333014.

137. McDonnell AM, Dang CH. Basic review of the cytochrome p450 system. *J Adv Pract Oncol*. 2013; 4(4):263–268. DOI: 10.6004/jadpro.2013.4.4.7.

138. Ioannides C. Cytochrome p450 expression in the liver of food-producing animals. *Curr Drug Metab*. 2006; 7(4):335–348. DOI: 10.2174/138920006776873544.

139. Zhou SF, Xue CC, Yu XQ, et al. Clinically important drug interactions potentially involving mechanism-based inhibition of cytochrome P450 3A4 and the role of therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit*. 2007; 29(6):687–710. DOI: 10.1097/FTD.0b013e31815c16f5.

Информация об авторах:

Мирошников Михаил Владимирович, к.м.н., руководитель отдела лабораторной диагностики АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»;

Султанова Кира Тимуровна, к.м.н., руководитель отдела экспериментальной фармакологии и токсикологии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»;

Макарова Марина Николаевна, д.м.н., директор АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»;

Макаров Валерий Геннадьевич, д.м.н., профессор, научный руководитель АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ».

Author information:

Mikhail V. Miroshnikov, PhD, Head of Laboratory Diagnostics Department, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy”;

Kira T. Sultanova, PhD, Head of the Department of Experimental Pharmacology and Toxicology, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy”;

Marina N. Makarova, MD, Director, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy”;

Valery G. Makarov, M.D., professor, scientific supervisor, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy”.

АНАЛИЗ МЕЖИНДИВИДУАЛЬНОЙ ВАРИАЦИИ И РЕФЕРЕНТНЫЕ ИНТЕРВАЛЫ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТЕСТА ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Золотова Е. А.¹, Мельничникова О. С.¹, Симакова М. А.¹,
Жиленкова Ю. И.¹, Сироткина О. В.^{1,2,3}, Вавилова Т. В.¹

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

² Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Петербургский институт ядерной физики имени
Б. П. Константинова Национального исследовательского центра
«Курчатовский институт», Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет имени академика
И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Золотова Екатерина Алексеевна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: katerinazolotova1@gmail.com

Статья поступила в редакцию 21.10.2022
и принята к печати 28.11.2022.

Резюме

Актуальность. Тест генерации тромбина (ТГТ) как интегральный метод анализа каскада активации естественных про- и антикоагулянтов имеет практическое значение в оценке риска тромботических состояний и кровотечений. Однако применение метода ограничивает отсутствие стандартизации. **Цель.** Определить референтные интервалы внутри лаборатории и оценить межиндивидуальную вариацию показателей ТГТ для различных технологий. **Материалы и методы.** В исследование вошли 20 доноров. ТГТ проведен с помощью двух технологий: калиброванной автоматизированной тромбограммы на полуавтоматическом флуориметре (Технология 1) и автоматического измерения ГТ на коагулометре (Технология 2). Рассчитывались стандартные показатели ТГТ. Полученные результаты нормировались относительно пулированной нормальной плазмы. **Результаты.** Параметры тромбограммы показали высокий CVG (коэффициент межиндивидуальной вариации): от 14 до 32 % для Технологии 1 и от 7 до 36 % для Технологии 2. CVG значимо не менялся после нормализации данных ТГТ. Отмечены значимые различия ключевого показателя ЕТР (эндогенный тромбиновый потенциал). Референтные интервалы для Технологии 1 составили: ЕТР 1478,0–2595,0 нмоль/мин и пиковая концентрация тромбина (Peak thr.) 221,6–412,0 нмоль. РИ для Технологии 2: ЕТР 2451,00–3161,00 нмоль/мин и Peak thr. 161,60–479,30 нмоль. **Заключение.** Сравнение двух лабораторных технологий ТГТ выявило высокую межиндивидуальную вариацию. В связи с различиями в методиках постановки ТГТ, абсолютные значения отдельных параметров статистически значимо различаются за исключением LT. Таким образом, параметры ТГТ индивидуальны, и использование исследования в динамике для каждого конкретного индивида, вероятно, имеет большую информативность, чем применение РИ, полученных в общей популяции. Динамическое наблюдение за пациентом необходимо выполнять с применением одной технологии.

Ключевые слова: генерация тромбина, калиброванная автоматизированная тромбограмма, референтные интервалы, тест генерации тромбина.

Для цитирования: Золотова Е.А., Мельничникова О.С., Симакова М.А., Жиленкова Ю.И., Сироткина О.В. Вавилова Т.В. Анализ межиндивидуальной вариации и референтные интервалы показателей теста генерации тромбина при использовании различных технологий. Трансляционная медицина. 2022;9(5):78-86. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-78-86.

ANALYSIS OF INTER-INDIVIDUAL VARIATION AND REFERENCE INTERVALS OF THROMBIN GENERATION TEST PARAMETERS USING DIFFERENT TECHNOLOGIES

Ekaterina A. Zolotova¹, Olga S. Melnichnikova¹,
Maria A. Simakova¹, Yulia I. Zhilenkova¹, Olga V. Sirotkina^{1, 2, 3},
Tatiana V. Vavilova¹

Corresponding author:

Ekaterina A. Zolotova,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: katerinazolotova1@gmail.com

¹ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

² Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre "Kurchatov Institute", Saint Petersburg, Russia

³ First Pavlov State Medical University, Saint Petersburg, Russia

Received 21 October 2022; accepted
28 November 2022.

Abstract

Background. The thrombin generation test (TGT) as an integral method for analyzing the activation cascade of natural pro- and anticoagulants is of practical importance in assessing the risk of thrombotic conditions and bleeding, however its application is limited by the lack of standardization. **Objective.** To define reference intervals within the laboratory and assess inter-individual variation in TGT values for different technologies. **Design and methods.** The study included 20 donors. TGT was performed using two technologies: a calibrated automated thrombogram on a semi-automatic fluorometer (Technology 1) and automatic measurement of GT on a coagulometer (Technology 2). Obtained results were normalized to pooled normal plasma. **Results.** Thrombogram parameters showed a high CVG (coefficient of interindividual variation): 14–32 % for Technology 1 and 7–36 % for Technology 2. CVG did not change significantly after normalization. Significant differences in ETP (endogenous thrombin potential) were noted. The reference intervals for Technology 1 were: ETR 1478.0–2595.0 nmol/min and peak thrombin concentration (Peak thr.) 221.6–412.0 nmol. RI for Technology 2: ETP 2451.00–3161.00 nmol/min and Peak thr. 161.60–479.30 nmol. **Conclusion.** Comparison of the two laboratory TGT technologies revealed high inter-individual variation. Thus, the use of a study in dynamics for each specific individual is likely to be more informative than the use of RI obtained in the general population. Dynamic monitoring of the patient must be performed using one technology.

Key words: calibrated automated thrombogram, reference intervals, thrombin generation, thrombin generation test.

For citation: Zolotova EA, Melnichnikova OS, Simakova MA, Zhilenkova YuI, Sirotkina OV, Vavilova TV. Analysis of inter-individual variation and reference intervals of thrombin generation test indicators using different technologies. *Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine*. 2022;9(5):78-86. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-78-86.

Список сокращений: ГТ — генерация тромбина, КАТ — калиброванная автоматизированная тромбограмма, ТГТ — тест генерации тромбина, ТФ — тканевой фактор, ЕТР (от англ. endogenous thrombin potential) — эндогенный тромбоновый потенциал, LT (от англ. Lag time) — время инициации коагуляции, Peak thr. (от англ. Peak thrombin) — максимальная концентрация тромбина в образце, ttPeak (от англ. time to peak) — время достижения пика тромбина, VI (от англ. velocity index) — индекс скорости образования тромбина.

Введение

Тест генерации тромбина (ТГТ) — интегральный тест оценки кинетики образования тромбина в единицу времени после добавления в образцы плазмы реагентов, иницирующих каскад коагуляции. Впервые метод был описан в начале 1950-х годов, однако был полностью ручным, имел высокую погрешность и низкую воспроизводимость [1]. В последующем методика была модифицирована Н. Hemker с соавторами и стала полуавтоматической [2, 3]. В последние годы были введены несколько технологий для измерения образования тромбина. Классическим методом определения ГТ остается калиброванная автоматизированная тромбограмма (КАТ), преимуществом которой являются различные вариации применяемого материала: бедной (PPP) и богатой тромбоцитами плазмы (PRP), цельной крови, а также изучение активности системы протеина С и прокагулянтной активности микрочастиц. Однако эта технология обладает большой вариабельностью результатов теста, отсутствием контролей, единого протокола для преаналитического этапа, отсутствием стандартной концентрации и способа получения триггерных реагентов, что затрудняет ее применение в клинической практике. В последнее время появляются новые полностью автоматизированные приборы для ТГТ, такие как система ST Genesia (Diagnostica Stago), ЕТР innovance в коагулометрах Siemens BCS и BCS XP, Ceveron Alpha TGA (Technoclone). Вопрос стандартизации для этих технологий все еще остается открытым.

В условиях клиническо-диагностической лаборатории, несомненно, удобен и применим прибор, который способен выполнять коагулологические исследования (коагуляционные, хромогенные и турбидиметрические анализы) наряду с ТГТ, не прерывая основной работы. Таким прибором является автоматический анализатор Ceveron Alpha TGA (Technoclone, Австрия), который имеет модуль для измерения ГТ флуорогенным способом. Существенным преимуществом анализатора

Ceveron является наличие калибраторов и контрольных материалов с высокой и низкой активностями тромбообразования, а также определенные референтные интервалы, что позволяет применять его в клинической практике. Учитывая, что многие лабораторные исследования системы гемостаза требуют разработки собственных референтных значений для конкретной лаборатории, в том числе в соответствии с особенностями обследуемой популяции, заявленные производителем интервалы нуждаются в валидации. Поэтому целью работы явилось определение референтных интервалов внутри лаборатории и оценка межиндивидуальной вариации показателей ТГТ в различных технологиях выполнения.

Материалы и методы

В исследование вошли 20 доноров (46,13 [38,75–54,50] лет, 11 мужчин, 9 женщин) без сердечно-сосудистых заболеваний и тромбоэмболических эпизодов в анамнезе, не принимающих препараты, которые влияют на функцию системы гемостаза. Образцы крови получали в вакуумные пробирки с 3,2 % цитратом натрия в качестве антикоагулянта путем пункции кубитальной вены.

Для получения PPP материал центрифугировали при 2000×g 18 °C в течение 10 минут с последующим центрифугированием полученного супернатанта при 10 000×g в течение 10 минут [4]. Аликвоты хранили при температуре -80 °C. Перед постановкой пробы размораживались на водяной бане при 37 °C.

Технология 1: ТГТ проводился по методу калиброванной автоматизированной тромбограммы, предложенному Н. Hemker с соавторами [2] на приборе Fluoroscant Ascent (ThermoFisher Scientific, США). В каждую лунку 96-луночного планшета добавлялись коммерческий реактив PPP при конечной концентрации тканевого фактора 5 пмоль/л и фосфолипидов 4 ммоль/л (REF 86193, Diagnostica Stago, Франция) в объеме 20 мкл и образцы плазмы в объеме 80 мкл. Смесь специфичного субстрата (REF 86197) (Diagnostica Stago, Франция), меченного флуорогенным аминотетилкумарином (Z-Gly-Gly-Arg-AMC), и буфера (REF 86197, Diagnostica Stago, Франция) автоматически добавлялась в исследуемую плазму. В результате активации коагуляции и образования тромбина в образцах плазмы происходит расщепление субстрата и высвобождение флуоресцентной метки, сигнал от которой регистрируется с помощью флуориметра Fluoroscant Ascent. Результаты рассчитывались относительно калибратора с активностью тромбина 825 нМ (REF 86192, Diagnostica Stago, Франция).

Технология 2: ГТ определялась на оптическом приборе Severon Alpha TGA (Technoclone, Австрия). Принцип метода аналогичен предыдущему, но все этапы автоматизированы. Для активации каскада коагуляции использовали триггерный реагент RC Low (REF 5006013, Technoclone, Австрия) с низким содержанием тканевого фактора и фосфолипидов. ГТ измеряется с помощью специально адаптированного флуориметрического модуля ТГТ. В постановке использовалась контрольная плазма с низкой и высокой активностью тромбообразования (Technoclone, Австрия). Конечные объемы в исследуемом образце: 40 мкл плазмы в 20 мкл буфера и 40 мкл флуорогенного субстрата, 15 мкл триггерного реагента RC Low и 35 мкл раствора хлорида кальция [5, 6]. При тестировании PPP на реактиве RC Low у 100 практически здоровых доноров производителем были определены следующие РИ: Peak thr. 84–626 нмоль; ETP 1299–3145 нмоль/мин.

В ходе исследования ГТ с помощью встроенного программного обеспечения рассчитывались следующие показатели тромбограммы: максимальная концентрация тромбина в образце (Peak), нмоль; площадь под кривой — эндогенный тромбиновый потенциал (ETP), нмоль/мин; время инициации коагуляции (LagTime), мин; время достижения пика (ttPeak), мин. Скорость образования тромбина считалась по формуле: $VI = \text{Peak}/(\text{ttPeak} - \text{LagTime})$, нмоль/мин [7]. Для устранения аналитической ошибки и стандартизации данных в каждой серии ставилась пулированная нормальная плазма (ПНП), полученная от 20 здоровых доноров, средний возраст которых составил 25 [24–31] лет. Согласно современным исследованиям, для улучшения стандартизации требуется нормализация относительно контрольной плазмы [8–10], в связи с чем полученные результаты нормировались относительно ПНП и представлены в процентах: $((\text{значения показателя донора})/(\text{значения ПНП}) \times 100)$.

Полученные данные обрабатывались в программе Statistical2.0. Проверка нормальности распределения осуществлялась с помощью теста Шапиро-Уилка. Количественные данные представлены в виде медианы, 25-го и 75-го перцентилей (Me [Q1-Q3]). Коэффициент ранговой корреляции Спирмена использовался для оценки взаимосвязи между количественными переменными. Межиндивидуальная вариабельность оценивалась по коэффициенту вариации (% CVG) и рассчитывалась для каждой переменной как $CVG = \sigma/\mu \times 100\%$, где σ — стандартное отклонение, μ — среднее арифметическое. Референтные интервалы

были рассчитаны с использованием непараметрических методов в соответствии с рекомендациями CLSI [11]. Нижняя граница референтного интервала оценивалась как 2,5-й перцентиль, а верхняя граница — как 97,5-й перцентиль распределения. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты сравнения количественных и временных параметров ТГТ, выполненного двумя технологиями, а также CVG представлены в таблице 1.

Параметры тромбограммы показали высокую межиндивидуальную вариабельность, а коэффициенты вариации находились в пределах от 14 до 32 % в Технологии 1 и от 7 до 36 % в Технологии 2. Так, CVG для показателя LT составил 18,45 % на приборе Fluoroscan Ascent (Технология 1) и 18,19 % на коагулометре Severon Alpha (Технология 2). Коэффициенты вариации показателей Peak thr. и ttPeak были ниже в Технологии 1 (15,74 % и 14,35 % соответственно), чем в Технологии 2 (20,68 % и 18,14 % соответственно). Значимое различие CVG двух технологий наблюдалось по показателю ETP. Коэффициент вариации показателя ETP в Технологии 2 (7,1 %) в два раза ниже, чем в Технологии 1 (15,47 %) ($p = 0,035$). Наибольший коэффициент вариации был получен для индекса скорости образования тромбина VI: 32,17 % в Технологии 1 и 36,8 % в Технологии 2. CVG показателей ТГТ после нормализации снижается при постановке ТГТ на Severon Alpha и практически не изменяется (LT, ETP) или повышается (Peak thr., ttPeak, VI) при исследовании на Fluoroscan Ascent, но статистически значимых различий после нормализации данных не было выявлено, что согласуется с результатами, полученными другими авторами [9].

В ходе сравнения параметров ТГТ на двух приборах было показано, что ETP двух методик значимо отличается как в абсолютных значениях ($p = 0,0001$), так и после нормализации ($p = 0,001$). Также абсолютные значения LT в Технологии 1 достоверно выше, чем в Технологии 2 ($p = 0,02$).

Корреляционный анализ выявил прямую положительную связь по временному показателю LT, отражающему чувствительность технологий к генерации стартового количества тромбина, в двух методиках ($p < 0,05$) (данные не представлены).

В ходе исследования были получены РИ для двух технологий (табл. 2). Полученные РИ соответствуют значениям, заявленным производителем, что подтверждает воспроизводимость методики в нашей лаборатории.

Обсуждение

В настоящее время лаборатории часто используют свои собственные протоколы проведения ТГТ, источник и концентрацию тканевого фактора и/или фосфолипидов, тип и концентрацию субстрата, что приводит к плохой стандартизации протокола проведения ГТ [12]. Отсутствие аттестованных контрольных материалов также затрудняет сравнение данных, полученных в разных лабораториях. По данным литературы, вариабельность теста затрагивает и преаналитический этап (тип иглы и пробирки для взятия крови, условия хранения, режим центрифугирования, время хранения пробы до центрифугирования), что

может повлиять на воспроизводимость методики и увеличить вариацию результатов [13].

В настоящем исследовании CVG в Технологии 1 варьировал от 14 до 32 %, а в Технологии 2 от 7 до 36 %. Самый высокий коэффициент вариации наблюдался для показателя VI в обеих технологиях. Аналогичные результаты были получены и в других исследованиях. Высокий коэффициент вариации (< 15 %) был показан в 2003 году Н. Hemker при модификации метода, что подтверждается многочисленными исследованиями. Так, G. Rudež с коллегами показали, что CVG варьирует от 24 до 34 % [14]. A. Maïresse и соавторы в недавнем исследовании биологической вариации параметров

Таблица 1. Межиндивидуальная вариабельность генерации тромбина в бедной тромбоцитами плазме у здоровых доноров

Table 1. Inter-individuals variation of thrombin generation in donors' platelet-poor plasma

Показатель	Me [Q1-Q3]			CVG, %
	T1	T2	p	T1
LagTime, мин	2,50 [2,35–2,92]	2,10 [1,88–2,35]	0,02	18,45
ETP, нмоль/мин	1822,00 [1650,00–2070,00]	2778,85 [2690,25–3016,05]	0,0001	15,47
Peak thr., нмоль	279,70 [253,90–294,60]	333,9 [237,9–434,2]	0,135	15,74
ttPeak, мин	6,33 [5,60–6,83]	5,70 [5,08–6,60]	0,521	14,35
VI, нмоль/мин	74,54 [66,27–90,42]	90,60 [57,05–131,20]	0,531	32,17
Данные после нормализации				
LagTime, %	93,63 [87,83–108,70]	90,91 [81,82–100,0]	0,152	18,17
ETP, %	110,83 [101,84–125,00]	99,27 [95,98–107,1]	0,001	15,76
Peak thr., %	109,35 [100,04–121,41]	92,88 [73,78–120,8]	0,023	16,93
ttPeak, %	97,38 [86,16–105,2]	99,47 [89,03–108,1]	0,697	15,86
VI, %	108,01 [96,66–135,25]	89,71 [61,81–129,9]	0,33	35,07

Примечания: T1 — технология 1 (Fluoroscant Ascent), T2 — технология 2 (Ceveron Alpha), медиана (Me) и интерквартильный размах измерений [Q1–Q3], CVG — коэффициент межиндивидуальной (групповой) вариации.

Notes: T1 — technology 1 (Fluoroscant Ascent), T2 — technology 2 (Ceveron Alpha), median (Me) and interquartile range of measurements [Q1–Q3], CVG — coefficient of interindividual (group) variation.

ТГТ также получили сходные высокие значения CVG — от 10,4 % до 28,4 % [15]. В нашем исследовании увеличение коэффициента вариации может быть обусловлено возрастной группой доноров (старше 45 лет). Контрольная группа была выбрана в соответствии с используемыми реактивами

(RC Low и PPP-реагент), рассчитанными на определение склонности к тромбообразованию, характерной для старшей возрастной группы. В работе W. Jun с соавторами показали, что увеличение возраста коррелирует с повышением ГТ (LT $r = -0,6583$, $p < 0,0001$; Peak thr. $r = 0,4863$, $p < 0,0001$;

Таблица 2. Референтные диапазоны генерации тромбина в бедной тромбоцитами плазме у здоровых доноров

Table 2. Reference intervals of thrombin generation in donors' platelet-poor plasma

Показатель	Me [Q1–Q3]	
	РИ T1	РИ T2
LagTime, мин	2,33–4,10	1,60–3,00
ETP, нмоль/мин	1478,00–2595,00	2451,00–3161,00
Peak thr., нмоль	221,60–412,00	161,60–479,30
ttPeak, мин	4,86–8,33	4,80–8,80
VI, нмоль/мин	49,13–154,90	26,80–170,50

Примечания: РИ — референтный интервал, T1 — технология 1 (Fluoroscant Ascent), T2 — технология 2 (Ceveron Alpha), медиана (Me) и интерквартильный размах измерений [Q1–Q3], РИ Ceveron Alpha — РИ из инструкции к реагенту.

Notes: RI — reference interval, T1 — technology 1 (Fluoroscant Ascent), T2 — technology 2 (Ceveron Alpha), median (Me) and interquartile range [Q1–Q3], Ceveron Alpha RI — RI from reagent instructions.

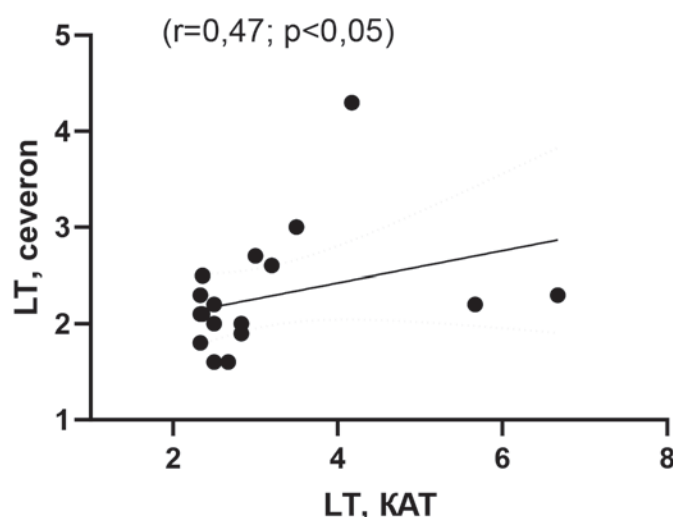


Рис. 1. Положительная прямая корреляция между LT (Ceveron) и LT (KAT) в постановке ТГТ на PPP на разных приборах

Figure 1. Positive direct correlation between LT (Ceveron) and LT (CAT) in the setting of TGT on PPP on different devices

ETP $r = 0,3608$, $p < 0,0001$; ttPeak $r = -0,6313$, $p < 0,0001$) [16]. Результаты работы Н. Haidl и коллег подтверждают, что величина образования тромбина зависит от возраста [17].

Следует отметить, что в нашем исследовании мы работали с образцами замороженной плазмы. В исследовании L. E. Kausche и соавторами было показано, что Peak thr. в свежих и замороженных образцах PPP совпадал примерно в 50 % образцов, а ETP совпадал почти в двух третях образцов. Кинетика образования тромбина была ниже в замороженных образцах по сравнению со свежей плазмой. Однако с практической точки зрения при использовании полуавтоматических технологий следует предпочесть замороженные пробы [18].

В результате сравнения данных на двух приборах были обнаружены статистически значимые отличия по показателям ETP и LT. Различия могут быть обусловлены разными методиками постановки. Технология 1 является полуавтоматической (смешивание реагента и исследуемой плазмы производится в 96-луночном планшете исследователем, флуорогенный субстрат добавляется автоматически), в то время как анализ ГТ в Технологии 2 происходит в автоматическом режиме. Показатели ТГТ чувствительны к изменениям температурного режима [19], поэтому вариация результатов может наблюдаться и из-за разности приборной составляющей, поскольку адекватного термостатирования проще добиться в кюветном сегменте, представленном в Severon Alpha (Технология 2). Еще одним отличием является процентное содержание плазмы в исследуемой смеси. В Технологии 2 используется 40 мкл плазмы в общем объеме 100 мкл (40 % плазмы), тогда как в Технологии 1 используется 80 мкл плазмы в общем объеме 120 мкл (67 % плазмы). По мере уменьшения процента объема плазмы в аналитической смеси образование тромбина увеличивается, достигая пика, когда объем плазмы составляет примерно 20–30 %, а затем снижается при меньших объемах плазмы [20]. Также методики различаются и в калибровке: в Технологии 2 используется человеческий тромбин (1 мкмоль л⁻¹) в буфере с бычьим сывороточным альбумином, в то время как в Технологии 1 используется человеческий $\alpha 2M$ -тромбин (0,5–1,0 мкмоль л⁻¹) с последующей коррекцией результатов [21]. Как показано в литературе, концентрация и происхождение тканевого фактора и фосфолипидов сильно влияют на параметры ТГТ [3]. В Технологии 1 используется триггерный реагент со средней концентрацией тканевого фактора (5 пмоль), а пусковой реагент RC Low содержит с низкую концентрацию ТФ.

Основными параметрами, анализируемыми в литературе, являются эндогенный тромбиновый потенциал и пиковая концентрация тромбина. В ходе исследования были разработаны внутрिलाбораторные референтные интервалы для двух технологий. РИ для Технологии 1: ETP 1478,0–2595,0 нмоль/мин и Peak thr. 221,6–412,0 нмоль. РИ для Технологии 2: ETP 2451,00–3161,00 нмоль/мин и Peak thr. 161,60–479,30 нмоль. Полученный диапазон РИ соответствует РИ производителя, что свидетельствует о воспроизводимости результатов, полученных Технологией 2, в нашей лаборатории.

Ограничения исследования

В крупном межцентровом исследовании показано, что нормализация данных снижает межлабораторную вариацию данных [22], однако в настоящем исследовании мы не получили достоверных изменений CVG при нормализации данных ТГТ, выполненных в Технологии 1. CVG некоторых параметров ТГТ в Технологии 2 снижался после нормализации.

Для уменьшения вариации данных ТГТ рекомендуется использовать эталонную лиофилизированную контрольную плазму. В нашем исследовании применялась локальная референсная плазма. Ранее было показано, что вариация результатов не уменьшается при использовании локальной референсной плазмы, но может снижаться при использовании референсной плазмы от производителя [9]. Использование локальной референсной плазмы является ограничением исследования. Для разработки РИ необходима выборка пациентов более 120 человек, в настоящем исследовании выборка составила 20 человек, что также является ограничением работы.

Заключение

В настоящее время внедрение методики измерения ГТ в клиническую практику востребовано, но ограничивается из-за отсутствия единых рекомендаций по стандартизации преаналитического этапа и вариабельности протоколов проведения теста в разных лабораториях.

Сравнение двух лабораторных технологий ТГТ демонстрирует высокие результаты межиндивидуальной вариации. При этом CVG показателя ETP в Технологии 2 в два раза ниже, чем в Технологии 1.

Таким образом, параметры ТГТ индивидуальны и использование исследования в динамике для каждого конкретного индивида, вероятно, имеет большую информативность, чем применение РИ, полученных в общей популяции. Динамическое наблюдение за пациентом должно выполняться с применением одной и той же технологии.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Благодарности / Acknowledgments

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20132, <https://rscf.ru/project/22-25-20132>. Выражаем благодарность компании «БиоХимМак» за предоставленную возможность выполнения исследования на автоматическом анализаторе Ceveron Alpha TGA. / The research was carried out at the expense of the grant of the Russian Science Foundation No. 22-25-20132, <https://rscf.ru/project/22-25-20132>. We would like to express our gratitude to BioHimMak for the opportunity to perform research on the Ceveron Alpha TGA automatic analyzer.

Список литературы / References

- Macfarlane RG, Biggs R. A thrombin generation test; the application in haemophilia and thrombocytopenia. *J Clin Pathol.* 1953; 6(1):3–8. DOI: 10.1136/jcp.6.1.3.
- Hemker HC, Giesen P, AlDieri R, et al. The calibrated automated thrombogram (CAT): a universal routine test for hyper- and hypocoagulability. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2002; 32(5–6):249–253. DOI: 10.1159/000073575.
- Depasse F, Binder NB, Mueller J, et al. Thrombin generation assays are versatile tools in blood coagulation analysis: A review of technical features, and applications from research to laboratory routine. *J Thromb Haemost.* 2021; 19(12):2907–2917. DOI: 10.1111/jth.15529.
- Loeffen R, Kleinegris MC, Loubele ST, et al. Preanalytic variables of thrombin generation: towards a standard procedure and validation of the method. *J Thromb Haemost.* 2012; 10(12):2544–2554. DOI: 10.1111/jth.12012.
- Wagner L, Luddington R, Wiens L, Grigorov A, Hrachovinová I, Binder B. First Experiences with the Measurement of Thrombin Generation (TGA) on the Ceveron Alpha in the Routine Lab. *Blood.* 2008; 112(11):4089–4089. DOI: 10.1182/blood.V112.11.4089.4089.
- Pfreppe C, Behrendt LC, Bönigk H, et al. Influence of direct oral anticoagulants on thrombin generation on Ceveron TGA. *Int J Lab Hematol.* 2022; 44(1):193–201. DOI: 10.1111/ijlh.13721.
- Tripodi A. Thrombin Generation Assay and Its Application in the Clinical Laboratory. *Clin Chem.* 2016; 62(5):699–707. DOI: 10.1373/clinchem.2015.248625.
- Binder NB, Depasse F, Mueller J, et al. Clinical use of thrombin generation assays. *J Thromb Haemost.* 2021; 19(12):2918–2929. DOI: 10.1111/jth.15538.
- Perrin J, Depasse F, Lecompte T, et al. Large external quality assessment survey on thrombin generation with CAT: further evidence for the usefulness of normalisation with an external reference plasma. *Thromb Res.* 2015; 136(1):125–130. DOI: 10.1016/j.thromres.2014.
- Dargaud Y, Wolberg AS, Gray E, et al. Proposal for standardized preanalytical and analytical conditions for measuring thrombin generation in hemophilia: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2017; 15(8):1704–1707. DOI: 10.1111/jth.13743.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory - Approved Guideline - Third Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne: PA, USA, 2010.
- Melnichnikova OS, Zhilenkova YI, Zolotova EA, et al. Thrombin generation test as an integral analysis of the hemostasis system: technical capabilities and application in laboratory practice. *Russ J Pers Med.* 2022; 2(3):119–128. DOI: 10.18705/2782-3806-2022-2-3-119-128.
- de Laat-Kremers RMW, Ninivaggi M, Devreese KMJ, et al. Towards standardization of thrombin generation assays: Inventory of thrombin generation methods based on results of an International Society of Thrombosis and Haemostasis Scientific Standardization Committee survey. *J Thromb Haemost.* 2020; 18(8):1893–1899. DOI: 10.1111/jth.14863.
- Rudez G, Meijer P, Spronk HM, et al. Biological variation in inflammatory and hemostatic markers. *J Thromb Haemost.* 2009; 7(8):1247–1255. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03488.x.
- Mairesse A, Bayart JL, Desmet S, et al. Biological variation data and analytical specification goal estimates of the thrombin generation assay with and without thrombomodulin in healthy individuals. *Int J Lab Hematol.* 2021; 43(3):450–457. DOI: 10.1111/ijlh.13388.
- Wu J, Zhao HR, Zhang HY, et al. Thrombin generation increasing with age and decreasing with use of heparin indicated by calibrated automated thrombogram conducted in Chinese. *Biomed Environ Sci.* 2014; 27(5):378–384. DOI: 10.3967/bes2014.063.
- Haidl H, Cimenti C, Leschnik B, et al. Age-dependency of thrombin generation measured by means of calibrated automated thrombography (CAT). *Thromb Haemost.* 2006; 95(5):772–775.
- Kausche LE, Adler W, Zimmermann R, et al. Thrombin Generation in Fresh and Frozen-Thawed Platelet Poor Plasma — Is there a Difference? *Clin Lab.* 2020; 66(6). DOI: 10.7754/Clin.Lab.2019.190834.
- Mori F, Genuardo C, Nannizzi S, et al. Intra— and inter-assay variations of two thrombin generation methods. *Int J Lab Hematol.* 2021; 43(4):O218—O220. DOI: 10.1111/ijlh.13524.
- Chandler WL, Roshal M. Optimization of plasma fluorogenic thrombin-generation assays. *Am J Clin Pathol.* 2009; 132(2):169–179. DOI: 10.1309/AJCP6AY4HTRAAJFQ.

21. Kintigh J, Monagle P, Ignjatovic V. A review of commercially available thrombin generation assays. *Res Pract Thromb Haemost*. 2017; 2(1):42–48. DOI: 10.1002/rth2.12048.

22. Dargaud Y, Wolberg AS, Luddington R, et al. Evaluation of a standardized protocol for thrombin generation measurement using the calibrated automated thrombogram: an international multicentre study. *Thromb Res*. 2012; 130(6):929–934. DOI: 10.1016/j.thromres.2012.07.017.

Информация об авторах:

Золотова Екатерина Алексеевна, аспирант кафедры лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Мельнишникова Ольга Сергеевна, к.м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской группы кардиоонкологии НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Симакова Мария Александровна, к.м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории кардиомиопатий, руководитель научно-исследовательской группы кардиоонкологии НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Жиленкова Юлия Исмаиловна, к.м.н., доцент кафедры лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Сироткина Ольга Васильевна, д.б.н., профессор кафедры лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»; старший научный сотрудник отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий ФГБУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова»;

Вавилова Татьяна Владимировна, д.б.н., профессор, заведующий кафедрой лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Ekaterina A. Zolotova, MD, PhD student of Department of Laboratory Medicine and Genetics, Almazov National Medical Research Centre;

Olga S. Melnichnikova, MD, PhD, Senior Researcher, Research Group of Cardio-Oncology, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Maria A. Simakova, MD, PhD, Senior Researcher, Noncoronary Heart Disease Department, Head of Research Group of Cardio-oncology, Research Centre of Personalized Oncology, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Yulia I. Zhilenkova, MD, PhD, Associate Professor of Department of Laboratory Medicine and Genetics, Almazov National Medical Research Centre;

Olga V. Sirotkina, PhD, DSc, Professor of Department of Laboratory Medicine and Genetics, Almazov National Medical Research Centre; senior researcher, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute»; senior researcher, Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University;

Tatiana V. Vavilova, MD, PhD, DSc, Professor, Head of Department of Laboratory Medicine and Genetics, Almazov National Medical Research Centre.

ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ УГЛЕРОДНЫЕ НАНОТРУБКИ КАК АКТИВАТОРЫ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ ПРИ КОНТАКТНОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ

Гришук И. В.^{1,2}, Свиридов Э. Е.^{1,2}, Кузнецов С. И.^{1,2}, Сорокин Д. В.^{1,2},
Знаменский В. А.^{1,2}, Абдуллина Л. У.¹, Чубарова М. Р.¹,
Киселева А. Д.¹, Минасян С. М.¹, Постнов В. Н.^{1,3}, Буркова Н. В.^{1,2}

Контактная информация:

Буркова Наталья Владимировна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: burkova_nv@almazovcentre.ru

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

² Общество с ограниченной ответственностью «Гемактон», Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Статья поступила в редакцию 26.09.2022
и принята к печати 09.11.2022.

Резюме

Актуальность. Использование достижений нанотехнологий в медицине открывает перспективы разработки и усовершенствования средств и методов профилактики и лечения заболеваний различного происхождения. Углеродные нанотрубки (УНТ) являются продуктом современных нанотехнологий и помимо уникальных физико-химических свойств имеют перспективы практического применения в медицине. УНТ представляют собой один из самых популярных (сравнимых только с наночастицами серебра и диоксида титана) объектов нанотоксикологических исследований. Данные о влиянии УНТ на клетки крови противоречивы, поэтому необходимы дополнительные исследования. Метод малообъемной гемоперфузии основан на активации клеточных элементов крови при контакте с твердофазным препаратом колонки-активатора. **Цель.** Оценить активационные возможности иммобилизованных углеродных нанотрубок по скорости адгезии клеточных элементов крови к их поверхности *in vitro*. **Материалы и методы.** Гемоконтактное взаимодействие проводили в стендовых условиях с использованием донорской крови в ротационном режиме. Пробы крови брали до начала эксперимента и через 5, 20, 40 и 60 мин. Изменения показателей клеточных популяций крови изучали с помощью гематологического анализатора Sysmex XT 1800i (26 параметров). Проведено 50 экспериментов. Для анализа активационных возможностей использовали скоростно-временной адгезивный профиль. **Результаты.** Наиболее высокие показатели активации клеточных элементов крови зарегистрированы при контакте с многослойными углеродными нанотрубками СиЛОМУНТ. **Заключение.** Результаты исследования могут быть в дальнейшем реализованы в процедуре малообъемной гемоперфузии в клинической практике.

Ключевые слова: адгезия, клеточные популяции крови, контактная активация клеток крови, лейкоциты, малообъемная гемоперфузия, тромбоциты, углеродные нанотрубки.

Для цитирования: Гришук И.В., Свиридов Э.Е., Кузнецов С.И., Сорокин Д.В., Знаменский В.А., Абдуллина Л.У., Чубарова М.Р., Киселева А.Д., Минасян С.М., Постнов В.Н., Буркова Н.В. Иммобилизованные углеродные нанотрубки как активаторы клеточных элементов крови при контактном взаимодействии. Трансляционная медицина. 2022;9(5):87-95. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-87-95.

IMMOBILIZED CARBON NANOTUBES AS ACTIVATORS OF CELLULAR ELEMENTS OF BLOOD IN CONTACT INTERACTION

Ivan G. Grischuk¹, Erik E. Sviridov^{1,2}, Sergei I. Kuznetsov^{1,2},
Dmitry V. Sorokin^{1,2}, Victor A. Znamensky^{1,2}, Laysan U. Abdullina¹,
Mariya R. Chubarova¹, Anastasia D. Kiseleva¹,
Sarkis M. Minasyan¹, Victor N. Postnov^{1,3}, Natalya V. Burkova^{1,2}

Corresponding author:

Natalya V. Burkova,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: burkova_nv@almazovcentre.ru

¹ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

² Gemakton Limited Liability Company, Saint Petersburg, Russia

³ Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Received 26 September 2022; accepted
09 November 2022.

Abstract

Background. The use of nanotechnology achievements in medicine opens up prospects for the development and improvement of means and methods of prevention and treatment of diseases of various origins. Carbon nanotubes (CNTs) are a product of modern nanotechnologies, and in addition to their unique physical and chemical properties, they are promising for practical applications in medicine. CNTs are one of the most popular (comparable only with silver and titanium dioxide nanoparticles) objects of nanotoxicological research. Data on the effect of CNTs on blood cells are contradictory, so additional studies are necessary. **Objective.** To assess the activation capabilities of immobilized carbon nanotubes by the rate of adhesion of blood cell elements to their surface in vitro. **Design and methods.** Hemocontact interaction was carried out in bench conditions using donor blood in rotational mode. Blood samples were taken before the start of the experiment and after 5, 20, 40 and 60 min. Changes in the indicators of cell blood populations using the hematology analyzer Sysmex XT 1800i (26 parameters). 50 experiments were conducted. To analyze the activation functions, a speed-time adhesive profile was used. **Results.** The highest rates of activation of cellular elements of the blood were recorded in contact with multi-walled carbon nanotubes SiloMUNT. **Conclusion.** The results of the study can be further implemented in the procedure of low-volume hemoperfusion in clinical practice.

Key words: adhesion, blood cell populations, carbon nanotubes, contact activation of blood, leukocytes, low-volume hemoperfusion, platelets.

For citation: Grischuk IV, Sviridov EE, Kuznetsov SI, Sorokin DV, Znamensky VA, Abdullina LU, Chubarova MR, Kiseleva AD, Minasyan SM, Postnov VN, Burkova NV. Immobilized carbon nanotubes as activators of cellular elements of blood in contact interaction. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022;9(5):87-95. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-87-95.

Список сокращений: АФК — активные формы кислорода, МОГ — малообъемная гемоперфузия, МУНТ — многостенные углеродные нанотрубки, СВАП — скоростно-временной адгезивный профиль, СКТ-6А ВЧ — медицинский углеродный адсорбент высокой чистоты, УНТ — углеродные нанотрубки, ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота.

Введение

Углеродные нанотрубки (УНТ) являются продуктом современных нанотехнологий, вызывающим большой интерес как в плане своих уникальных физико-химических свойств, так и перспектив практического применения в медицине. Номенклатура УНТ базируется на числе их стенок, то есть цилиндрических слоев графена, образующих трубку. Вы-

деляют одностенные (ОУНТ), олигостенные (2–3 слоя) и многостенные (МУНТ) нанотрубки. Металлическими примесями в составе УНТ являются переходные металлы, в частности медь, железо, никель и иттрий, наличие которых следует учитывать при сопоставлении результатов исследований их биологического действия. УНТ (особенно МУНТ) представляют собой один из самых популярных (сравнимых только с наночастицами серебра и диоксида титана) объектов нанотоксикологических исследований [1]. При оценке цитотоксического действия УНТ ключевым фактором является способность клеток связывать их на своей мембране и затем поглощать. Определяемая в эксперименте *in vitro* цитотоксичность МУНТ варьирует в широких пределах в зависимости от их длины, диаметра, а также линии клеток. Данные о влиянии УНТ на клетки крови противоречивы [2]. С одной стороны, показано, что воздействие нанотрубок на лимфоциты крови существенно не влияет на их жизнеспособность и не меняет их общего количества в пробах *in vitro* [3]. С другой стороны, в качестве одного из главных механизмов цитотоксического действия УНТ в ранних работах рассматривали индукцию оксидантного стресса [4]. Показано, что ОУНТ способны активировать нейтрофилы крови человека с увеличением выработки супероксид-аниона и TNF- α [5].

Активация клеток крови, в результате которой образуется большое разнообразие биологически активных молекул, влияющих на общий эффекторно-регуляторный потенциал крови, является основным механизмом лечебного действия метода малообъемной гемоперфузии (МОГ) [6]. Степень выраженности активационных возможностей твердофазных препаратов при проведении МОГ можно оценить с помощью расчета скорости адгезии клеточных элементов крови на их поверхности и построения скоростно-временного адгезивного профиля (СВАП) [7, 8].

Цель исследования состояла в оценке активационных возможностей иммобилизованных углеродных нанотрубок по скорости адгезии клеточных элементов крови к их поверхности *in vitro*.

Материалы и методы

Эксперименты по оценке СВАП углеродных нанотрубок проводили в стендовых условиях. Донорскую кровь получали на станции переливания крови ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, которую забирали у здоровых волонтеров из локтевой вены в вакуумную пробирку с гепарином лития в объеме 9,0 мл.

В качестве гемоконтактных препаратов использовали:

1. Аэросилогель (АЭ) — гранулы белого цвета неправильной формы размером 0,8–1,0 мм. Удельная поверхность — 160 м²/г. Размер пор — 25 нм. Получен из чистого макропористого кремнезема аэросила золь-гель методом. В качестве сырья для производства АЭ использовали аэросил марки А-380 (Россия). Гранулы АЭ являлись матрицей для получения СилОУНТ.

2. СилОУНТ — гранулы неправильной формы черного цвета размером 0,2–0,5 мм. Удельная поверхность — 201 м²/г. Размер пор — 24 нм. Углеродные нанотрубки закреплены на каркасе, состоящем из глобул SiO₂, что повышает механическую прочность композита. Для получения данного препарата использовали аэросил А-380 и однослойные углеродные нанотрубки фирмы Bayer (BAYTUBES C 150P, Германия).

3. КСК-2м — гранулы неправильной формы белого цвета размером 0,5–0,8 мм производства «Росснабхим» (Россия). Удельная поверхность — 360 м²/г. Размер пор — 12 нм. Гранулы КСК-2м являлись матрицей для получения СилоМУНТ.

4. СилоМУНТ — гранулы неправильной формы черного цвета. Удельная поверхность — 390 м²/г. Размер пор — 10 нм. Многослойные углеродные нанотрубки синтезировали на поверхности силикагеля с использованием кобальтсодержащего катализатора [9].

5. СКТ-6А ВЧ — медицинский углеродный гемосорбент высокой чистоты (СПБМАПО), разрешенный к применению в клинической практике в качестве гемоактиватора в процедуре МОГ [6], является препаратом сравнения.

Эксперименты проводили в шприц-колонках объемом 20,0 мл, в которые загружали гемоконтактные препараты в объеме 1,8–2,0 мл, промывали их стерильным физиологическим раствором, затем промывали стерильным физиологическим раствором с гепарином (20 ед/мл) и добавляли гепаринизированную кровь из расчета кровь : сорбент = 4:1, предварительно отобрав пробу «до» (до контакта). Колонки помещали в горизонтальном положении на роторную мешалку (10 об/мин), обеспечивая динамический контакт. Через определенные промежутки времени (5, 20, 40, 60 мин) из колонок забирали пробы крови в объеме 1,8–2,0 мл в пробирки с ЭДТА для проведения исследований. Изменения клеточных показателей оценивали на гематологическом анализаторе Sysmex XT 1800i (Япония). Рассчитывали скорость адгезии клеточных элементов крови и СВАП [7, 8]. Полученные результаты сравнивали с показателями эталонного активатора крови — СКТ-6А ВЧ, который был эффективно использован в клинике при проведении

МОГ в комплексной терапии тяжелых заболеваний верхних и нижних конечностей [6]. Выполнено 50 экспериментов (по 10 с каждым из гемоконтактных препаратов).

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием прикладных пакетов Statistica 7.0 for Windows и Excel 2013. Значимость изменения показателей внутри групп оценивали с помощью t-критерия Стьюдента для попарно связанных выборок и критерия Вилкоксона для парных сравнений, достоверность различий показателей между группами — с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок и U-критерия Манна–Уитни. Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Проведен анализ СВАП пяти исследуемых твердофазных гемоконтактных препаратов для определения способности активировать клеточные элементы крови при проведении процедуры МОГ.

Анализ СВАП для тромбоцитов представлен на рисунке 1. Он свидетельствует, что основной активационный потенциал всех препаратов был реализован в период «0–5 мин», то есть в этот период отмечали максимальную скорость адгезии тромбоцитов: СилоУНТ — $(30,0 \pm 1,4) \times 10^3$ кл/мкл/мин; КСК-2м — $(29,6 \pm 1,4) \times 10^3$ кл/мкл/мин; АЭ — $(27,5 \pm 1,6) \times 10^3$ кл/мкл/мин; СКТ-6А ВЧ — $(21,2 \pm 1,5) \times 10^3$ кл/мкл/мин, СилоМУНТ — $(34,1 \pm 1,3) \times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$).

СКТ-6А ВЧ и препараты АЭ и СилоУНТ при контакте с тромбоцитами демонстрируют схожие показатели СВАП: в период «0–5 мин» — максимальная скорость адгезии, затем — положительная адгезия до «20 мин» контакта, а в период «20–60 мин» происходил переход тромбоцитов в жидкую фазу крови (деадгезия).

Показатели СВАП препарата СилоМУНТ при контакте с тромбоцитами имели отличия по сравнению с матрицей КСК-2м: в период «5–60 мин» отмечали деадгезию.

В период «0–20 мин» наибольшую скорость адгезии наблюдали на препарате СилоУНТ — $(9,0 \pm 0,5) \times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$); несколько ниже показатели на СКТ-6А ВЧ — $(6,2 \pm 0,4) \times 10^3$ кл/мкл/мин и на АЭ — $(4,98 \pm 0,7) \times 10^3$ кл/мкл/мин. В период «20–60 мин» на этих препаратах отмечали переход тромбоцитов в жидкую фазу крови. В результате показатели скорости адгезии имели отрицательные значения: для СилоУНТ — $(-1,70 \pm 0,01) \times 10^3$ кл/мкл/мин, для СКТ-6А ВЧ — $(-1,02 \pm 0,12) \times 10^3$ кл/мкл/мин, для АЭ — $(-1,39 \pm 0,27) \times 10^3$ кл/мкл/мин. В период «5–60 мин» отмечали наиболее высокие по модулю показатели отрицательной скорости адгезии среди всех исследованных препаратов на СилоМУНТ — $(-1,7 \pm 0,1) \times 10^3$ кл/мкл/мин. Для препарата КСК-2м показатели скорости адгезии в период «5–60 мин» составляли $(2,3 \pm 0,2) \times 10^3$ кл/мкл/мин, отрицательной адгезии не зарегистрировано.

При анализе реакции общей популяции лейкоцитов на контактное взаимодействие с исследуемыми

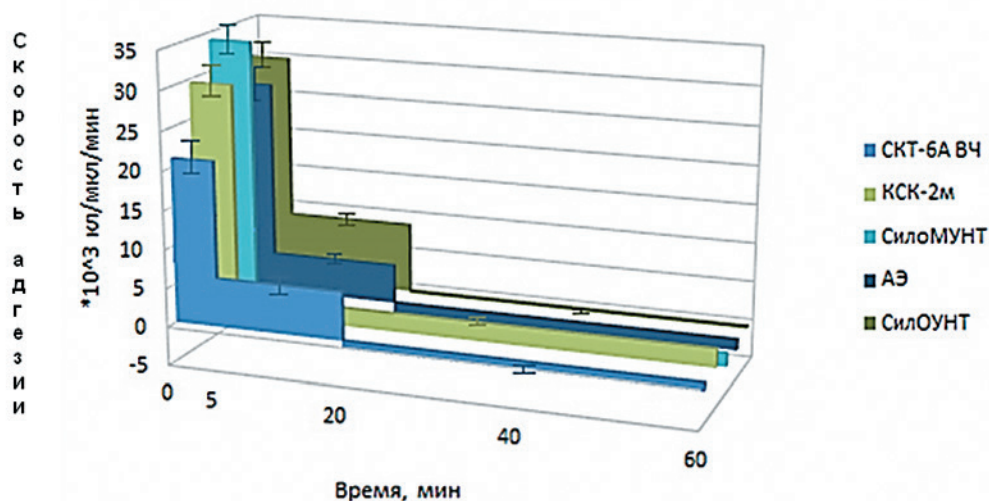


Рис. 1. Скоростно-временной адгезивный профиль для тромбоцитов при контакте крови с сорбентами СКТ-6А ВЧ, КСК-2м, СилоМУНТ, АЭ, СилоУНТ

Figure 1. Speed-time adhesive profile for platelets upon contact of blood with sorbents SKT-6A VCh, KSK-2m, SiloMUNT, AE, SiloUNT

двумя твердофазными препаратами выявлены однотипные показатели СВАП, которые представлены на рисунке 2. Отмечали максимальные показатели в период «0–5 мин», преобладание адгезии лейкоцитов в период контакта «0–20 мин» и переход лейкоцитов в жидкую фазу крови в период «20–60 мин». Максимальная скорость адгезии лейкоцитов в период «0–5 мин» зарегистрирована на сорбенте СилоМУНТ — $(669,0 \pm 48,7) \times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$). Другие исследуемые препараты по скорости адгезии можно расположить в следующем порядке: СилоОУНТ $(463,8 \pm 19,1) \times 10^3$ кл/мкл/мин > КСК-2м $(422,5 \pm 34,8) \times 10^3$ кл/мкл/мин > АЭ $(387,1 \pm 46,4) \times 10^3$ кл/мкл/мин > СКТ-6А ВЧ $(310,6 \pm 43,2) \times 10^3$ кл/мкл/мин. В период «0–20 мин» наиболее высокие показатели адгезии отмечали на препарате СилоМУНТ — $(216,3 \pm 13,6) \times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$). Другие исследуемые препараты по скорости адгезии можно расположить в следующем порядке: СилоОУНТ — $(161,4 \pm 14,6) \times 10^3$ кл/мкл/мин > АЭ — $(134,4 \pm 14,35) \times 10^3$ кл/мкл/мин > СКТ-6А ВЧ — $(126,8 \pm 13,8) \times 10^3$ кл/мкл/мин > КСК-2м — $(121,6 \pm 7,6) \times 10^3$ кл/мкл/мин. В период контакта «20–60 мин» на всех гемоконтактных препаратах отмечали переход клеток в жидкую фазу крови, превышающий адгезию на поверхности препарата: на СКТ-6А ВЧ — $(-22,4 \pm 6,2) \times 10^3$ кл/мкл/мин, на СилоМУНТ — $(-11,1 \pm 1,3) \times 10^3$ кл/мкл/мин, на КСК-2м — $(-8,2 \pm 2,7) \times 10^3$ кл/мкл/мин, на СилоОУНТ — $(-6,7 \pm 1,5) \times 10^3$ кл/мкл/мин и на АЭ — $(-5,0 \pm 0,8) \times 10^3$ кл/мкл/мин.

Проведен анализ контактного взаимодействия лейкоцитов с твердофазными препаратами для каждой из субпопуляций (гранулоциты и агранулоциты). Диаграмма, характеризующая СВАП гранулоцитов при контакте с исследуемыми препаратами, представлена на рисунке 3. Профили, построенные для гранулоцитов, имеют схожие показатели со СВАП для общей популяции лейкоцитов. В период контакта «0–5 мин» максимальная скорость адгезии для гранулоцитов зафиксирована на препарате СилоМУНТ — $(493,2 \pm 41,2) \times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$). Остальные препараты по скорости адгезии можно расположить в следующей последовательности: КСК-2м — $(331,1 \pm 26,9) \times 10^3$ кл/мкл/мин > СилоОУНТ — $(314,2 \pm 17,3) \times 10^3$ кл/мкл/мин > АЭ — $(260,0 \pm 32,9) \times 10^3$ кл/мкл/мин > СКТ-6А ВЧ — $(255,4 \pm 38,9) \times 10^3$ кл/мкл/мин. В период гемоконтактного взаимодействия «0–20 мин» наибольшие значения СВАП зафиксированы также на СилоМУНТ $(158,2 \pm 13,2) \times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$). По мере снижения скорости адгезии остальные препараты можно расположить в следующем порядке: СилоОУНТ — $(104,9 \pm 10,5) \times 10^3$ кл/мкл/мин > КСК-2м — $(95,7 \pm 7,2) \times 10^3$ кл/мкл/мин > АЭ $(92,3 \pm 11,6) \times 10^3$ кл/мкл/мин > СКТ-6А ВЧ $(81,6 \pm 10,3) \times 10^3$ кл/мкл/мин. В период контакта «20–60 мин» на всех препаратах отмечена отрицательная адгезия гранулоцитов. Наиболее высокие показатели деадгезии отмечали на СКТ-6А ВЧ — $(-15,9 \pm 3,3) \times 10^3$ кл/мкл/мин. На других препаратах были следующие значения СВАП: КСК-2м — $(-12,9 \pm$

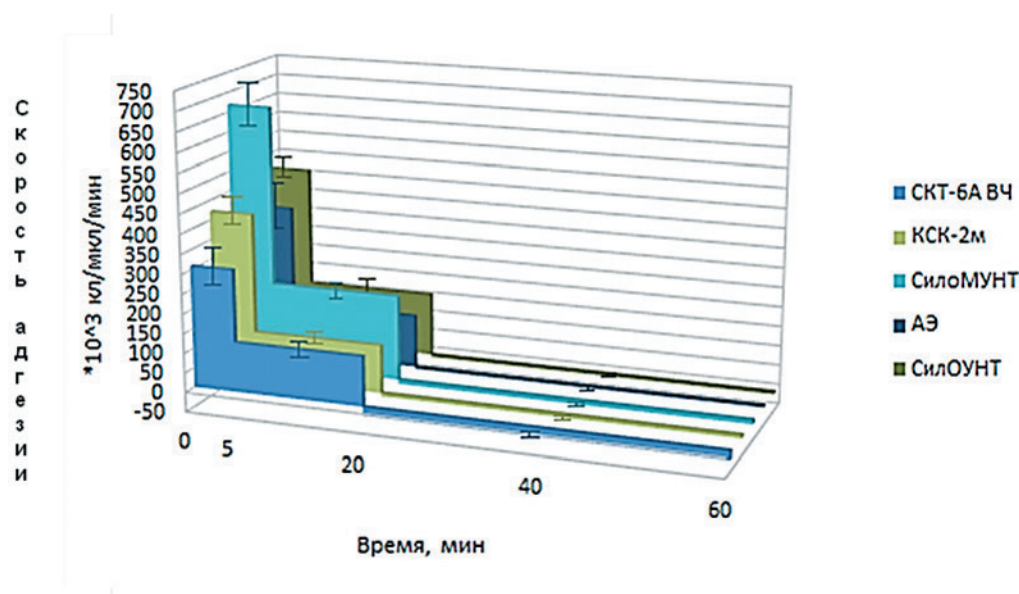


Рис. 2. Скоростно-временной адгезивный профиль для лейкоцитов при контакте крови с сорбентами СКТ-6А ВЧ, КСК-2м, СилоМУНТ, АЭ, СилоУНТ

Figure 2. Speed-time adhesive profile for leukocytes upon contact of blood with sorbents SKT-6A VCh, KSK-2m, SiloMUNT, AE, SiloUNT

$1,7) \times 10^3$ кл/мкл/мин; СилоМУНТ — $(-9,95 \pm 1,38) \times 10^3$ кл/мкл/мин; СилоУНТ — $(-6,08 \pm 1,27) \times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$); АЭ — $(-4,4 \pm 0,9) \times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$).

Диаграмма, характеризующая СВАП гранулоцитов при контакте с исследуемыми препаратами, представлена на рисунке 4. Показатели СВАП для агранулоцитов (за исключением АЭ) соответствуют СВАП для гранулоцитов и общей популяции

лейкоцитов. В период контакта «0–5 мин» гемоконтактные препараты можно расположить в порядке снижения скорости адгезии агранулоцитов: СилоМУНТ — $(181,0 \pm 13,2) \times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$) > СилоУНТ — $(154,8 \pm 10,6) \times 10^3$ кл/мкл/мин > КСК-2м — $(149,8 \pm 9,5) \times 10^3$ кл/мкл/мин > СКТ-6А ВЧ — $(130,0 \pm 16,7) \times 10^3$ кл/мкл/мин > АЭ — $(125,8 \pm 14,5) \times 10^3$ кл/мкл/мин. В период «5–20 мин» препараты можно представить в виде следующего убываю-

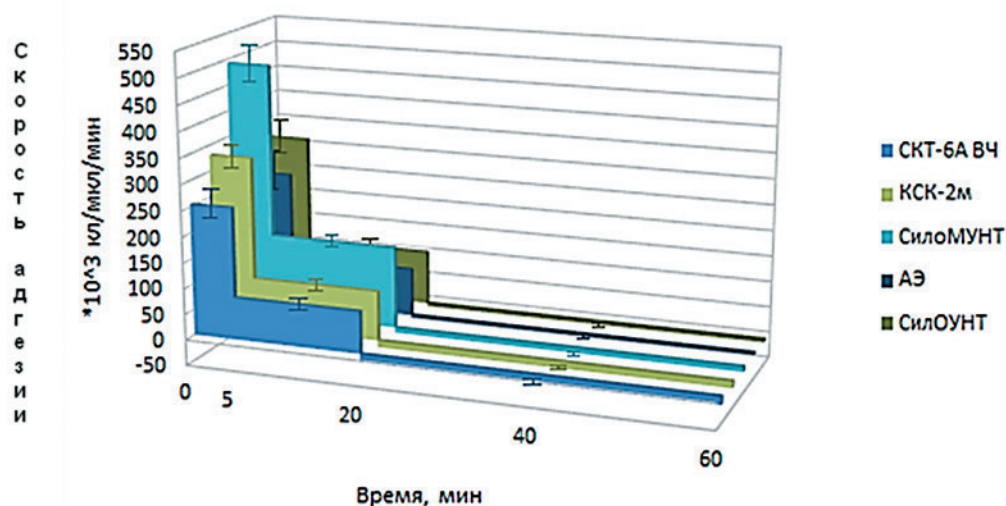


Рис. 3. Скоростно-временной адгезивный профиль для гранулоцитов при контакте крови с сорбентами СКТ-6А ВЧ, КСК-2м, СилоМУНТ, АЭ, СилоУНТ

Figure 3. Speed-time adhesive profile for granulocytes upon contact of blood with sorbents SKT-6A VCh, KSK-2m, SiloMUNT, AE, SiloUNT

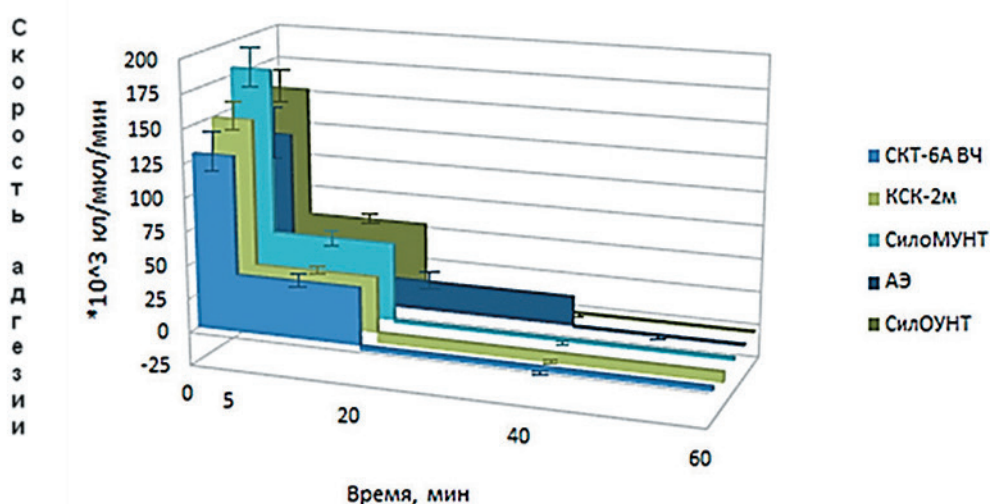


Рис. 4. Скоростно-временной адгезивный профиль для агранулоцитов при контакте крови с сорбентами СКТ-6А ВЧ, КСК-2м, СилоМУНТ, АЭ, СилоУНТ

Figure 4. Speed-time adhesive profile for agranulocytes upon contact of blood with sorbents SKT-6A VCh, KSK-2m, SiloMUNT, AE, SiloUNT

щего ряда: СилоМУНТ — $(58,1 \pm 4,1) \times 10^3$ кл/мкл/мин > СилОУНТ — $(57,0 \pm 3,8) \times 10^3$ кл/мкл/мин > СКТ-6А ВЧ — $(42,6 \pm 5,1) \times 10^3$ кл/мкл/мин > КСК-2м — $(41,60 \pm 2,98) \times 10^3$ кл/мкл/мин). Препарат АЭ в этот ряд не входит, так как на нем время преобладания адгезии агранулоцитов длится до «40 мин» от начала контакта, и показатели скорости адгезии составляют $(22,1 \pm 2,7) \times 10^3$ кл/мкл/мин. В период контакта «20–60 мин» (для АЭ — «40–60 мин») на всех препаратах определяется отрицательная адгезия. Исследуемые препараты можно представить в порядке уменьшения скорости деадгезии агранулоцитов: КСК-2м — $(-7,80 \pm 0,98) \times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$) > СКТ-6А ВЧ — $(-3,40 \pm 0,68) \times 10^3$ кл/мкл/мин > СилоМУНТ — $(-2,2 \pm 0,5) \times 10^3$ кл/мкл/мин > АЭ — $(-1,4 \pm 0,8) \times 10^3$ кл/мкл/мин > СилОУНТ — $(-1,3 \pm 0,2) \times 10^3$ кл/мкл/мин.

Обсуждение

В результате исследования можно отметить, что препарат СилоМУНТ обладает наиболее выраженными активационными свойствами для тромбоцитов крови по сравнению с другими исследованными препаратами в период «0–5 мин» контакта. Активационный потенциал других исследуемых препаратов также существенно выше, чем у углеродного препарата сравнения СКТ-6А ВЧ, использованного ранее в процедурах МОГ в клинике при лечении различных заболеваний верхних и нижних конечностей [6].

При анализе СВАП лейкоцитов можно отметить, что показатели активации на СилоМУНТ выше ($p < 0,05$), чем на препарате с СилОУНТ, а также превышают показатели скорости адгезии, которые зафиксированы на матрицах этих сорбентов — КСК-2м и АЭ. Подобная реакция характерна в периоды преобладания процессов адгезии клеток «0–5 мин» и «0–20 мин».

Полученные показатели СВАП исследуемых твердофазных гемоконтактных препаратов свидетельствуют о более выраженных активационных свойствах по сравнению с эталонным активатором клеток крови — СКТ-6А ВЧ [8]. Также показано, что модификация поверхности силикагелей углеродными нанотрубками приводила к усилению активационных свойств. Можно отметить данное усиление активации всех клеточных элементов крови на СилоМУНТ. Если скорость адгезии тромбоцитов на чистых матрицах АЭ и КСК-2м по сравнению с углем СКТ-6А ВЧ возросла в 1,3 и 1,4 раза соответственно, то для СилОУНТ и СилоМУНТ этот показатель увеличился в 1,4 и 1,6 раза. Особенно характерна тенденция усиления активации для лейкоцитов. Показатель на матрицах соответ-

ствует возрастанию скорости адгезии в 1,4 раза для КСК-2м и 1,3 раза для АЭ. Модификация матриц углеродными нанотрубками приводила к еще большему увеличению активационного потенциала препаратов: для СилОУНТ — в 1,5 раза, а для СилоМУНТ — в 2,2 раза по сравнению с СКТ-6А ВЧ.

Из всех исследованных препаратов по своим активационным характеристикам можно выделить препарат СилоМУНТ, который требует проведения дальнейших исследований для оценки возможности использования его в качестве контактного гемоактиватора при проведении процедуры МОГ.

Выводы

1. Все исследованные гемоконтактные препараты обладают более выраженными активационными свойствами для тромбоцитов и лейкоцитов крови по сравнению с углеродным препаратом СКТ-6А ВЧ.

2. Наиболее высокие показатели активации клеточных элементов крови зарегистрированы при контакте с СилоМУНТ.

3. Необходимы дальнейшие исследования активационных возможностей твердофазного гемоконтактного препарата СилоМУНТ для использования в процедуре малообъемной гемоперфузии в клинической практике.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Baimova YA, Mulyukov RR. Graphene, nanotubes and other carbon nanostructures. Russian Academy of sciences: Moscow. 2018; p.212. In Russian [Баимова Ю.А., Мулюков Р.Р. Графен, нанотрубки и другие углеродные наноструктуры. Российская академия наук: Москва. 2018; с. 212.] DOI: 10.31857/S9785907036369000001.
2. Gmoshinsky IV, Khotimchenko SA, Riger NA, et al. Carbon nanotubes: mechanisms of the action, biological markers and evaluation of the (review of literature). Gig Sanit. 2017; 96(2):176–186. In Russian [Гмошинский И.В., Хотимченко С.А., Ригер Н.А. и др. Углеродные нанотрубки: механизмы действия, биологические маркеры и оценка токсичности in vivo (обзор литературы). Гигиена и санитария. 2017; 96(2):176–186]. DOI: 10.18821/0016-9900-2017-96-2-176-186.
3. Kolesnikov OL, Makarenko ON, Trofimova NV, et al. Investigation of the action of nanotubes on the vitro viability indicators of lymphocytes and neutrophils in vitro. Bulletin of the Ural Medical Academic Science. 2011; 2(2):90–91. In Russian [Колесников О.Л., Макаренко

О.Н., Трофимова Н.В. и др. Исследование действия нанотрубок на показатели жизнеспособности лимфоцитов и нейтрофилов *in vitro*. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2011; 2(2):90–91.]

4. Schrand AM, Dai L, Schlager J, Hussain S, et al. Differential biocompatibility of carbon nanotubes and nanodiamonds. *Diamond Relat. Mater.* 2007; 16(12): 2118–2123. DOI:10.1016/J.DIAMOND.2007.07.020.

5. Funahashi S, Okazaki Y, Ito D et al. Asbestos and multi-walled carbon nanotubes generate distinct oxidative responses in inflammatory cells. *J Clin Biochem Nutr.* 2015; 56(2):111–117. DOI: 10.3164/jcbrn.14-92.

6. Burkova NV, Kuznetsov SI, Tyukavin AI. Effects of low-volume perfusion of blood activated by hemosorbents. *Journal of postgraduate medical education* = "Vestnik Saint-Petersburgskoy Meditsinskoy Akademii poslediplomnogo obrazovaniya". 2011; 3(4):24–32. In Russian [Буркова Н.В., Кузнецов С.И., Тюкавин А.И. Эффекты малообъемной перфузии крови, активированной гемосорбентами. Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии последилового образования. 2011; 3(4):24–32.]

7. Kirichuk OP, Burkova NV, Romanchuk EV, et al. Valuation of Activation Capabilities of SolidPhase Surfaces by the Rate of Adhesion of Blood Cells. *Translational Medicine.* 2019; 6(3):53–60. In Russian [Киричук О.П., Буркова Н.В., Романчук Е.В. и др. Оценка активационных возможностей твердофазных поверхностей по скорости адгезии клеток крови. Трансляционная медицина. 2019; 6(3):53–60.] DOI: 10.18705/2311-4495-2019-6-3-53-60.

8. Kuznetsov SI, Kirichuk OP, Burkova NV, et al. Comparison of the activation capabilities of hemosorbents by adhesion rate of blood cells *in vitro*. *Translational Medicine.* 2021; 8(5):57–66. In Russian [Кузнецов С.И., Киричук О.П., Буркова Н.В. и др. Сравнение активационных возможностей гемосорбентов по скорости адгезии клеток крови *in vitro*. Трансляционная медицина. 2021; 8(5):57–66.] DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-5.

9. Postnov VN, Novikov AG, Romanychev AI, et al. Synthesis of carbon nanotubes from a cobalt-containing aerosolized. *Russ J Gen Chem.* 2014; 84(5): 962–963. DOI: 10.1134/S1070363214050302.

Информация об авторах:

Гришук Иван Витальевич, лаборант-исследователь НИЛ биопротезирования и кардиопротекции, Центр экспериментального биомоделирования, Институт экспериментальной медицины, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Свиридов Эрик Евгеньевич, лаборант-исследователь НИЛ биопротезирования и кардиопротекции, Центр экспериментального биомоделирования, Институт экспериментальной медицины, студент лечебного факультета Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ

им. В. А. Алмазова» Минздрава России; генеральный директор ООО «Гемактон»;

Кузнецов Сергей Иванович, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник НИЛ биопротезирования и кардиопротекции, Центр экспериментального биомоделирования, Институт экспериментальной медицины, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; научный сотрудник ООО «Гемактон»;

Сорокин Дмитрий Вадимович, студент лечебного факультета Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; лаборант-исследователь ООО «Гемактон»;

Знаменский Виктор Александрович, студент лечебного факультета Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; лаборант-исследователь ООО «Гемактон»;

Абдуллина Ляйсан Ураловна, студент лечебного факультета Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Чубарова Мария Романовна, студент лечебного факультета Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Киселева Анастасия Дмитриевна, студент лечебного факультета Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Минасян Саркис Минасович, к.м.н., старший научный сотрудник НИО микроциркуляции и метаболизма миокарда, Институт экспериментальной медицины, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Постнов Виктор Николаевич, к.х.н., доцент кафедры химии твердого тела Института химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»; старший научный сотрудник НИЛ нанотехнологий, Центр экспериментального биомоделирования, Институт экспериментальной медицины, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Буркова Наталья Владимировна, д.б.н., профессор лечебного факультета Института медицинского образования, доцент, заведующий кафедрой физиологии Института экспериментальной медицины, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, научный руководитель ООО «Гемактон».

Author information:

Ivan G. Grishchuk, laboratory researcher, Research Laboratory of bioprosthesis and cardioprotection, Center for experimental biomodeling, Institute of experimental medicine, Almazov National Medical Centre;

Erik E. Sviridov, student, Medical faculty of the Institute of medical education, laboratory researcher, Research Laboratory of bioprosthesis and cardioprotection, Center for experimental biomodeling, Institute of experimental medicine, Almazov National Medical Centre; general director, Hemacton, Limited Liability Company;

Sergei I. Kuznetsov, Dr. Sc., Professor, Chief Researcher, Research Laboratory of bioprosthesis and cardioprotection, Center for experimental biomodeling of the Institute of experimental medicine, Almazov National Medical Centre; Research Fellow, Hemacton, Limited Liability Company;

Dmitry V. Sorokin, student, Medical faculty of the Institute of medical education, Almazov National Medical Centre; laboratory assistant-researcher, Hemacton, Limited Liability Company;

Victor A. Znamensky, student, Medical faculty of the Institute of medical education Almazov National Medical Centre; laboratory assistant-researcher, Hemacton, Limited Liability Company;

Laysan U. Abdullina, student, Medical faculty of the Institute of medical education, Almazov National Medical Centre;

Mariya R. Chubarova, student, Medical faculty of the Institute of medical education, Almazov National Medical Centre;

Anastasia D. Kiseleva, student, Medical faculty of the Institute of medical education, Almazov National Medical Centre;

Sarkis M. Minasyan, MD, Senior researcher, research Laboratory of Microcirculation and Myocardial Metabolism, Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Centre;

Viktor N. Postnov, MD, Senior researcher, research Laboratory of nanotechnologies, Center for experimental biomodeling, Almazov National Medical Centre; Saint Petersburg State University;

Natalya V. Burkova, Dr. Sc., Professor, the Department of physiology, Medical faculty of the Institute of medical education, Head of the department of Physiology, Almazov National Medical Centre; Scientific chief, Hemacton, Limited Liability Company.

РОЛЬ NOTCH-ЗАВИСИМОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ РЕЗИДЕНТНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ В РАЗВИТИИ ЛЕГОЧНОГО ФИБРОЗА

Чистякова И. В.¹, Бакаленко Н. И.¹, Малашичева А. Б.¹,
Атюков М. А.², Петров А. С.²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург,
Россия

² Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение
здравоохранения «Городская многопрофильная больница № 2»,
Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:
Чистякова Ирэна Валерьевна,
ФГБУН Институт цитологии РАН,
Тихорецкий пр., д. 4, Санкт-Петербург,
Россия, 194064.
E-mail: itjerena7@gmail.com

Статья поступила в редакцию 10.10.2022
и принята к печати 27.10.2022.

Резюме

Актуальность. На сегодняшний день молекулярные механизмы развития фиброза легких слабо изучены. Известно, что ключевую роль в этом заболевании играет дифференцировка резидентных легочных клеток в миофибробласты. Поиск факторов, способных регулировать такую дифференцировку, представляется актуальной задачей. **Цель.** Оценить влияние активации сигнального пути Notch на резидентные легочные фибробласты путем введения внутриклеточных доменов каждого из 4 Notch-рецепторов (N1-4ICD). **Материалы и методы.** В работе использовали первичные культуры легочных фибробластов от доноров (n = 4) без системных заболеваний и заболеваний легких, бронхов, полученные в результате частичной резекции легочной ткани. Notch-зависимую активацию фибробластов осуществляли путем введения лентивирусных векторов, не несущих и несущих последовательности доменов N1-4ICD. Спустя 8 дней проводили иммуноцитохимическое окрашивание и оценивали относительные уровни экспрессии генов *PDPN*, *HOPX*, *SLUG*, *SNAIL*, *ACTA2* методом количественной ПЦР. **Результаты.** Активация сигнального пути Notch лентивирусными векторами с N1-4CD приводила к усилению экспрессии *SLUG*, *SNAIL* и *ACTA2*. Наиболее выраженный эффект при этом отмечается при введении лентивирусных частиц, содержащих Notch4-активирующую последовательность. Индуцирование сигналинга путем введения активирующих компонентов N1-3ICD способствовало повышению экспрессии *PDPN*, при введении N4ICD отмечалось усиление уровня экспрессии *HOPX*. **Заключение.** Активация каждого из 4 внутриклеточных доменов рецепторов Notch способна запускать дифференцировку резидентных альвеолярных фибробластов в миофибробласты, которые являются ключевыми участниками развития легочного фиброза.

Ключевые слова: дифференцировка, легочный фиброз, миофибробласты, фибробласты, Notch.

Для цитирования: Чистякова И.В., Бакаленко Н.И., Малашичева А.Б., Атюков М.А., Петров А.С. Роль Notch-зависимой дифференцировки резидентных фибробластов в развитии легочного фиброза. Трансляционная медицина. 2022;9(5):96-104. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-96-104.

THE ROLE OF NOTCH-DEPENDENT DIFFERENTIATION OF RESIDENT FIBROBLASTS IN THE DEVELOPMENT OF PULMONARY FIBROSIS

Irena V. Chistyakova¹, Nadezhda I. Bakalenko¹,
Anna B. Malashicheva¹, Mikhail A. Atukov², Andrey S. Petrov²

¹ Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

² City Multidisciplinary Hospital No. 2, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Irena V. Chistyakova,
Institute of Cytology of the Russian Academy
of Sciences,
Tikhoretsky Avenue, d. 4, Saint Petersburg,
Russia, 194064.
E-mail: itjerna7@gmail.com

Received 10 October 2022; accepted
27 October 2022.

Abstract

Background. Molecular mechanisms of the development of pulmonary fibrosis are poorly understood. It is known that differentiation of resident lung cells into myofibroblasts plays a key role in this disease. The search for factors capable of regulating such differentiation is an urgent task. **Objective.** To evaluate the effect of Notch signaling pathway activation on resident lung fibroblasts by introducing the intracellular domains of each of the 4 Notch receptors (N1-4ICD). **Design and methods.** Primary cultures of pulmonary fibroblasts from donors (n = 4) were used. Notch-dependent activation of fibroblasts was carried out by introducing lentiviral vectors with/without sequences of N1-4ICD domains. After 8 days, immunocytochemical staining was performed and the relative expression levels of the *PDPN*, *HOPX*, *SLUG*, *SNAIL* and *ACTA2* genes were evaluated by qPCR. **Results.** Activation of the Notch signaling pathway by N1-4ICD resulted in increased expression of *SLUG*, *SNAIL* and *ACTA2*. The most pronounced effect was observed with the introduction of Notch4-activating sequence. Induction of signaling by the introduction of N1-3ICD activating components contributed to an increase in *PDPN* expression, with the introduction of N4ICD, an increase in the level of *HOPX* expression was noted. **Conclusion.** Activation of each of the 4 intracellular Notch receptor domains is able to trigger the differentiation of resident alveolar fibroblasts into myofibroblasts, which are key players in the development of pulmonary fibrosis.

Key words: differentiation, fibroblasts, myofibroblasts, Notch, pulmonary fibrosis.

For citation: Chistyakova IV, Bakalenko NI, Malashicheva AB, Atukov MA, Petrov AS. The role of Notch-dependent differentiation of resident fibroblasts in the development of pulmonary fibrosis. *Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine*. 2022;9(5):96-104. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-5-96-104.

Список сокращений: ВКМ — внутриклеточный матрикс, ВСБ — водно-солевой буфер, кДНК — кодирующая дезоксирибонуклеиновая кислота, ПЦР — полимеразная цепная реакция, РНК — рибонуклеиновая кислота, ФБС — фетальная бычья сыворотка, ФСБ — фосфатно-солевой буфер, ЭМП — эпителиально-мезенхимный переход, *ACTA2* — ген, кодирующий актин альфа 2, *AQP5* — ген, кодирующий аквапорин 5, *CDH1* — ген, кодирующий е-кадгерин, *COL1A1* — ген,

кодирующий коллаген 1 типа, DAPI — 4',6-диамидино-2-фенилиндол, НЕК — почка эмбриона человека, *HOPX* — ген, кодирующий гомеодоменный белок, MMLV-RT — обратная транскриптаза вируса лейкемии мышей, NF-κB — транскрипционный ядерный фактор, *PDPN* — ген, кодирующий подопланин, *SNAIL* и *SLUG* — гены, кодирующие транскрипционные факторы, *SP-C* — ген, кодирующий сурфактантный белок С, TGFβ — трансформирующий фактор роста β, *VIM* — ген,

кодирующий виментин, α -SMA — гладкомышечный актин.

Введение

Фиброз легких — это патологическое состояние, которое характеризуется чрезмерным разрастанием соединительной ткани, избыточным отложением внеклеточного матрикса (ВКМ), что приводит к необратимому ремоделированию легочной ткани и нарушению дыхательной функции. Важным фактором развития фиброза является накопление в тканях легкого миофибробластов. Миофибробласты синтезируют большое количество ВКМ и продуцируют фиброгенные цитокины [1]. Клеточные источники миофибробластов при фиброзе легких до конца не установлены. В различных исследованиях было показано, что миофибробласты могут происходить от клеток стромы легкого, включая резидентные фибробласты и перicytes, из мезенхимных стволовых клеток костного мозга, а также путем трансдифференцировки альвеолярных эпителиальных клеток [2].

Молекулярные механизмы, приводящие к развитию легочного фиброза, изучены слабо. Известно, что сигнальные пути, которые регулируют развитие легких, активируются также у взрослых при восстановлении повреждений. Однако хроническая их активация нередко приводит к различным патологиям легких. Сигнальный путь Notch играет важную роль в развитии легких, в частности, он связан с регуляцией эпителиально-мезенхимных взаимодействий в ходе альвеологенеза, участвует в поддержании целостности эпителиального и гладкомышечного слоев дистальных проводящих дыхательных путей в развивающемся легком. Известно также, что многие компоненты сигнального пути Notch активируются у взрослых пациентов с различными заболеваниями легких. Последние десятилетия накапливаются данные о роли сигнального пути Notch в развитии легочного фиброза. У млекопитающих описано 4 рецептора сигнального пути Notch (Notch1-4). К настоящему моменту их участие в развитии фиброза изучено в разной степени. Было показано, что активация Notch1 приводит к миофибробластной дифференцировке альвеолярных эпителиальных клеток [2], перicytes [3], мышечных легочных фибробластов [1]. В этих клетках растет уровень экспрессии генов эпителиально-мезенхимного перехода (ЭМП) *SLUG* и *SNAIL* и основного маркера миофибробластов *ACTA2*. На животных моделях фиброза легких было показано, что дефицит Notch1 или Notch3 существенно уменьшает количество миофибробластов и в значительной степени предотвращает

фиброзное изменение легочной ткани [4, 5]. Данных о роли Notch2 и Notch4 в развитии легочного фиброза практически нет.

Цель нашей работы — оценить влияние активации сигнального пути Notch на резидентные легочные фибробласты путем введения внутриклеточных доменов каждого из 4 Notch рецепторов (N1-4ICD).

Материалы и методы

В работе использовали первичные культуры легочных фибробластов от доноров ($n = 4$) без системных заболеваний и заболеваний легких, бронхов, полученные в результате частичной резекции легочной ткани. Протоколы исследований были утверждены локальным комитетом по этике СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2» и соответствовали принципам Хельсинкской декларации. У всех пациентов было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании и биопсию ткани. Средний возраст доноров составлял 29 ± 8 лет.

Получение и культивирование фибробластов легких. После резекции фрагменты легкого помещали в стерильную пробирку, содержащую фосфатно-солевой буфер (ФСБ), 40 мкг гентамицина, и транспортировали в лабораторию. В стерильных условиях у легочных эксплантов удаляли интерстициальную оболочку. После промывания в ФСБ фрагменты ткани инкубировали в течение 0,5–1,5 часов при 37°C с 0,1 % раствором коллагеназы (коллагеназа типа II, 100 ед/мл, Worthington Biochemical Corporation, США). Затем полученную суспензию процеживали через сито с диаметром поры 40 мкм и отмывали от форменных элементов путем центрифугирования в течение 5 минут при 300 g. Осадок, содержащий легочные клетки, дважды промывали модифицированной по Дюльбекко средой Игла F12 (DMEM/F12) с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (ФБС, HyClone, США). Легочные клетки высевали на культуральные фласки площадью 25 см^2 в коммерческую среду Human Lung fibroblast medium с добавлением коктейля ростовых факторов, 2 mM L-глутамин и 50 мкг/мл гентамицина. Условия культивирования стандартные — температура 37°C с 5 % содержанием CO_2 . На следующий день клетки промывали в ФСБ с добавлением 40 мкг/мл гентамицина и меняли культуральную среду. Чистую культуру фибробластов получали путем дифференциальной трепсинизации 0,05 % раствором трипсина. Морфологическую оценку клеточной популяции производили с помощью инвертированного микроскопа Leica DMil (Leica,

США) при увеличении 20×. В экспериментах использовали фибробласты 2–3 пассажа.

Лентивирусная трансдукция фибробластов. При создании лентивирусных частиц использовали протокол, разработанный в лаборатории Д. Трно и модифицированный в нашей лаборатории [6]. Нарботка лентивирусных частиц, не несущих и несущих последовательности доменов N1-4ICD, осуществлялась в клетках линии HEK293-T. Notch-зависимую активацию фибробластов осуществляли путем введения лентивирусного вектора с использованием полиэтиленэмина (Sigma-Aldrich, США). Плотность трансдуцируемых клеток составляла 6×10^4 клеток/мл. После трансдукции легочные фибробласты культивировали в течение 8 дней.

Выделение РНК и ПЦР в реальном времени. Общую РНК выделяли при помощи реагента Тризол («Евроген», Россия) в соответствии с инструкциями производителя. кДНК синтезировали при помощи random primer и набора MMLV RT («Евроген», Россия). Количественный анализ уровня экспрессии исследуемых генов проводили с использованием коммерческих систем ПЦР в реальном времени SYBR Green («Евроген», Россия) при следующих условиях термоциклирования: 95 °C в течение 5 минут, денатурация при 95 °C в течение 15 секунд и отжиг праймеров с амплификацией 60 секунд при 60 °C. Относительные уровни экспрессии генов ЭПМ (*SNAIL*, *SLUG*), миофибробластов (α -SMA), эпителиальных клеток (*PDPN*, *HOPX*) анализировали при помощи сравнительного метода $2^{-\Delta\Delta C_t}$. При проведении ПЦР осуществляли 3 технических повтора.

Иммуноцитохимическое окрашивание. Клетки, предназначенные для иммунофенотипирования, культивировали на покровных стеклах в течение 8 дней, далее фиксировали в течение 20 минут в 4 % параформальдегиде. После фиксации фибробласты пермеабелизировали 0,1 % раствором Тритона X-100 в течение 10 минут и промывали ФСБ с последующим блокированием в 1 % BSA в течение 1 часа. Инкубацию клеток с первичными антителами к α -SMA (1:250, NB300-978, Novus, США), Podoplanin (1:250, EPR22182, Abcam, Великобритания), HOP (1:250, E-1, Santa Cruz, США) проводили во влажной камере в течение 1 часа при комнатной температуре. Далее клетки трижды промывали в ФСБ в течение 5 минут и инкубировали со вторичными антителами, конъюгированными с Alexa488 и Alexa546 (Invitrogen, США). Отмытые в ФСБ клетки окрашивали раствором DAPI (0,2 мкг/мл, Invitrogen, США) в течение 3 минут. Стеклянные клетки трижды промывали в ФСБ и монтировали с помощью Fluoramount. Визуа-

лизацию и анализ проводили с помощью конфокального микроскопа Olympus FV3000 (Olympus Corporation, Япония) при увеличении 40× и соответствующего программного обеспечения.

Статистическая обработка. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программ STATISTICA 10.0 и GraphPad Prism 9.0. При сравнении двух независимых выборок применяли непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$).

Результаты

В норме альвеолярные фибробласты обеспечивают процессы регенерации при действии повреждающих факторов. Однако при патологической активации фибробласты способны дифференцироваться в миофибробласты, приводя к развитию фиброза. При оценке изучаемой культуры было выявлено, что клеточная популяция экспрессирует ряд генов, характерных для легочных резидентных альвеолярных фибробластов (*PDPN*, *VIM*, *COL1A1*) [7]. При этом наши культуры не экспрессировали как маркеры эпителиальных легочных клеток (*CDH1*, *AQP5*, *SP-C*), так и маркер миофибробластной дифференцировки *ACTA2*. Для анализа влияния сигнального пути Notch на миофибробластный потенциал полученной культуры мы заразили альвеолярные фибробласты лентивирусными частицами, несущими последовательности, кодирующие внутриклеточные домены рецепторов NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3 и NOTCH4 — N1ICD, N2ICD, N3ICD, N4ICD.

В результате иммунофенотипирования легочных фибробластов, трансдуцированных N1ICD, N2ICD, N3ICD, N4ICD, наблюдали видимое увеличение содержания эпителиального маркера PDPN, а также появления HOP — белка, участвующего в созревании эпителиальных легочных клеток II типа, и маркера миофибробластов — гладкомышечного актина (α -SMA) по сравнению с контрольной группой (рис. 1). При трансдукции лентивирусными частицами, не содержащими последовательностей Notch, изменений в интенсивности флуоресценции не наблюдалось.

Для того чтобы подтвердить наблюдаемые изменения, мы проанализировали экспрессию *PDPN*, *HOPX* (гена, кодирующего HOP), *ACTA2* (гена, кодирующего α -SMA) методом количественной ПЦР (рис. 2). Нами было установлено, что Notch-зависимая индукция способствует усилению экспрессии вышеуказанных генов, что согласуется с данными, полученными при иммуноцитохимическом окрашивании. Важно отметить, что вирусная трансдукция

различными NICD вызывает различные биологические клеточные ответы. Введение внутриклеточных доменов N1ICD, N2ICD, N3ICD опосредует достоверное повышение уровня содержания PDPN по сравнению с контрольной группой клеток и клетками, трансдуцированными N4ICD. При оценке экспрессии *HOPX* достоверное повышение отмечали у клеток, инфицированных N4ICD, относительно контрольной группы фибробластов.

В дальнейшем мы оценили относительные уровни экспрессии генов эпителиально-мезенхимного перехода (*SLUG*, *SNAIL*) и маркера миофибробластных клеток (*ACTA2*) (рис. 2). В результате проведенного анализа было отмечено, что индукция Notch-сигналинга (N1ICD, N2ICD, N3ICD, N4ICD) приводит к активации экспрессии генов мезенхимной дифференцировки. При этом наиболее выраженный эффект наблюдался в клетках, зараженных лентивирусной конструкцией с N4ICD. Важно отметить, что при заражении вирусным вектором, не несущим активирующие последовательности Notch (pCIG), изменений уровней экспрессии всех изучаемых генов относительно контрольной группы отмечено не было.

Таким образом, мы обнаружили, что активация сигнального пути Notch путем лентивирусной

трансдукции последовательностей внутриклеточных доменов (N1ICD, N2ICD, N3ICD, N4ICD) приводила к усилению экспрессии *SLUG*, *SNAIL* и *ACTA2* (α -SMA). Наиболее выраженный эффект при этом отмечается при введении лентивирусного вектора, содержащего активирующую Notch4 последовательность. Индуцирование сигналинга путем введения активирующих компонентов N1ICD, N2ICD, N3ICD способствовало повышению экспрессии *PDPN*, при введении N4ICD отмечалось усиление уровня экспрессии *HOPX*.

Обсуждение

Notch-сигналинг и ЭМП. Эпителиально-мезенхимный переход приводит к изменению клетками эпителиального фенотипа на мезенхимный. ЭМП важен в эмбриональном развитии и процессах регенерации, но также задействован во многих патологических процессах. В частности, ЭМП ассоциирован с хроническим фиброзом почек, легких, печени и сердца [4]. На молекулярном уровне ЭМП запускается рядом транскрипционных факторов (*SNAIL*, *SLUG*, *TWIST*, *LEF-1* и др.), характеризуется потерей экспрессии маркеров, отвечающих за формирование плотных клеточных контактов (*E-Cadherin*, *occludin*) [8]. Ряд исследо-

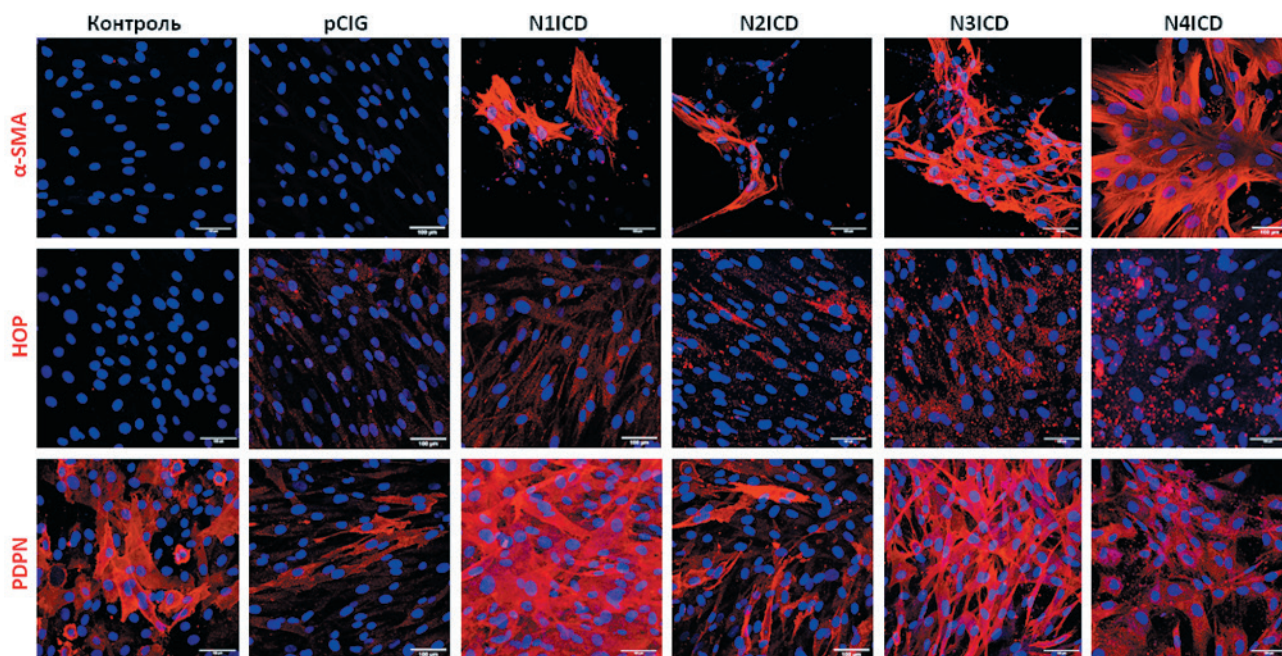


Рис. 1. Иммуноцитохимическое окрашивание легочных фибробластов, трансдуцированных контрольным pCIG вектором и лентивирусными частицами, несущими активирующие компоненты Notch (N1ICD, N2ICD, N3ICD, N4ICD)

Figure 1. Immunocytochemical staining of lung fibroblasts transduced with control pCIG vector and lentiviral particles containing Notch activating components (N1ICD, N2ICD, N3ICD, N4ICD)

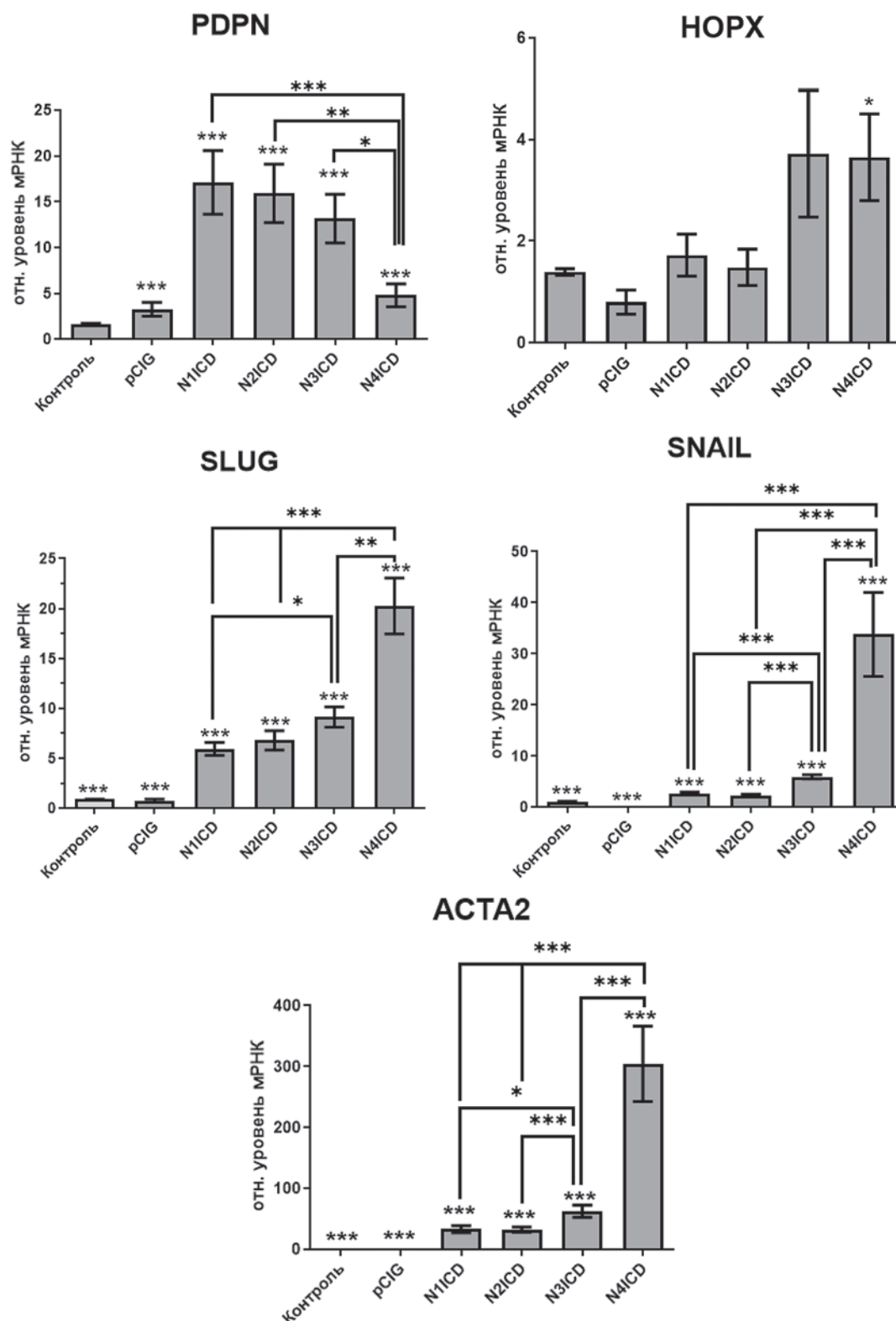


Рис. 2. Влияние активации Notch-рецепторов на паттерны экспрессии генов эпителиальных клеток (PDPN, HOPX), эпителиально-мезенхимного перехода (SLUG, SNAIL) и миофибробластов (ACTA2). Достоверность сравниваемых значений (U-критерий Манна-Уитни при нормальном распределении, $M \pm SD$): *** — $P < 0,001$; ** — $P < 0,01$; * — $P < 0,05$

Figure 2. Influence of Notch receptor activation on epithelial cell (PDPN, HOPX), epithelial-mesenchymal transition (SLUG, SNAIL), and myofibroblast (ACTA2) gene expression patterns. Statistical significance of compared values (Mann-Whitney U-test with normal distribution, $M \pm SD$): *** — $P < 0.001$; ** — $P < 0.01$; * — $P < 0.05$

ваний указывает на роль сигнального пути Notch в ЭМП. В частности, было показано, что активация внутриклеточного домена Notch в клетках эпителиальной альвеолярной клеточной линии крысы RLE-6TN приводит к потере этими клетками эпителиальных маркеров, экспрессии генов ЭМП и приобретению мезенхимного фенотипа [2]. Кроме того, факторы Notch могут регулировать ЭМП опосредованно через другие сигнальные пути, включая TGF β [2], NF- κ B [9] и β -catenin [10]. Наши культуры резидентных альвеолярных фибробластов не эпителиальные, однако активация каждого из доменов Notch (N1-4ICD) приводит к значительному усилению экспрессии ключевых генов ЭМП *SNAIL* и *SLUG*, что, по-видимому, указывает на усиление мезенхимной дифференцировки.

Notch-сигналинг и дифференцировка миофибробластов. Накопление миофибробластов является одним из ключевых факторов развития фиброза. Эти клетки характеризуются присутствием гладкомышечного альфа-актина (α -SMA), который кодируется геном *ACTA2*. Множество исследований указывают на участие сигнального пути Notch в дифференцировке миофибробластов при фиброзных изменениях различных органов и тканей [4]. Однако влияние сигнального пути Notch на дифференцировку клеток легких в миофибробласты описано только для Notch1. Показано, что экзогенный N1ICD вызывает дифференцировку эпителиальных легочных клеток крысы [2], легочных перидитов мыши [3], легочных фибробластов мыши [1] в миофибробласты. Также ряд исследований указывает на роль Notch3 в дифференцировке миофибробластов и развитии фиброза легких [5, 11]. Наша работа показывает, что все 4 Notch-рецептора способствуют миофибробластной дифференцировке клеток культуры альвеолярных фибробластов человека. Внутриклеточные домены всех 4 рецепторов запускают экспрессию гена *ACTA2*. Уровень его экспрессии особенно высок в клетках, трансдуцированных N4ICD.

Влияние активации **Notch-сигналинга на экспрессию PDPN и HOPX.** Подоплатин (PDPN) — трансмембранный белок, экспрессирующийся во многих тканях. PDPN обнаруживается в подоцитах почек, лимфатических эндотелиальных клетках, клетках тимуса, кератиноцитах кожи, дендритных клетках. Кроме того, это один из первых описанных молекулярных маркеров альвеолярных эпителиальных клеток I типа [12]. Мы обнаружили, что в культуре альвеолярных фибробластов PDPN экспрессируется слабо. Однако активация внутриклеточных доменов рецепторов NOTCH1, NOTCH2 и NOTCH3 (но не NOTCH4) приводит

к заметному увеличению уровня его экспрессии. Этот результат выглядит неожиданным, если рассматривать PDPN только как маркер альвеолярных эпителиальных клеток. Многочисленные исследования показывают, что функции этого белка очень разнообразны. Например, PDPN участвует в ЭМП и способствует миграции клеток как в норме (ЭМП клеток эпикардия при развитии сердца, миграция дендритных клеток в лимфатические узлы), так и при росте опухолей, что приводит к усилению метастазов [12]. Возможно, в контексте миофибробластной дифференцировки легочных клеток PDPN является одним из эффекторов сигнального пути Notch, опосредующих его участие в ЭМП и увеличении подвижности клеток.

HOPX участвует в развитии легких, в частности способствует созреванию альвеолярных эпителиальных клеток 2 типа [13]. Уровень его экспрессии очень низок в легочных фибробластах, индукция Notch сигналинга практически не влияет на уровень его экспрессии. N4ICD вызывает незначительное усиление экспрессии *HOPX*.

Notch4 — новый фактор развития легочного фиброза? Наше исследование, с одной стороны, показало, что все 4 рецептора Notch способствуют усилению мезенхимного фенотипа и индуцируют миофибробластную дифференцировку, а с другой стороны — выявило определенную специфичность клеточного ответа на введение различных NICD. Трансдукция альвеолярных фибробластов N1ICD, N2ICD, N3ICD приводит к схожим изменениям по всем исследованным генам (*SLUG*, *SNAIL*, *ACTA2*, *PDPN*, *HOPX*), хотя в ряде случаев отмечаются достоверные различия в уровнях экспрессии. В клетках же, трансдуцированных N4ICD, уровень экспрессии всех этих генов достоверно отличается от клеток, трансдуцированных другими NICD. Интересно, что характерные профиброзные гены (*SNAIL*, *SLUG*, *ACTA2*) под влиянием N4ICD экспрессируются значительно сильнее. До сих пор какое-либо участие Notch4 в развитии фиброза легких не было показано. Практически нет данных и о роли этого Notch-рецептора в фиброзных изменениях других органов и тканей. Известно только, что при фиброзе печени у крыс количество клеток, экспрессирующих Notch4, возрастает (наряду с Notch1 и Notch3) [14]. Показанная нами способность N4ICD столь значительно активировать профиброзные маркеры означает, что Notch4 может оказаться одним из ключевых факторов развития фиброза легких. Интересно также, что, в отличие от NOTCH1-3, NOTCH4 практически не усиливает экспрессию *PDPN*, и при этом единственный из всех незначительно активирует экспрессию *HOPX*. Это может означать, что влияние

NOTCH4 на миофибробластную дифференцировку легочных фибробластов человека может осуществляться через иные сигнальные пути, чем у остальных рецепторов Notch.

Заключение

Активация сигнального пути Notch путем введения лентивирусных векторов, содержащих кодирующие последовательности внутриклеточных доменов (N1ICD, N2ICD, N3ICD, N4ICD), приводит к усилению экспрессии генов мезенхимной дифференцировки *SLUG*, *SNAIL* и *ACTA2* (α -SMA). При этом самый высокий уровень экспрессии наблюдался в фибробластах, трансдуцированных лентивирусной конструкцией с N4ICD. Индукция сигнального пути Notch посредством введения N1ICD, N2ICD, N3ICD способствует повышению экспрессии *PDPN*, при заражении вектором, содержащим кодирующий участок для N4ICD, отмечалось незначительное усиление относительного уровня экспрессии *HOPX*. Полученные нами результаты показывают, что активация каждого из 4 внутриклеточных доменов рецепторов Notch способна запускать дифференцировку резидентных альвеолярных фибробластов в миофибробласты. Эти данные расширяют наши представления о значительной роли сигнального пути Notch в развитии легочного фиброза.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Благодарности / Acknowledgments

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации и Российской академии наук (соглашение № 075-15-2021-1075). / The study was carried out with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation and the Russian Academy of Sciences (Agreement No. 075-15-2021-1075).

Список литературы / References

1. Liu T, Hu B, Choi YY, et al. Notch1 signaling in FIZZ1 induction of myofibroblast differentiation. *Am J Pathol.* 2009; 174(5):1745–1755. DOI: 10.2353/ajpath.2009.080618.
2. Aoyagi-Ikeda K, Maeno T, Matsui H, et al. Notch induces myofibroblast differentiation of alveolar epithelial cells via transforming growth factor- β -Smad3 pathway. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2011; 45(1):136–144. DOI: 10.1165/rcmb.2010-0140oc.

3. Wang YC, Chen Q, Luo JM, et al. Notch1 promotes the pericyte-myofibroblast transition in idiopathic pulmonary fibrosis through the PDGFR/ROCK1 signal pathway. *Exp Mol Med.* 2019; 51(3):1–11. DOI: 10.1038/s12276-019-0228-0.
4. Hu B, Phan SH. Notch in fibrosis and as a target of anti-fibrotic therapy. *Pharmacol Res.* 2016; 108:57–64. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.04.010.
5. Vera L, Garcia-Olloqui P, Petri E, et al. Notch3 Deficiency Attenuates Pulmonary Fibrosis and Impedes Lung-Function Decline. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2021; 64(4):465–476. DOI: 10.1165/rcmb.2020-0516OC.
6. Canalis E. Notch signaling in osteoblasts. *Sci Signal.* 2008; 1(17):pe17. DOI: 10.1126/ske.117pe17.
7. Barron L, Gharib SA, Duffield JS. Lung Pericytes and Resident Fibroblasts: Busy Multitaskers. *Am J Pathol.* 2016; 186(10):2519–2531. DOI: 10.1016/j.ajpath.2016.07.004.
8. Horowitz JC, Thannickal VJ. Epithelial-mesenchymal interactions in pulmonary fibrosis. *Semin Respir Crit Care Med.* 2006; 27(6):600–612. DOI: 10.1055/s-2006-957332.
9. Gopalakrishnan N, Sivasithamparam ND, Devaraj H. Synergistic association of Notch and NF κ B signaling and role of Notch signaling in modulating epithelial to mesenchymal transition in colorectal adenocarcinoma. *Biochimie.* 2014; 107 Pt B:310–318. DOI: 10.1016/j.biochi.2014.09.020.
10. Leong KG, Niessen K, Kulic I, et al. Jagged1-mediated Notch activation induces epithelial-to-mesenchymal transition through Slug-induced repression of E-cadherin. *J Exp Med.* 2007; 204(12):2935–2948. DOI: 10.1084/jem.20071082.
11. Gajjala PR, Madala SK. Notch3: A New Culprit in Fibrotic Lung Disease. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2021; 64(4):403–404. DOI: 10.1165/rcmb.2021-0024ED.
12. Astarita JL, Acton SE, Turley SJ. Podoplanin: emerging functions in development, the immune system, and cancer. *Front Immunol.* 2012; 3:283. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00283.
13. Liu Y, Zhang W. The role of HOPX in normal tissues and tumor progression. *Biosci Rep.* 2020; 40(1):BSR20191953. DOI: 10.1042/BSR20191953.
14. Tanriverdi G, Kaya-Dagistanli F, Ayla S, et al. Resveratrol can prevent CCl₄-induced liver injury by inhibiting Notch signaling pathway. *Histol Histopathol.* 2016; 31(7):769–784. DOI: 10.14670/HH-11-720.

Информация об авторах:

Чистякова Ирэна Валерьевна, к.б.н., научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины, ФГБУН Институт цитологии РАН;

Бакаленко Надежда Игоревна, к.б.н., научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины, ФГБУН Институт цитологии РАН;

Малашичева Анна Борисовна, д.б.н., заведующий лабораторией регенеративной биомедицины, ФГБУН Институт цитологии РАН;

Атюков Михаил Александрович, к.м.н., заведующий отделением торакальной хирургии, СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2»;

Петров Андрей Сергеевич, к.м.н., торакальный хирург, СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2».

Author information:

Irena V. Chistyakova, Ph.D., Researcher, Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology;

Nadezhda I. Bakalenko, Ph.D., Researcher, Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology;

Anna B. Malashicheva, D.Sci., Head of the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology;

Mikhail A. Atyukov, Ph.D., Head of Thoracic surgery department, City Multidisciplinary Hospital No. 2;

Andrey S. Petrov, Ph.D., thoracic surgeon, City Multidisciplinary Hospital No. 2.